

# 백서의 세뇨관 간질성 신염의 세포매개성 면역

연세대학교 의과대학 병리학교실

정 현 주

## Cell Mediated Immunity in Tubulointerstitial Nephritis of Rats

Hyeon Joo Jeong

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine

To investigate the tubular major histocompatibility complex(MHC) expression and inflammatory phenotypes in tubulointerstitial nephritis, Lewis rats were immunized with azobenzene-carsonate-tyrosine in complete Freund adjuvant and challenged either foot pad or kidney, either by subcapsular injection or by ex vivo perfusion. The rats were sacrificed 2, 3, 5, 10 and 15 days after antigenic challenge. Foot pad swelling was significant at the antigenic challenge site( $151.8$  vs  $6.8 \times 10^{-2}$  mm) at 24 hours. Tubulointerstitial nephritis was induced by both methods and the inflammatory infiltrate which first appeared on day 2, became prominent at day 5, then gradually subsided in ex vivo perfused rats, while inflammation started on day 3 in subcapsular injected rats. The major site of inflammation was in the cortex and outer stripe of the outer medulla, with predominance of mononuclear cells throughout the course. The inflammatory cells showed mainly OX8 and ED1 positivity with OX19, W3/25 and CD5 positivity in minority. RT1B expression was diffuse in the cytoplasm of proximal tubules at day 2 and 5. These results suggest the involvement of cell mediated immunity in this experimental model, and the possibility that tubular epithelial cells process antigen and then become targets in immune injury. (**Korean J Pathol 1995; 29: 634~643**)

**Key Words:** Cell mediated immunity, Tubulointerstitial nephritis, Hapten

### 서 론

간질성 신염은 여러가지 원인에 의해 유발되는 간질의 염증성 질환으로 대부분 세뇨관을 같이 침범하

접 수:1995년 1월 24일, 게재승인:1995년 5월 26일  
 주 소:서울시 강남구 도곡동 146-92, 우편번호 135-270  
 영동세브란스병원 해부병리과, 정현주

본 연구는 1992년도 연세대학교 의과대학 연수교수 연구비로 이루어졌음.

므로 세뇨관 간질성 신염으로도 불리운다. 사람의 간질성 신염증 약물에 의한 과민반응과 이식거부반응에서의 세뇨관 및 간질의 손상은 세포매개성 면역이 주된 기전으로 추정되고 있으나 그 정확한 기전이나 신장내 조직 손상이 일어나는 과정에 대해서는 잘 이해되고 있지 않다. 세포매개성 면역이 일어나기 위해서는 적절히 처리된 항원이 T 림프구에 그 정보를 전달해야 하며, 항원처리과정은 대식세포에 의해 항원이 섭취, 처리되어 주조직적합항원(major histocompatibility complex; 이하 MHC) 분자와 함께

세포표면에 표현되는 것을 의미한다<sup>1</sup>. 최근 생체 및 체외 실험 결과에 의하면 신세뇨관 상피세포는 적절한 자극하에서 MHC 분자를 표현할 수 있다고 하여 감각된 T세포에 대한 목표물이 될 가능성이 있음을 암시하고 있다<sup>2-5</sup>. 신장내 세포들은 적절한 조건하에서는 항원을 처리할 수 있는 능력을 가진다고 알려져 있으며 이는 간질 또는 세뇨관 세포의 특성 및 상태, 그리고 이에 영향을 끼칠 수 있는 cytokine이나 항체 등 순환물질이 중요하다. 실험적으로 백서의 자가면역성 세뇨관 신염 모델<sup>6-7</sup> 및 kdkd 생쥐 모델에서 T 림프구, 단핵구/대식세포계의 관여와 질병의 유발 및 세포독성에 MHC restriction이 관여되어 보고되었다<sup>8-9</sup>. 최근 azobenzeneearsonate(ABA)를 투여하여 유발시킨 간질성 신염 모델이 보고되었으며, 이 모델에서 지연성 과민반응 및 신장내 육아종성 염증이 발생함을 보고하였다<sup>10</sup>. ABA는 세포매개성 면역반응을 일으키는데 널리 이용되어온 hapten으로<sup>11</sup> 외부 물질에 의해 유발된 간질성 신염은 약물에 의한 인체의 간질성 신염과 경로가 유사하다. ABA 계열의 ABA-tyrosine(ABA-tyr)은 분자량 485의 작은 peptide로 ABA가 가진 많은 특성을 공유하며, hapten 또는 항원으로 작용할 수 있고<sup>12-4</sup>, 또한 T세포에 정보가 전달되기 위해서는 항원이 세포질내 과정을 거쳐야 된다고 보고되어 있다<sup>15</sup>. 본 연구는 ABA-tyr을 이용하여 간질성 신염을 유발시키고 생체내에서 일어나는 면역현상을 종합적으로 살펴보고자 하였으며, 특히 세뇨관 상피세포의 MHC 표현 및 신염의 진행 경과에 따른 염증세포의 침윤 유형을 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

Lewis종 백서(125~150 gm)를 국립보건안전원에서 구입, 사육하여 면역 및 주사에 사용하였다.

### 2. 항 원

Hapten으로 azobenzeneearsonic acid(ABA)를 이용하여, 이곳에 tyrosine을 결합시켜 항원으로 사용하였다. Azobenzeneearsonate-N-chloroacetyl-L-tyrosine(ABA-tyr)은 p-arsanic acid와 chloroacetyl-L-tyrosine(Sigma, USA) 용액을 pH 9.0에서 섞은 후 1N HCl 및 1N NaOH로 3회 이상 반복 침강 및 용해과정을 거쳐 제조하였다. 제조된 용액은 490nm의 파장하에서 분광광도계로 O.D.를 읽어 농도를 구하였다.

### 3. 동물의 면역

ABA-tyr 2.5mg(25mg/ml)을 동량의 complete Freund adjuvant(CFA)(Sigma, USA)와 섞어 백서의 꼬리부근 피하에 0.2 ml씩 주사하였다. 대조군은 CFA만 주사하였다.

### 4. 지연성 과민반응

지연성 과민반응을 검사하기 위하여 발바닥의 종창도(foot pad swelling)를 측정하였다. 백서에 항원을 주사한 후 10일째 hypodermic syringe를 이용하여 일측 발바닥에 10mM ABA 용액 50  $\mu$ l를 주사하고, 24시간과 48시간 후에 engineer's caliper를 이용하여 발바닥의 두께를 각각 3회 측정하고 평균을 구하였다. 반대쪽 발바닥은 phosphated buffered saline(PBS)을 동량 주사하여 대조군으로 사용하였다. 실험군간의 비교는 student's t-test를 이용, p-value를 구하고 통계적 의의를 검정하였다.

### 5. 간질성 신염의 유발

백서를 항원으로 감각시킨 후 10일째 ketamine(0.1 ml/100 gm body weight)으로 마취시키고 수술대 위에 고정하였다. 간질성 신염의 유발은 체외관류(ex vivo perfusion) 및 피질하 주사법을 이용하였다. 체외관류를 위해 백서를 정중 개복하고 좌측 신동맥에 10 mg/ml ABA-tyr 용액 2 cc를 체외관류하였으며, 2일, 5일, 10일, 및 15일 경과후 도살하였다. 일부 백서는 좌측 신피질 직하부의 상극과 하극에 ABA-tyr 용액(10 mg/ml)을 50  $\mu$ l씩 주사하였고 반대측 신피질에는 PBS용액을 동량 주사하였으며 2일, 3일 및 5일 경과후 도살하였다.

### 6. 조직학적 검색

시기에 따라 양쪽 신장을 적출하고 체외관류한 백서는 각 신장당 2개의 절편을 취하여 하나는 4% 중성 포르말린에 고정하고 다른 절편은 액화질소에 급속냉동하였다. 피질하주사군은 상극부는 4% 중성 포르말린에 고정하고 하극부는 액화질소에 급속 냉동하였다. 포르말린에 고정한 조직은 파라핀에 포매하여 4  $\mu$ m으로 연속절편하고 hematoxylin-eosin 및 periodic acid-Schiff 염색을 시행, 조직 손상의 정도를 검색하였다. 신선한 조직은 동결절편기에서 절단하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

신손상의 정도는 Olympus BH-2 광학현미경 저배율( $\times 40$ ) 하에서 1시야당 25점이 나오는 grid를 넣고 각 신장당 피질, 외수질 및 내수질로 나누어 100개

이상 점을 세고 염증이 있는 부위의 비율을 구하였다. 염증세포의 분포를 알기 위하여 염증이 가장 심한 부위를 현미경 400배에서 10시야 이상 관찰하고 간질내 침윤된 세포를 세어 단핵세포 대 다형핵백혈구의 비율을 재었다. 이와는 별도로 세뇨관강내 존재하는 다형핵백혈구의 정도를 반정량적으로 측정하였다.

7. 혈청학적 검사

항원 또는 CFA를 주사한지 15일째 도살군의 하대 정맥으로부터 채혈하여 혈장을 분리하고 영하 20℃에 보관하였다가 일괄적으로 BUN/Creatinine치를 검사하였다.

8. 면역조직화학염색

신선한 신조직을 4 μ으로 연속절편하였다. 일차항체로 백서의 panT(OX19) (Pharmingen, USA), T 세포 수용체(R73)(Pharmingen, USA), helper T 세포(W3/25) (Cedalane, Canada), cytotoxic/suppressor T 세포(OX8) (Pharmingen, USA), 단핵구/대식세포계(ED1) (Serotec, England)에 대한 단클론항체를 100배로 희석하여 도포하고 60분간 반응시켰다. PBS로 3회 씻은 후 universal avidin biotin complex kit를 사용하여 이차항체 및 발색반응을 시행하였다. MHC class II 항원에 대

한 염색은 RT1B(Pharmingen, USA)를 이용하여 염증 세포에 대한 염색과 동일한 방법으로 시행하였다. 염색 후 광학현미경하에서 침윤된 세포의 침윤 정도에 따라 음성, +, ++, +++로 반정량적으로 판독하였다.

연구 결과

1. BUN/Creatinine치

ABA-tyr으로 감작시킨 실험군의 BUN/Creatinine은 각각 22±1.4 mg/dl, 0.8±0.1 mg/dl로서 CFA만 주사한 대조군의 23±2.7 mg/dl, 0.8±0.1 mg/dl에 비하여 차이가 없었다.

Table 1. Foot pad response to ABA in ABA-T immunized rats

Measuring time from challenge	Rt. foot pad	Lt. foot pad
24 hrs	151.8±19.9*	6.8±9.4
48 hrs	140.3±12.0	-0.6±5.9

\*10<sup>-2</sup> mm

Table 2. Measurement of inflammed area by ex-vivo perfusion

Day of sacrifice	No. of rats	Percent of involvement			
		Cortex	OS,OM	IS,OM	IM
2	3	66.1	70.5	0	
		81.9	77	16.8	0
		56.5	34.8	9.8	0
5	5	75.7	64.4	15.6	0
		83.1	90.9	18.9	0
		58.4	58.9	15.8	
		100.0	100.0	100.0	
10	2	99.4	95.7	100.0	0
		20.9	27.1	1.3	0
15	4	38.6	38.1	7.2	0
		24.9	11.1	0	0
		25.1	34	0	0
		8.4	12.2	0	0
		30.5	23.1	4.2	0

OS; outer stripe; OM, outer medulla; IS, inner stripe; IM, inner medulla

## 2. 지연성 과민반응

ABA-tyr으로 감작시킨 백서는 24시간 경과후  $151.8 \times 10^2$  mm의 종창을 보였으며 48시간후에도  $140.3 \times 10^2$  mm로 지속되었다. 대조군인 반대측 발바닥은 24, 48시간후 각각  $6.8 \times 10^2$ ,  $0.6 \times 10^2$  mm로 변화 없었다(Table 1).

## 3. 간질성 신염의 유발

1) 항원의 피막하 주사: ABA-tyr으로 감작시킨 백

서에서 동일 항원을 피막하 피질로 주사한 군에서는 2일 도살군 4마리에서는 병변이 없었으나 3일군 4마리중 2마리, 5일군 14마리중 11마리에서 주사 부위의 피질부와 일부 위축 수질의 간질내 염증세포 침윤이 관찰되었다. 염증세포는 단핵세포들로서 5일 도살군에서는 염증반응이 뚜렷하였고 경도의 세뇨관 위축 및 간질의 섬유화가 동반되었다. PBS를 피막하에 주사한 부위는 초기에 간질내 출혈외에는 염증세포 침윤이 관찰되지 않았다. CFA만을 피하주사하였던 대조군 6마리는 2일, 3일 및 5일째 각 2마리씩

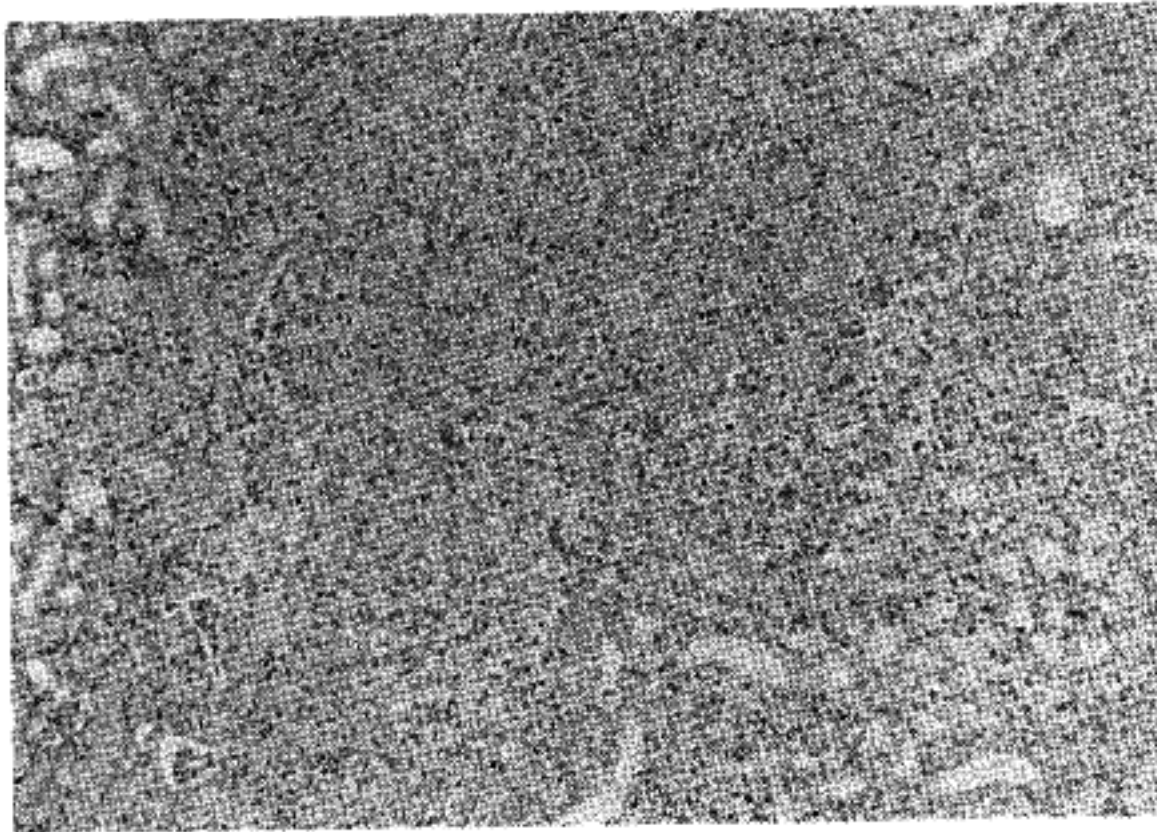


Fig. 1. This microphotograph depicts tubulointerstitial inflammation with fibroblastic proliferation in a day 5, ABA-tyr injected rat. (H-E,  $\times 100$ )

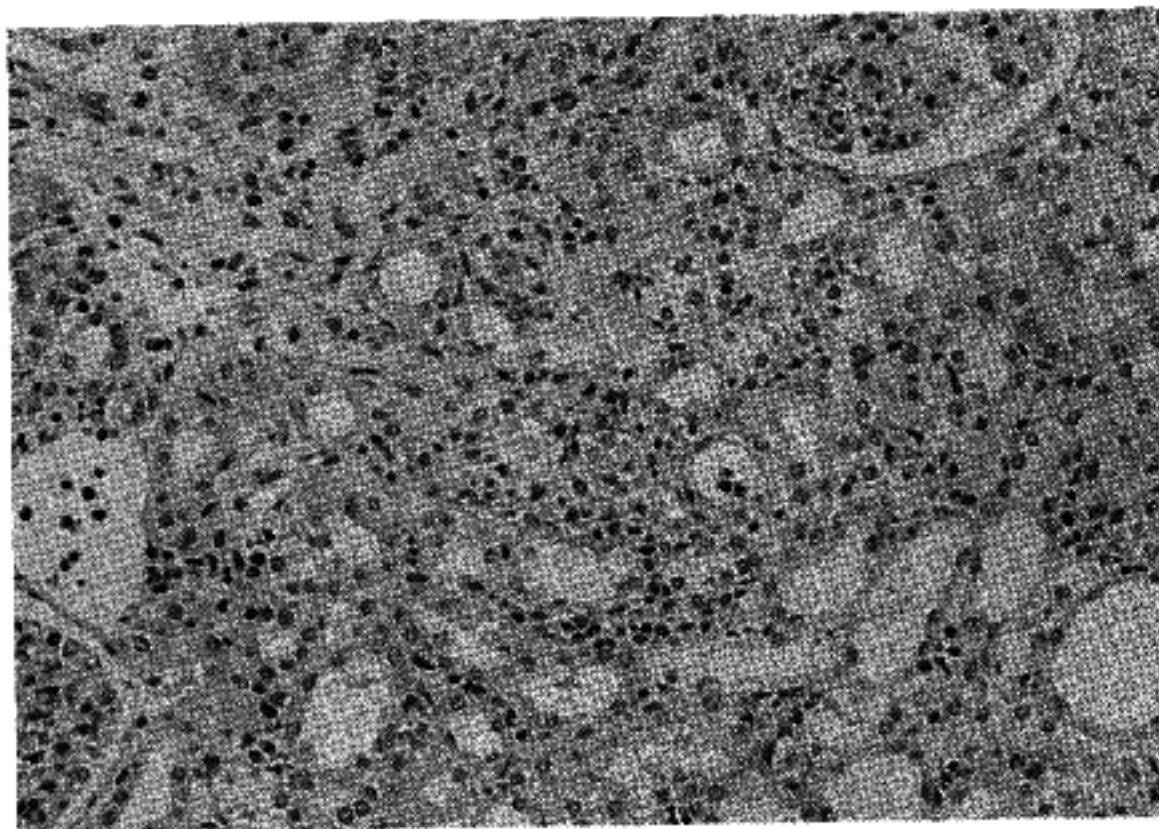


Fig. 2. Interstitium is widened by edema and cellular infiltrate, which invades tubules occasionally without glomerular involvement of a rat from the same group as Fig. 1. (H-E,  $\times 200$ )



도살하였으며, 3일군 1마리에서 항원을 주사한 부위에 소수의 림프구 침윤이 관찰되었다.

2) 항원의 체외관류: ABA-tyr을 신동맥에 체외관류하고 2일 경과 후 도살군에서 염증세포들이 광범위하게 간질내 침윤하였으며 주염증부위는 피질과 외측 수질이었다. 5일 경과후 염증반응은 최대치에 도달하였다. 피질의 58~100%가 염증반응을 보였고, 내측 외수질까지도 염증이 과급되었다. 염증과 함께 피질 및 외측 수질의 세뇨관 괴사 및 세뇨관 세포의

감수분열상도 관찰되었다. 그 이후 도살군에서는 염증이 가라앉으면서 피질내 염증이 오랫동안 남아있는 경향이였다(Table 2).

현미경 고배율 10부위당 간질내 침윤된 염증세포의 수는 2일군에서 4925~6554개로 이 세포들은 대부분 단핵세포였고 세뇨관 상피내로 들어가는 세포관염의 소견도 관찰되었다. 다형핵백혈구는 염증세포의 6.9~9.7%를 차지하였으며 간질내, 세뇨관 상피사이 및 세뇨관강내 존재하였다. 주로 피질의 근위

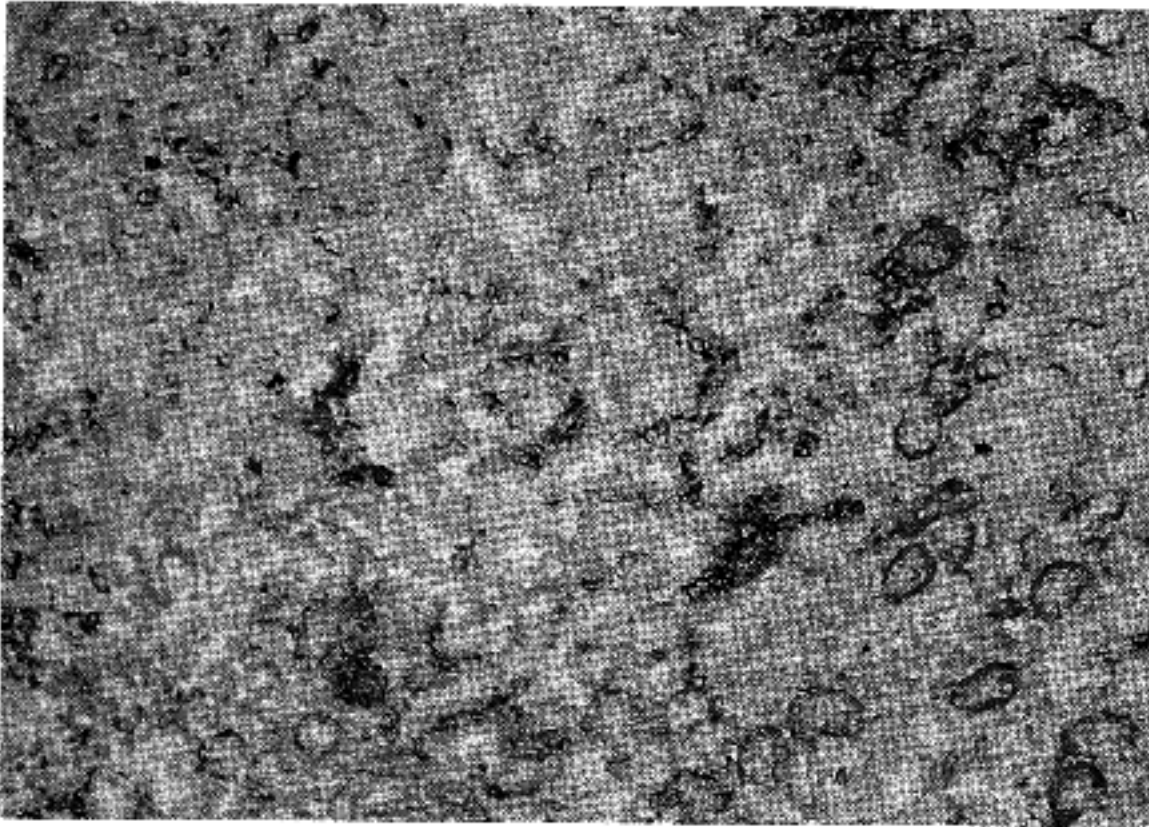


Fig. 3. RT1B shows positive staining in interstitial inflammatory cells as well as proximal tubular cytoplasm of a rat from the same group as Fig. 1. (RT1B,  $\times 100$ )

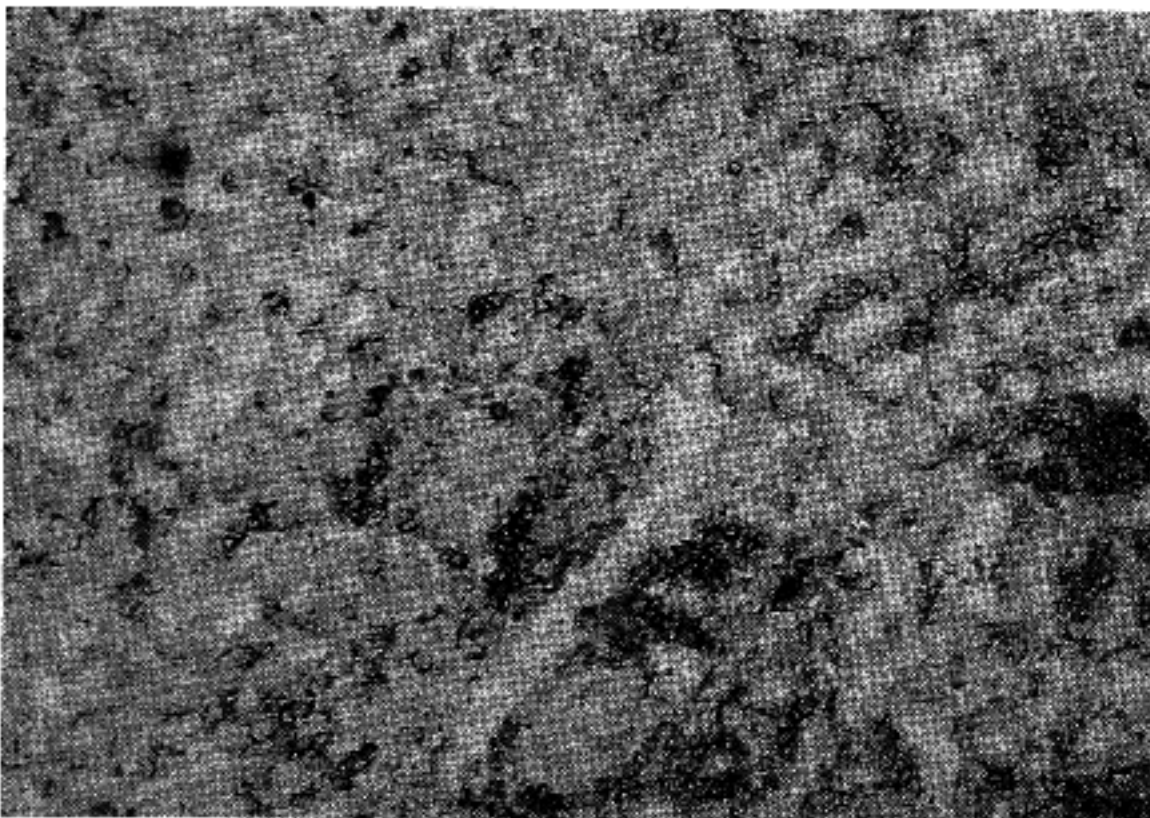


Fig. 4. OX8 positive cells are present in clusters in the interstitium of a rat from the same group as Fig. 1. (OX8,  $\times 100$ )

세뇨관강내 다형핵백혈구가 존재하였으며, 대부분 부분적으로 간질염이 있는 부위에 흩어져 나타났다. 5일군에서는 현미경 10시야에서 7167~10991개의 염증세포가 관찰되었으며 2일째 관찰되던 다형핵백혈구는 1예를 제외하고는 1.8~8.1%로 그 비율이 현저히 감소되었다. 염증이 심한 5일군의 1마리에서는 피질 및 외수질에 광범위하게 다형핵백혈구가 관찰되었다. 10일 경과후 염증은 현저히 감소되었으며

대부분의 염증세포는 단핵구로 다형핵백혈구는 눈에 띄지 않았다. 일부에서 정도의 세뇨관 수축 및 간질의 섬유화를 동반하였으며 15일 도살군의 조직소견과 비슷하였다. 사구체는 실험 전 과정에 걸쳐서 정상 소견을 나타냈다(Table 3). CFA만 주사한 백서 3마리에 동량의 항원을 주사하고 3일째 도살하였으나, 간질성 신염은 관찰되지 않았다.

Table 3. Characteristics of infiltrating cells in the interstitium by ex-vivo perfusion

Day of sacrifice	No. of rats	Ratio of mononuclear/PMLs	PMLs in the tubular lumen
2	3	92.7/7.3	focal, +
		90.3/9.7	focal, +
		93.1/6.9	focal, trace
5	5	97.8/2.2	focal, trace
		97.4/2.6	focal, trace
		98.2/1.8	focal, trace
		79.5/20.5	diffuse, +/++
		91.9/8.1	focal, +
10	2	99.3/0.7	no
		99.4/0.6	no
15	4	99.7/0.3	no
		99.3/0.7	no
		99.1/0.9	no
		99.5/0.5	no

Table 4. Cellular phenotypes in the interstitial infiltrates

Day of sacrifice	No. of rats	Monoclonal Abs				
		W3/25	OX 8	R 73	ED 1	OX 19
2	3	+ / ++	+++	+	++ / +++	+
		++	+++	++	++ / +++	++ / +++
		+++	+++	++	++	++
5	3	+++	+++	++	++	++ / +
		+++	+++	++	+++	++
		+++	+++	++	+++	++
10	2	+++	+++	++ / +++	++	++ / +++
		+++	+++	++	++	++
15	4	+++	+++	++	++	+
		+++	+++	+	+	++
		++	+++	+	+	+
		+++	+++	++	+	+

#### 4. 세뇨관 상피세포의 MHC표현 및 염증세포의 표현형

MHC class II 항원인 RT1B에 대한 염색은 2일군과 5일군에 시행하였다. RT1B는 피질과 외측 수질의 근위 세뇨관 상피의 세포질내와 세뇨관사이 모세혈관의 내피세포에 염색되었으며 염증이 없는 부위에서도 같은 정도로 표현되었고 2일군과 5일군간에 차이가 없었다. 5일군에서는 침윤된 염증세포내 RT1B 양성세포가 산재하였다. 사구체는 대부분 음성이었으나 5일군에서 간혹 염색되는 세포들이 1~2 개씩 관찰되었다. 염증이 없는 내측 수질의 간질내에도 염색되는 세포들이 산재하였다. 간질내 침윤된 세포는 대부분 T세포 및 단핵구/대식세포계였다. 실험 2일째부터 OX8 양성세포의 침윤이 뚜렷하였고 시간이 경과함에 따라 절대수는 감소하지만 상대적으로 다른 염증세포에 비해 지속되는 경향이였다. ED1 양성세포는 초기에는 현저하지만 시간이 지날수록 감소하여 15일째에는 드물게 관찰되었다. OX19 양성 또는 T세포 수용체 양성세포는 적었다(Table 4).

### 고 찰

간질성 신염은 사구체신염과 마찬가지로 항세뇨관 기저막항체에 의한 신염, 면역복합체성 신염 그리고 세포매개성 면역기전에 의한 신염으로 나눌 수 있다. 지금까지 개발된 대부분의 실험모델은 신장조직의 기저막 또는 신세뇨관의 기저막을 이용하여 동물에 면역시킴으로써 자가면역성 세뇨관 간질성 신염을 유발시켰다. 1971년 Steblay와 Rudolfsky<sup>16</sup>는 토끼 신피질의 기저막 성분을 기니픽에 주사하여 면역시킴으로써 세뇨관 기저막 항체가 출현하는 간질성 신염을 유발시켰다. 기니픽 또는 백서에 이종 또는 동종의 신장 기저막 성분으로 면역시키면 1~2 주후에 항세뇨관 기저막 항체의 출현과 함께 세뇨관 기저막을 따라 IgG가 침착되고, 백서에서는 T세포들이 다수 침윤됨을 관찰할 수 있다<sup>17-9</sup>. 이 모델들에서 항체를 이용하여 간질성 신염을 다른 동물에 전파할 수도 있다. 특히 기니픽 모델에서는 면역혈청내 존재하는 항세뇨관 기저막항체에 의해서 정상동물에 병변이 전달될 뿐 아니라 cyclophosphamide로 항체형성을 억제하면 신병변이 감소되는 점으로 체액성 면역기전이 주된 역할을 한다고 생각되었다<sup>17-9</sup>. 백서 모델에서는 Brown Norway종 백서가 많이 이용되었으며 모델에 따라 혈청에 의해 또는 림프구에 의해 병변을 전파시킬 수 있다. 백서에서 반응하는 세뇨

관 기저막 항원은 분자량 42,000~45,000의 비고원질성 당단백으로 Lewis종 백서는 이 항원이 결핍되어 있다. 이 모델을 이용해서 세포매개성 면역의 관여를 밝힌 실험들이 보고되었다. 1973년 Sugisaki등은 Lewis종 백서에서 신조직을 갈아 면역시킨 후 주로 신피질과 외측 수질의 outer stripe에 염증이 생기는 것을 확인하고 세포매개성면역의 관여를 시사하였다<sup>17</sup>. Ulich등<sup>18</sup>은 Brown Norway종 백서를 소의 세뇨관 기저막으로 면역시켜 세뇨관 간질성 신염을 유발시킨 후 림프절 세포를 정상 백서의 피질하에 주사하여 신병변을 유발시킴으로써 항세뇨관 기저막항체 모델에서도 세포매개성면역의 관여 가능성을 시사하였다. Mampaso와 Wilson<sup>6</sup>은 자가면역성 간질성 신염에서 간질내 주로 T세포가 침윤하고 T세포가 염증과 손상의 진행에도 관련된다고 하였다. Bannister등<sup>7</sup>은 세뇨관기저막 항원이 있는 Brown Norway종 백서의 세뇨관 기저막으로 Lewis종 백서를 면역시켜 육아종을 형성하는 간질성 신염을 유발하였다. 또 cyclosporine 또는 다량의 cyclophosphamide를 투여시 간질성 신염이 억제된다고 보고하였다<sup>20-3</sup>. 생쥐의 항세뇨관 기저막항체성 간질성 신염은 백서보다 그 발생속도가 느리며 항 세뇨관기저막 항체 반응보다 H-2 표현형과 관련된다고 보고되어있다.

면역복합체성 세뇨관 간질성 신염은 백서에 Tamm Horsfall 단백을 주사하여 유발시킬 수 있다<sup>24</sup>. 또한 토끼에 bovine serum albumin(BSA)를 주사하여 만성 혈청병을 유발시키면 세뇨관 기저막을 따라서도 면역복합체가 침착된다. 그럼에도 불구하고 이 면역물질과 간질의 손상간에는 직접적인 관계가 없으며, 간질내 단핵구의 침윤이 관찰되므로 체액성 면역이 큰 역할을 했을 것인지에 대한 의문이 남아 있다.

Neilson등<sup>8-9</sup>은 kdkd 생쥐모델에서 면역계내 억제기전이 없음을 밝히고 세포매개성 면역기전의 이상으로 간질성 신염이 유발된다고 하였다. 이 생쥐에서 관찰되는 항사구체기저막신염은 질병의 감수성 및 세포독성(cytotoxicity)에 있어 MHC와 연관성이 있다고 밝혀져 세포매개성면역에 의한 진행성 신손상의 가능성을 시사하였다. 또 다른 모델인 SJL 생쥐에서는 토끼의 신세뇨관항원으로 면역시켜 간질성 신염을 유발시키고 이 생쥐의 T 림프구를 전달하여 정상 생쥐에 유사 병변을 유발시켰다<sup>25</sup>. 면역세포에 의한 병의 전파외에도, 생쥐의 근위 세뇨관 세포로 cell line을 만들어 이 세포들이 helper T 세포를 증식시킬 수 있음을 보고하였으며 이는 세뇨관 상피세포가 자가면역성 간질성 신염에서 항원을 처리할 수 있는 능력을 가졌음을 의미한다.



항세뇨관 기저막 항체에 의한 신염이던 면역복합체에 의한 간질성 신염이던 이 모델들의 단점은 실제 인체에서 관찰되는 간질성 신염과는 차이가 있다는 데 있다. 무엇보다 인체 간질성 신염에서는 혈청내 항체 또는 면역복합체가 검출되는 경우가 극히 적기 때문이다. 또 kdkd 생쥐모델은 저절로 생기는 만성 간질성 신염모델이므로 역시 외부 항원에 의해 유발될 것으로 추정되는 인체 간질성 신염과는 다르다. 외부 항원에 의한 간질성 신염은 van Zwieten 등이 기니픽 및 백서에 응고된 bovine  $\gamma$ -globulin으로 감작시키고 신장내 동일 항원을 주사하거나 림프절 세포에 의한 병의 전파를 보고한 바 있으며<sup>26</sup>, 세포매개성면역이 관여됨을 시사하였으나 더 이상의 연구는 진행되지 않았다.

세포매개성면역은 지연성 과민반응과 세포독성으로 나눌 수 있다. 지연성 과민반응은 인체에서 보고되는 육아종성 간질성 신염과 관계가 있을 것으로 추정되고 있다. 지연성 과민반응을 유도하기 위해서 세포내에서 처리된 항원의 일부분이 MHC class II분자와 같이 세포 표면에 표현되어야 helper T 세포에 정보가 전달된다<sup>1</sup>. 이러한 기능을 가진 세포는 대식세포가 대표적이거나 신사구체의 족세포나 세뇨관 상피세포도 적절한 조건 하에서 MHC분자를 표현할 수 있음이 밝혀졌고, 따라서 이 세포들이 항원 처리 능력을 가진 세포로 작용할 가능성이 있다. 세뇨관 상피세포가 항원을 helper T세포에 전달하기 위해서 외부에서 들어오는 항원을 섭취하고 세포질 내에서 처리하여 일부 항원 조각을 MHC분자와 함께 세포표면에 표현해야 한다. 세포독성은 CD8 양성인 cytotoxic T 세포에 의해 목표되는 세포와 직접 접촉하여 이루어지는데 세포가 어떤 이유로 해서 cytotoxic T 세포의 목표물이 되는가는 잘 알려져 있지 않다.

최근 Rennke등<sup>10</sup>은 지연성 과민반응실험에 많이 이용되어오던 azobenzeneearsonate (ABA)라는 hapten을 이용하여 Brown Norway종 백서에서 간질성 신염 및 반월성 사구체신염을 동시에 유도하였다. 이 모델은 ABA-KLH(keyhole limpet hemocyanin)로 감작된 백서에 활성화된 ABA로 ex vivo perfusion하여 질환을 유발하였으며, foot pad challenge로 지연성 과민반응을 확인하고 신장내 침윤된 세포가 주로 T세포임을 증명하였다. 또한 ABA에 대한 항체반응은 상당히 미약하였다. 그럼에도 불구하고 이 모델은 활성화된 ABA를 사용하였기 때문에 항원이 세포표면에 직접 달라붙게 되어 세포내 과정을 거치지 않았으며, 사구체 세포든지 세뇨관 세포가 항원처리능력을 가지고 있다는 것을 증명할 수 없었다. ABA-tyr은 기니

픽, Wistar종과 Lewis종 백서 및 A/J종 생쥐에 지연성 과민반응을 일으키며<sup>12-4</sup> T세포에 정보가 전달되기 위해서는 항원이 세포질내 과정을 거쳐야 된다고 보고되어 있다<sup>12</sup>. 본 실험에서는 ABA-tyr의 이러한 장점을 이용하여 간질성 신염을 유발시켰다. ABA-tyr을 CFA와 함께 주사하여 감작시킨 후 동일 항원을 신장의 피막하에 주사하거나 또는 체외관류하면 간질성 신염이 유발되는데 두 방법으로 유발된 간질성 신염은 조직학적으로 유사하나 후자가 더 일정하고 광범위하게 유발되었다. 또 체외관류한 백서들내에서도 병변의 정도차가 심하였다. 체외관류군의 병변이 더 심한 이유는 알 수 없으나, 선택적으로 신장에 들어간 약물의 양의 차이, 관류시 동반되는 일시적인 허혈, 또는 전신 혈액으로 들어간 소량의 항원에 의한 전신적인 염증 반응등이 관련될 수도 있다고 추정하였다. 염증은 피질과 외측 수질부를 주로 침범하므로, 면역학적인 간질의 손상이 주로 이 부분에서 일어난다고 생각되었으며, 염증이 심해질수록 외측 수질부로도 병변이 진행된다고 생각하였다. 다형핵백혈구는 관류군에서 질병초기에 염증세포의 6.9~9.7%를 차지하여, 항체의 관련 가능성을 완전히 배제할 수 없었으나, 병변의 활성도와는 관련이 없어 cytokine등 유주인자에 의해 모였을 가능성이 높다고 생각하였다. 체외관류군에서 염증은 5일째 최대치에 달하고 10일이 지나면서 가라앉기 시작하여 항원에 의한 자극이 더 이상 가해지지 않으면 치유단계로 들어서는 것으로 생각하였다. 그러나 만일 초기의 병변이 심한 경우라면 그 후유증으로 만성적인 손상이 남을 수도 있을 것이며 5일째 도살군 일부에서 관찰되듯이 세뇨관의 위축 및 간질의 섬유화가 출현하게 된다.

간질내 침윤된 염증세포는 면역조직염색 결과 OX8에 가장 많이 염색되었다. OX8이 cytotoxic/suppressor 세포계의 표지자인 점을 고려하면 간질내 염증은 세포매개면역 특히 세포독성과 관련된다고 추정할 수 있었다. 그러나 pan-T에 양성인 OX19 및 R73양성 세포보다 OX8양성 세포가 많은 점을 고려해 볼 때 OX8 양성세포중 일부가 자연살해세포일 가능성도 배제할 수 없었다. OX19 및 R73 양성 세포는 염색정도 및 범위가 대개 일치하였으며, 시간이 경과함에 따라 염증이 감소되어도 전체 염증세포에 대한 비율은 비슷하였다. 반면 ED1 양성인 단핵구/대식세포계는 5일까지는 많이 침윤하다가 이후 점차 감소되었다. 그러나 비슷한 hapten인 ABA 모델에서는 시간이 경과함에 따라 ED1 양성세포가 점차 증가하며 육아종을 형성한다고 보고되어 있다<sup>10</sup>.



같은 계열의 hapten임에도 병변의 정도 및 조직학적 유형이 다른 이유는 잘 모르지만 ABA 모델에서는 hapten의 특성상 더 강력한 염증반응이 일어나기 때문이거나, 또는 손상기전이 달라서 ABA 모델에서는 지연성 과민반응이 ABA-tyr 모델에서는 세포독성이 주된 손상기전으로 작용했을 가능성도 있다. 한편 nonpolymorphic MHC class II 항원에 대한 항체인 RT1B에 대한 염색은 2일과 5일군에서 비슷한 정도로 근위세뇨관에서 표현되었는데, 이는 세뇨관 상피세포가 항원을 처리해서 신손상의 표적이 되었을 가능성을 뒷받침하고 있다. 그러나 MHC 표현외에도 항원처리에 관련되는 다른 자극인자 및 이와 관련된 염증의 매개물에 대한 연구가 같이 진행되어야 할 것으로 생각하며 이를 통하여 간질성 신염의 손상기전이 잘 이해되리라고 믿는다.

## 결 론

저자는 신세뇨관 간질성 신염을 실험적으로 유발시키고 세뇨관 상피세포의 MHC 표현과 간질내 염증세포 표현형을 분석하여 다음의 결과를 얻었다.

1) 외부 항원을 백서 신장의 피막하에 주사하거나 체외관류하는 방법으로 신세뇨관 간질성 신염을 성공적으로 유발시켰다.

2) 세뇨관 간질성 신염은 5일째 최대치에 도달하였으며, OX8 양성 및 ED1 양성세포의 침윤이 뚜렷하였다.

3) MHC class II 항원에 대한 항체인 RT1B는 2일과 5일째 근위세뇨관 상피세포내 표현되었다.

이상의 결과로 미루어 백서에서 유발된 신세뇨관 간질성 신염에서 세포매개성 면역이 관련될 것으로 생각되며, 이와 관련된 다른 자극인자 및 염증의 매개물에 대한 연구를 통하여 조직 손상기전이 잘 이해될 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Unanue ER, Allen PM. The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. *Science* 1986; 236: 551.
2. Hall BM, Bishop GA, Duggin DG, Horvath JS, Philips J, Tiller DJ. Increased expression of HLA-DR antigens on renal tubular cells in renal transplants: relevance to rejection response. *Lancet* 1984; 2: 247-51.
3. Fuggle SV, McWhinnie DL, Chapman JR, Taylor MR, Morris PJ. Sequential analysis of HLA-class II anti-

- gens in human renal allografts: Induction of tubular class II antigens and correlation with clinical parameters. *Transplantation* 1986; 42: 144-50.
4. Cheng HF, Nolasco F, Cameron JS, Hildreth G, Neild G, Hartley B. HLA-DR display by renal tubular epithelium and phenotype of infiltrate in interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 205-15.
5. Wuthrich PR, Glimcher LH, Yui MA, Jevnikar AM, Dumas SE, Kelley VE. MHC class II antigen presentation and tumor necrosis factor in renal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1990; 37: 783-92.
6. Mampaso FM, Wilson CB. Characterization of inflammatory cells in autoimmune tubulointerstitial nephritis in rats. *Kidney Int* 1983; 23: 448-57.
7. Bannister KM, Ulich KR, Wilson CB. Induction, characterization and cell transfer of autoimmune tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 1987; 32: 642-51.
8. Neilson EG, McCafferty E, Feldman A, Clayman MD, Zakhein B, Korngold R. Spontaneous interstitial nephritis in kdkd mice. I. An experimental model of autoimmune renal disease. *J Immunol* 1984; 133: 2560-5.
9. Neilson EG, Philips SM. Murine interstitial nephritis. I. Analysis of disease susceptibility and its relationship to pleiomorphic gene products defining both immune-response genes and a restrictive requirement for cytotoxic T cells at H-2K. *J Exp Med* 1982; 155: 1075-85.
10. Rennke HG, Klein PS, Sandstrom DJ, Mendrick DL. Cell mediated immune injury in the kidney: Acute nephritis induced in the rat by azobenzearsonate. *Kidney Int* 1994; 45: 1044-56.
11. Monroe JG, Lowy A, Granstein RD, Greene MI. Studies of immune responsiveness and unresponsiveness to the p-azobenzearsonate(ABA) hapten. *Immunol Rev* 1984; 80: 103-14.
12. Nauciel C, Raymond M. Delayed hypersensitivity to azobenzearsonate-N-acetyl-L-tyrosine in vivo and in vitro study. *Eur J Immunol* 1971; 1: 257-62.
13. Becker MJ, Ray A, Andersson LC, Makela O. P-azobenzearsonate-L-tyrosine-mediated helper function in immune responses of guinea pigs and rats. *Eur J Immunol* 1975; 5: 262-6.
14. Lawn CY, Leskowitz S. Hapten-specific T cell response to azobenzearsonate-N-acetyl-L-tyrosine in Lewis rat. I. Induction and suppression of delayed-type hypersensitivity and in vitro proliferative responses. *J Immunol* 1980; 125: 2416-23.
15. Joshi N, Baskar S, Leskowitz S. An intracellular

- pathway is required for ABA-tyrosine presentation to T cells. *Cell Immunol* 1990; 125: 518-25.
16. Steblay RW, Rudolphsky U. Renal tubular disease and autoantibodies against tubular basement membrane induced in guinea pigs. *J Immunol* 1971; 107: 589-94.
  17. Sugisaki T, Klassen J, Milgrom F, Andres GA, McCluskey RT. Immunopathologic study of an autoimmune tubular and interstitial renal disease in Brown Norway rats. *Lab Invest* 1973; 28: 658-71.
  18. Ulich TR, Bannister KM, Wilson CB. Tubulointerstitial nephritis induced in the BN rat with chaotropically solubilized bovine TBM: The model and the humoral and cellular responses. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 187-200.
  19. Neilson EG, Philips SM. Cell mediated immunity in interstitial nephritis. I. T lymphocyte systems in nephritis of guinea pigs: the natural history and diversity of the immune response. *J Immunol* 1979; 123: 2373-80.
  20. Thoenes GH, Umscheid T, Sitter T, Langer KH. Cyclosporin A inhibits autoimmune experimental tubulointerstitial nephritis. *Immunology Letters* 1987; 15: 301-6.
  21. Gimenez A, Leyva-Cobian F, Fierro C, Rio M, Bricio T, Mampaso F. Effect of cyclosporin A on autoimmune tubulointerstitial nephritis in the Brown Norway rat. *Clin Exp Immunol* 1987; 69: 550-6
  22. Shih W, Hines WH, Neilson EG. Effects of cyclosporin A on the development of immune-mediated interstitial nephritis. *Kidney Int* 1988; 33: 1113-8.
  23. Agus D, Mann R, Clayman M, et al. The effects of daily cyclophosphamide administration on the development and extent of primary experimental interstitial nephritis in rats. *Kidney Int* 1986; 29: 635-40.
  24. Hoyer JR. Tubulointerstitial immune complex nephritis in rats immunized with Tamm-Horsfall protein. *Kidney Int* 1980; 17: 282-4.
  25. Zakheim B, McCafferty E, Michael-Philip S, Clayman M, Neilson EG. Murine interstitial nephritis. II. The adoptive transfer of disease with immune T lymphocytes produce phenotypically complex interstitial lesion. *J Immunol* 1984; 133: 234-9.
  26. Van Zwieten MJ, Leber PD, Bhan AK, McCluskey RT. Experimental cell-mediated interstitial nephritis induced with exogenous antigens. *J Immunol* 1977; 118: 589-93.
-