

## 당뇨병성 신병증에서 세포외 기질성분의 분포에 관한 연구

한양대학교 의과대학 병리학교실

백 승 삼 · 박 문 향

### Immunohistochemical Localization of Extracellular Matrix Components in Diabetic Nephropathy

Seung Sam Paik, M.D. and Moon Hyang Park, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Hanyang University

Normal human glomerular basement membrane (GBM) and mesangial matrix (MM) contain several different basement membrane components in varying degrees. The characteristic morphological and ultrastructural changes in patients with diabetic nephropathy are the thickening of the GBM and the expansion of the MM. In order to investigate the changes of extracellular matrix components in diabetes, the immunohistochemical localization was performed in 17 cases with different degrees using antisera to human collagen types I, III, IV, VI, fibronectin, and laminin. The following results were obtained: 1. The reactivity for collagen IV was increased in expanded MM in the diffuse glomerulosclerosis (GS). With the progression to the nodule formation, collagen IV was prominently decreased in the peripheral area of the nodules. 2. Collagen VI was increased in GBM and MM in the diffuse GS, it was especially prominent in the expanded MM. With the progression to nodule formation, collagen VI was prominently increased in the periphery of the nodules. 3. Interstitial collagen I and III were not stained in many of the cases with the diffuse GS. With the progression to nodule formation, these were slightly expressed. A lamellar pattern of positive reaction was noted at the periphery of the late nodular lesions. 4. Fibronectin was increased in GBM & MM in the diffuse GS, it was especially intense in the MM. With the progression to the nodule formation, the reactivity of antibody to the fibronectin was decreased. 5. Laminin was weakly stained along the GBM & trace in the MM, but was not changed in the nodular GS. In summary, the expanded mesangial matrix in the diffuse GS showed a markedly increased staining for collagen IV, fibronectin and collagen VI. Less intense linear staining for collagen VI, fibronectin, laminin, collagen IV and collagen III was noted along the GBM. In the nodular GS, the composition of the early nodules resembled that of the diffuse GS. However, the late nodular lesion of the nodular GS revealed decreased reactivity for collagen

접 수: 1997년 1월 3일, 게재승인: 1997년 2월 28일  
주 소: 서울시 성동구 행당동 산 17, 우편번호 133-792  
한양대학교 의과대학 병리학교실, 백승삼

IV and fibronectin at the periphery of the nodule, where collagen VI and interstitial collagen I and III were increased in laminated pattern. (Korean J Pathol 1997; 31: 427~435)

**Key Words:** Extracellular matrix, Collagen IV, Collagen VI, Fibronectin, Diabetic nephropathy

## 서 론

당뇨병성 신병증에서 가장 중요한 광학현미경적 및 전자현미경적 변화는 사구체 기저막의 비후와 혈관간 기질의 확장이다<sup>1-3</sup>. 혈관간 기질의 증대는 사구체 미세혈관의 내강확대와 투과면의 확대시 일어난다<sup>4,5</sup>. 이런 변화는 제 I형 인슐린 의존형 당뇨병 환자들의 약 1/3에서 발견되고 점차 진행되어 신부전으로 사망에까지 이르게 된다<sup>6,7</sup>.

최근 당뇨병성 신병증에서 사구체의 기질성분에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 시기에 따른 기저막 성분이나 세포외기질 침착의 변화에 대한 소수의 보고가 있다<sup>8-10</sup>. 당뇨병성 신병증의 초기 병변은 사구체 기질의 미만성 확장이 특징인데 이는 다양한 기저막 성분의 침착이 증가된 것에 기인하며 특히 제 IV형 교원질, fibronectin, 그리고 laminin 등에 의한다<sup>8,11,12</sup>. 그러나 후기 병변에서는 혈관간부에서 모든 기저막 성분이 감소되고 사구체경화가 진행되면 공통적으로 증가된다는 간질성 교원질인 제 III형 교원질이 결절의 변연부에서 관찰되어 경화증의 진행을 설명하고 있으며 또한 결절의 중심부에서 제 VI형 교원질이 현저히 증가된다고 한다<sup>10,13-15</sup>.

저자들은 당뇨병성 신병증으로 진단된 신조직에서 사구체 병변의 진행에 따른 세포외 기질 성분의 변화와 각 성분들의 분포를 연구하고, 결절성 사구체경화가 발생하고 진행하는데 관여하는 기질 성분의 변화에 대해 알아보려고 이 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

1985년 1월부터 1996년 6월까지 한양대학병원 조직병리과에서 신생검이나 신절제로 진단되거나 외부병원에서 의뢰된 신장의 당뇨병성 신병증 17예를 대상으로 하였다. 이들 중 남자가 8예, 여자가 9예였고 연령은 26세에서 65세 사이로 평균 52.3세였다. 각각의 광학현미경 진단은 미만성 사구체경화증이 6예,

초기 결절성 사구체경화증이 5예, 후기 결절성 사구체경화증이 4예, 그리고 초기 변화로 insudative lesion만 보인 2예였다. 17예 중 미만성 사구체경화증만 보이는 6예를 A군으로, 결절성 사구체경화증에서 관찰된 미만성 사구체경화증을 보인 7예를 B군으로, A와 B를 합한 미만성 사구체경화증을 보이는 13예를 C군으로 나누어 각각의 항체에 대한 염색소견을 비교하였다. 8예에서 결절성 사구체경화증의 초기결절을 관찰할 수 있었고, 4예에서 결절성 사구체경화증의 후기결절을 관찰할 수 있었다. 제외된 4예는 insudative lesion만 있던 2예와 사구체가 없거나 고정상태가 불량한(부검 1예) 경우였다. 대조군으로 절제된 정상 신장 5예를 이용하였다.

### 2. 연구 방법

광학현미경, 면역형광현미경 및 전자현미경 검사 방법은 이전에 기술된 방법을 사용했다<sup>16</sup>. 각 예들에서 collagen I, III, VI(Monosan, The Netherlands), collagen IV, fibronectin(Dako, Denmark), laminin(ICN Biochemicals Inc, CA, U.S.A.)에 대한 다클론성 항체들을 1:100으로 희석하여 avidin-biotin immuno-peroxidase complex(ABC) 염색법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 파라핀에 포매된 조직을 2  $\mu$ m 두께로 박절하여 poly-L-lysine으로 피복된 슬라이드에 부착시킨 후 50°C 부리기 안에서 1시간 반응시킨 후 xylene과 alcohol을 이용하여 탈파라핀후 수세하였다. Pepsin에 20분간 처리하고 증류수에 2회 세척한 후 3% 과산화수소수에 5분간 작용시켜 내인성 과산화효소(peroxidase)의 작용을 차단시킨 후 증류수로 5분간 세척하였다. 이후 pH 7.6 Tris완충액에 10분간 중화시키고 차단혈청에 10분간 작용시킨 후 각각에 대한 일차항체를 떨어뜨려 약 1시간 실온에서 반응시켰다. 다시 pH 7.6 Tris완충액에 약 5분간 2회 중화시켰다. 이차항체로 biotinylated rabbit anti-mouse IgG link antibody를 떨어뜨린 후 실온에서 20분간 작용시켰다. 다시 Tris완충액을 10분간 2회 세척하여 streptavidin-biotin complex(Dako, LSAB Kit, Carpinteria, CA, U.S.A.)에 약 20분간 작용시킨 후 다시 Tris완충

액으로 10분간 2회 세척하였다. DAB(Diaminobenzidine)에 5~10분간 발색시키고, Mayer's hematoxylin에 20초간 대조염색한 후 탈수시켜 봉입하였다.

광학현미경으로 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체에서는 사구체 기저막, 혈관간 기질, 그리고 Bowman 피막으로 나누어 비교 관찰하였고, 결절성 사구체경화증에서는 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체와 결절이 보이는 사구체를 따로 구분하고 결절의 크기에 따라 초기와 후기결절로 나누고 염색도가 차이가 나는 경우는 각각 결절의 중앙과 변연부로 나누어 관찰하였다. 사용한 각각의 항체에 대한 염색도를 [-], [±], [+], [++] 로 4등급으로 구분하여 반정량적 방법으로 분석하였다.

## 결 과

### 1. 정상 대조군

정상 신장의 사구체에서 제 IV형 교원질과 fibronectin은 거의 비슷하게 나타나서 사구체 모세혈관 고리를 따라서 그리고 혈관간 기질에 약하거나[±] 중등도[+]로 염색되었다. 제 VI형 교원질은 이보다 약하지만[+] 주로 혈관간 기질에 염색되었고 일부 연하게[±] 선모양으로 사구체 기저막을 따라 염색되었다. 그리고 laminin은 사구체 기저막을 따라 약하게 선상으로 염색되었고 혈관간 기질은 더 연하게 염색되었다. 제 I형 및 제 III형 교원질은 전혀 발현되지 않았다.

### 2. 미만성 당뇨병성 사구체경화증

13예에서 미만성 사구체경화증 병변을 보이는 사구체들을 관찰할 수 있었다. 이들 중 A군, 즉 미만성 사구체경화증만 보이는 6예의 소견과 B군, 즉 결절성 사구체경화증에 포함된 사구체 중 미만성 사구체경화증을 보였던 7예의 소견을 Table 1에 정리하였다. A군과 B군을 비교한 결과 거의 유사한 소견을 보였으나 제 VI, I, III 교원질과 fibronectin에서는 B군에서 혈관간 기질에 다소 염색도가 증가되는 경향을 나타내었다. Table 2에는 C군과 B군의 결절성 사구체의 소견을 비교하였다. C군에서의 결과를 보면 제 IV형 교원질은 혈관간 기질에서 [++]가 12예, [+]가 1예였고 사구체 기저막에서는 [+]가 4예, [±]가 4예, [-]가 5예로 주로 혈관간 기질에 강하게 나타나는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1A). 제 VI형 교원질은 12예 중에서 혈관간 기질에서 [++]가 8예, [+]가 3예, [±]가 1예였고 사구체 기저막에서는 [++]가 3예, [+]가 8예, [-]가 1예로 사구체 기저막과 혈관간 기질에서 모두 나타나지만 혈관간 기질에서 다소 강하게 염색되었다(Fig. 1B). 제 I형 교원질은 혈관간 기질에서 [+]가 5예, [±]가 2예, [-]가 6예였고 사구체 기저막에서는 [±]가 3예, [-]가 10예로 일부 혈관간 기질에 약하게 나타난 것 이외에는 거의 음성으로 나타났다. 제 III형 교원질은 혈관간 기질에서 [+]가 3예, [±]가 7예, [-]가 3예였고 사구체 기저막에서는 [+]가 6예, [±]가 3예, [-]가 4예로 역시 전반적으로 염색도가 낮게 나타났다.

**Table 1.** Comparison of staining intensity for various extracellular matrix components in the glomeruli showing diffuse glomerulosclerosis(GS) lesion in each groups with diffuse GS(group A) and nodular GS(group B)

		Coll IV				Coll VI				Coll I				Coll III				FN				LM			
		-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++
A (6)	GCW	2	1	3	0	0	0	5	1	4	2	0	0	2	3	1	0	2	0	4	0	1	2	3	0
	Mes	0	0	0	6	0	0	3	3	4	1	1	0	2	4	0	0	0	1	2	3	3	3	0	0
	Bc	1	0	1	4	0	0	5	1	5	0	1	0	2	2	2	0	4	0	2	0	1	0	0	0
B (7)	GCW	3	3	1	0	1	0	4	1	6	1	0	0	2	0	5	0	2	0	4	1	2	0	5	0
	Mes	0	0	1	6	0	1	0	5	1	1	5	0	1	2	4	0	0	0	1	6	5	2	0	0
	Bc	0	0	3	4	3	0	3	0	6	1	0	0	1	2	4	0	5	0	2	0	1	1	5	0

Coll: collagen, FN; fibronectin, LM: laminin, Inten.: intensity, A: group A, B: group B, GCW: glomerular capillary wall, Mes: mesangium, Bc: Bowman's capsule

( ): number of cases studied

Fibronectin은 혈관간 기질에서 [++]가 9예, [+]가 2예, [±]가 2예였고 사구체 기저막에서 [++]가 1예, [+]가 8예, [-]가 4예로 제 IV형 교원질과 비슷하게 주로 혈관간 기질에 강하게 발현되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1C). Laminin은 혈관간 기질에서 [+]가 2예, [±]가 4예, [-]가 7예로 거의 음성이었고 사구체 기저막에서 [+]가 8예, [±]가 2예, [-]가 3예로 주로 사구체 기저막에 약하게 선상으로 나타났 다(Fig. 1D).

3. 결절성 당뇨병성 사구체경화증

8예에서 결절성 사구체경화증의 초기 결절을 관찰 할 수 있었고 4예에서 후기 결절을 관찰할 수 있었다. 결과를 Table 2의 하단에 요약하였다. 제 IV형 교원질은 초기 결절에서 7예에서 관찰이 가능했는데 중앙부는 [++]가 6예, [+]가 1예였고 변연부는 [+]가 7예로 중앙부가 다소 강하게 염색되었다. 4예의 후기 결절에서 중앙부는 [++]가 2예, [+] 1예, [-]가 1예였고 변연부는 [+]가 1예, [±]가 3예로 나타나 후기 결절로 진행할수록 결절의 변연부에서 염색도가 감소되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 2A). 제 VI형 교원질은 초기 결절 7예와 후기 결절 3예에서 관찰이 가능하였다. 초기 결절에서 중앙부는 [++]가 4예, [+]가 2예, [-]가 1예였고 변연부는 [++]가 6예, [+]가 1예로 나타났고, 3예의 후기 결절에

서 중앙부는 [++]가 1예, [+]가 2예였고 변연부는 [++]가 3예로 나타나 전반적으로 강하게 염색되었 으며 결절의 변연부에서 좀 더 강하게 나타나는 것 을 볼 수 있었다(Fig. 2B). 제 I형 교원질은 초기 결 절에서 중앙부는 [+]가 3예, [±]가 4예, [-]가 1예 였고 변연부는 [+]가 4예, [±]가 3예, [-]가 1예로 전반적으로 염색도가 낮았고, 4예의 후기 결절에서 는 중앙부가 [+]가 2예, [±]가 2예였고 변연부는 [++]가 1예, [+]가 1예, [±]가 2예로 전체적으로 염색도는 낮지만 후기 결절에서는 변연부에서 염색 도가 증가되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 2C). 제 III형 교원질은 초기 결절에서 중앙부는 [+]가 2예, [±]가 4예, [-]가 2예였고, 변연부는 [+]가 3예, [±]가 4 예, [-]가 1예로 전반적으로 약하게 염색되었고, 후 기 결절에서 중앙부는 [+]가 2예, [±]가 1예, [-]가 1예였고 변연부는 [++]가 3예, [±]가 1예로 변연부 에서 염색도가 증가되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 2D). Fibronectin은 초기 결절에서 중앙부는 [++]가 6예, [±]가 1예, [-]가 1예였고, 변연부는 [++]가 3예, [+]가 3예, [±]가 2예였으며, 후기 결절에서 중 앙부는 [++]가 1예, [+]가 3예였고, 변연부는 [++]가 1예, [+]가 3예로 나타나 전반적으로 강하게 염색되었으나 후기 결절에서는 염색도가 다소 떨어 지는 것을 볼 수 있었다. Laminin은 초기 결절 중 7 예에서 관찰이 가능했는데 중앙부는 [+]가 1예, [±]

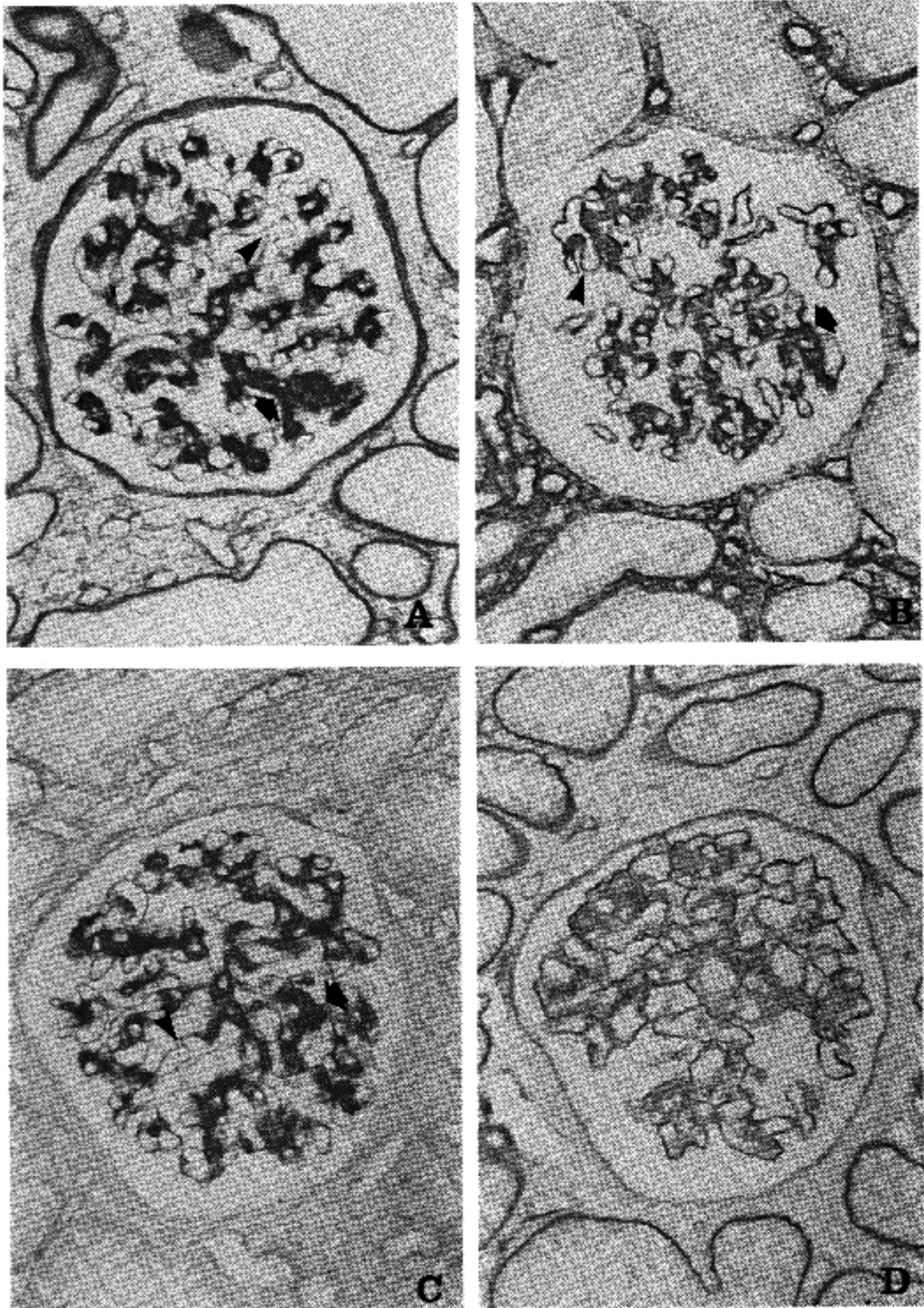
Table 2. Distribution of staining intensity for various extracellular matrix components in diffuse and nodular diabetic glomerulosclerosis

		Coll IV				Coll VI*				Coll I				Coll III				FN				LM			
		-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++
DGS	GCW	5	4	4	0	1	0	8	3	10	3	0	0	4	3	6	0	4	0	8	1	3	2	8	0
	(13) Mes	0	0	1	12	0	1	3	8	6	2	5	0	3	7	3	0	0	2	2	9	7	4	2	0
	gC Bc	1	0	4	8	3	0	8	1	9	3	1	0	3	4	6	0	8	1	4	0	2	1	10	0
NGS	E# C	0	0	1	6	1	0	2	4	1	4	3	0	2	4	2	0	1	1	0	6	2	4	1	0
	(8) P	0	0	7	0	0	0	1	6	1	3	4	0	1	4	3	0	0	2	3	3	1	5	1	0
	L C	1	0	1	2	0	0	2	1	0	2	2	0	1	1	2	0	0	0	3	1	1	2	1	0
	(4) P	0	3	1	0	0	0	0	3	0	2	1	1	0	1	0	3	0	0	3	1	0	4	0	0

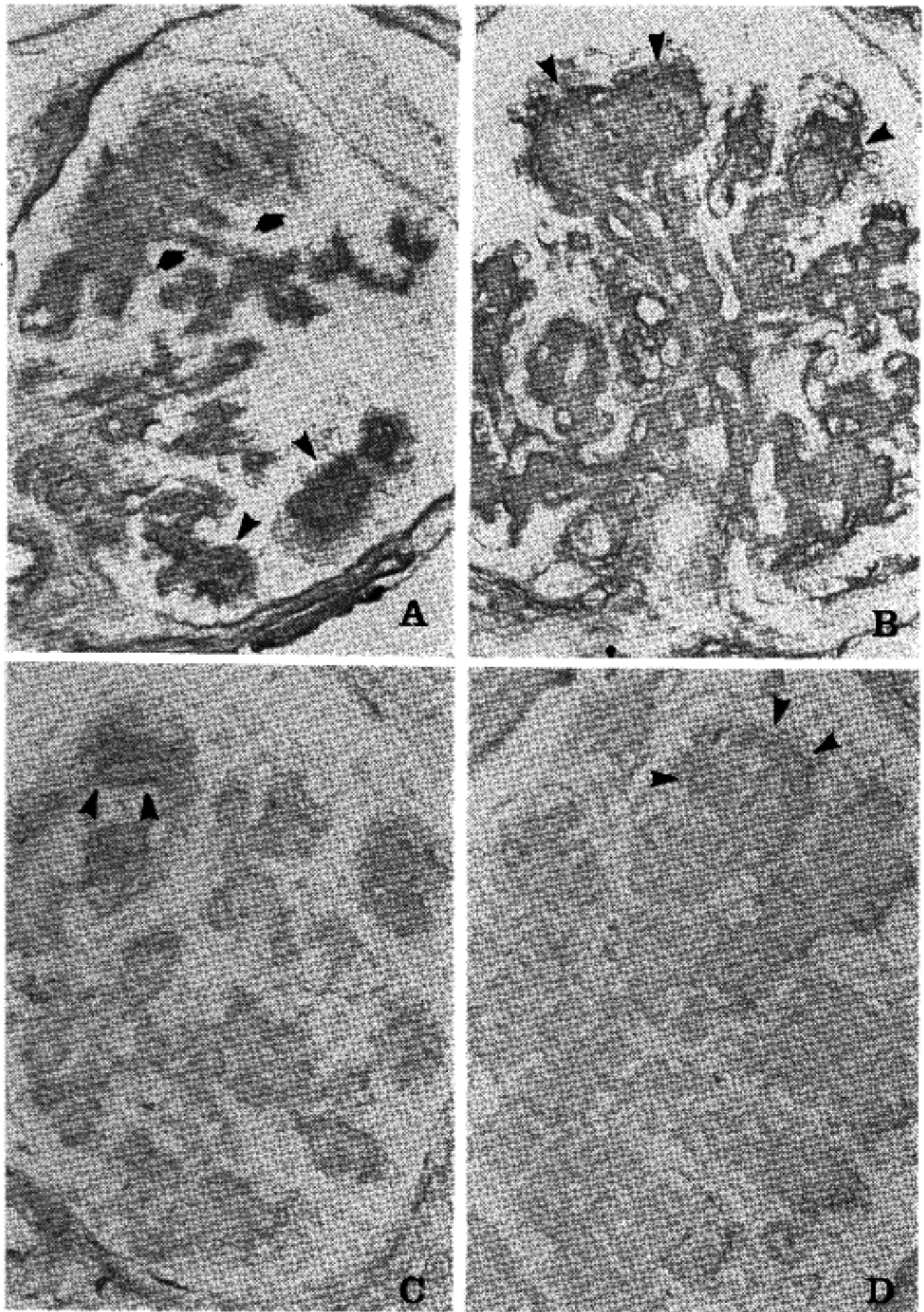
Coll: collagen, FN: fibronectin, LM: laminin, DGS: diffuse glomerulosclerosis, NGS: nodular glomerulosclerosis, GCW: glomerular capillary wall, Mes: mesangium, Bc: Bowman's capsule, Inten.: intensity, E: early, L: late, C: central of the nodule, P: periphery of the nodule, gC: group C, ( ): total number of cases studied

\*: one case was insufficient for evaluation

#: one case was insufficient for evaluation of collagen IV and laminin



**Fig. 1.** Distribution of collagen IV(A), VI(B), Fibronectin(C), and Laminin(D) in diffuse diabetic glomerulosclerosis(ABC,  $\times 200$ ). Collagen IV, VI, & Fibronectin were stained intensely in the expanded mesangial matrix(arrows) and weakly in the glomerular basement membrane(arrow heads). Laminin was positive in the glomerular basement membrane and weakly stained in the mesangial matrix.



**Fig. 2.** Distribution of collagen IV(A), VI(B), I(C), and III(D) in nodular diabetic glomerulosclerosis(ABC, x400). (A) In early nodule (arrow heads), collagen IV was stained intensely in the center but the periphery showed mildly decreased staining. In late nodule (arrows), collagen IV staining was mildly decreased in the center and markedly decreased at the periphery. (B) Collagen VI was stained intensely at the periphery of the nodules (arrow heads). Collagen I(C) and Collagen III(D) were stained weakly in the mesangial matrix and showed focal positive staining with the lamellar pattern at the periphery of the nodules (arrow heads).

가 4예, [-]가 2예였고 변연부는 [+]가 1예, [±]가 5예, [-]가 1예였으며, 후기 결절에서 중앙부는 [+]가 1예, [±]가 2예, [-]가 1예였고 변연부는 [±]가 4예로 나타나 결절이 진행되어도 별 변화가 없었다.

## 고 찰

정상 사구체 기저막과 혈관간 기질은 여러 정도의 다른 기저막 성분들을 함유하고 있다<sup>17</sup>. 이들 구조들은 대부분 균일한 분포의 제 IV형 교원질과 laminin으로 구성되어 있다. 정상 사구체는 간질성 교원질인 제 I형이나 제 III형 교원질은 포함하지 않으며 이들은 단지 Bowman 피막과 주변의 간질조직에 적은 양으로 존재한다<sup>11,18</sup>. Fibronectin은 또 다른 세포외기질 성분으로 정상 사구체의 혈관간 기질에 주로 있으며, 사구체 기저막에는 훨씬 적은 양이 있다<sup>18</sup>.

당뇨병성 신병증은 혈관간 기질의 확장과 사구체 기저막의 비후가 특징이다<sup>1-3</sup>. 이 과정 중에 여러 생화학적 변화가 일어나며 순환하는 단백질들과 사구체에 존재하는 구조적 단백질들의 분해는 당화(glycosylation)후에 감소될 수 있다. 사구체의 이질다당류 성분(heteropolysaccharide subunit)의 감소가 사구체의 투과성에 변화를 일으키는 것으로 생각한다.

초기 당뇨병성 신병증의 병인에 대해서는 많은 보고들이 있어 널리 이해되고 있지만 후기 당뇨병성 신병증의 병인에 대해서는 완전히 이해되고 있지 않다. 그러나 병의 진행과정에 여러가지 소견들이 관여하여 사구체경화를 이끄는 것으로 생각되며 특히 사구체 기저막과 혈관간 기질성분의 변화가 중요한 부분이다.

당뇨병성 신병증에서 이런 세포외기질 성분의 변화에 대한 분자생물학적 및 면역화학적 연구결과들이 여러 문헌에서 보고되고 있다<sup>8,10,12</sup>. 이들의 연구결과에 의하면 당뇨병성 신병증이 진행함에 따라 정상에 비해 세포외기질 성분들의 침착과 소실 등의 변화가 생기는 것을 미만성 당뇨병성 사구체경화증과 결절성 사구체경화증으로 나누어 비교하였다. Nerlich와 Schleicher<sup>8</sup>에 의하면 제 I형 교원질은 미만성이나 결절성 병변에서 사구체 기저막이나 혈관간 기질에 나타나지 않았고 제 III형 교원질은 미만성 병변의 후기부터 조금씩 나타나 결절성 병변의 말기에 이르러 어느정도 발현되는 것을 관찰할 수 있었는데 주로 결절의 변연부에 판상으로 표현되었다. Fibronectin과 laminin은 미만성 병변과 결절성의 초기에서 약하게 나타나나 결절성 병변의 후기에 이르러 오히려 감소

하는 양상을 보였다. 제 IV형 교원질은 미만성 병변의 초기에서 후기로 진행됨에 따라 현저한 증가를 보였는데 결절성 병변의 후기에 이르러 오히려 감소하는 양상을 보였다. 제 V형 교원질은 미만성 당뇨병성 사구체경화증의 초기에서 점차 증가되어 결절성 병변에서 뚜렷하게 증가됨을 보였다. 그러나 그 후 1994년의 보고<sup>10</sup>에서는 결절의 변연부에서만 약하게 발현한다고 기술하고 있다.

본 연구에서는 제 III형, 제 IV형 교원질과 laminin은 Nerlich와 Schleicher<sup>8</sup>의 연구와 유사한 소견을 보였으나 제 I형 교원질과 fibronectin은 다소 차이를 보였다. 그들의 보고에 의하면 제 I형 교원질은 당뇨병성 신병증의 진행에 따라 전혀 변화가 없다고 하였으나 본 연구에서는 당뇨병성 신병증이 진행함에 따라 약하지만 점차 증가하였고 결절성 사구체경화증의 후기에 이르러 제 III형 교원질과 유사하게 나타났다. Fibronectin은 미만성 사구체경화증과 초기 결절성 사구체경화증에서는 다소 강하게 나타났고 후기 결절에서는 다소 감소하는 양상이었다. 본 연구에서는 제 V형 교원질에 대한 면역학적 염색을 시행하지는 않았다.

제 VI형 교원질은 어디에나 존재하는 단백질로서 Chung등<sup>19</sup>에 의해 대동맥 내피로부터 처음 분리되었고 3가지의 polypeptide chain인  $\alpha 1(VI)$ ,  $\alpha 2(VI)$  그리고  $\alpha 3(VI)$ 로 구성되어 있다<sup>20-23</sup>. 최근 Mohan등<sup>15</sup>은 초미세섬유인 제 VI형 교원질이 정상 사구체에도 존재하며 당뇨병성 신병증에서 비당뇨병성 신병증보다 2.8배나 높게 나타나는 것을 보고하였고 이 교원질의 증가가 사구체 기질의 확장에 관여할 것으로 주장하였다. Hatamoch등<sup>24</sup>에 의하면 제 VI형 교원질의 표현은 제 I형과 제 III형 교원질, 그리고 fibronectin과는 다른 형태로 조절되고 있다고 하였다. Nerlich등<sup>10</sup>은 당뇨병성 미만성 사구체경화증에서 제 VI형 교원질은 혈관간 기질에 부분적으로 증가를 보이고 결절성일 때 특징적으로 혈관간 기질의 결절에 미만성 강양성으로 현저한 증가를 보여 결절성 사구체경화증의 형태학적 표지자로 사용할 수 있음을 시사하였다. Kashtan과 Kim<sup>9</sup>의 연구와 Zhu등<sup>5</sup>의 연구에서도 VI형 교원질에 대한 면역형광염색에서 정상 신장에서는 혈관간부에 주로 나타나고 기저막의 내피하에 국한되어 약하게 존재하지만 Alport 환자의 사구체에서는 혈관간부와 두꺼워진 사구체기저막에 전반적으로 염색되고 경화된 사구체에서도 강하게 염색되어 제 V형 교원질과 비슷하다고 했다. 당뇨병성 신병증에서는 확장된 혈관간부에서 강하게 발현되었으나

비후된 기저막에서는 염색되지 않았다고 하였다. 본 연구에서는 당뇨병성 신병증이 진행되면서 확장된 혈관간부와 결절에는 제 VI형 교원질이 강하게 발현되었고 비후된 사구체 기저막에서는 다소 염색도가 떨어지지만 전반적으로 잘 나타나 다른 보고들<sup>9,10,25</sup>과 약간 다른 소견이었다.

본 연구는 당뇨병성 사구체경화증을 각각의 사구체에서 보이는 변화를 중심으로 미만성 사구체경화증과 초기와 후기의 결절성 사구체경화증으로 나누어 비교하였다. 미만성 사구체경화증만 보이던 예들(A군)과 미만성과 결절성 사구체경화증을 다 보이던 예와 결절성 사구체경화증으로 진단된 예들에 포함된 사구체들에서 미만성 사구체경화증을 보였던 예들(B군)을 비교한 결과 제 VI, I, III 교원질과 fibronectin에 대한 염색의 정도가 B군에서 다소 증가되어 질병의 진행과 관련이 있음을 시사하였다. 또한 이들을 합한 C군과 결절성 사구체경화증을 비교했을 때 결절의 형성에 따른 변화를 관찰할 수 있었다. 그러나 연구종례가 적어 각각의 항체에 대한 염색도를 정도에 따라 숫자화하여 이를 통계학적으로 분석하지는 못하였고 반정량적 방법으로 분석한 결과 비교적 일정한 경향을 잘 나타낸다고 생각되었다.

요약하면 당뇨병성 신병증에서 미만성 사구체경화증에서 결절성으로 진행시 사구체 세포외기질의 여러 성분들은 변화를 보이는데 간질성 교원질인 제 I형 및 제 III형 교원질은 미만성 사구체경화증의 말기에 혈관간 기질에서 미약하게 발현되기 시작하여 결절성 사구체경화증의 결절부위에서 판상으로 약간 증가되어 결절성 사구체경화증에서 결절을 구성하는 성분의 일부임을 시사하였다. Laminin은 미만성 사구체경화증에서 미약하게 나타났으나 결절성에서는 혈관 기저막에 미약하게 나타날 뿐 혈관간기질에는 거의 음성으로 나타나서 사구체경화증의 진행에 별로 영향을 주지 않는 것으로 생각된다. 제 IV형 교원질과 fibronectin은 미만성 사구체경화증의 확장된 혈관간부에서 뚜렷히 증가되었고 결절성 사구체경화증에서 초기 결절에는 미만성 증가를 보였지만 후기 결절에서는 변연부에서 현저한 감소를 보였다. 제 VI형 교원질은 미만성 사구체경화증에서는 제 IV형 교원질과 유사한 소견을 보였으나 결절성 사구체경화증에서는 제 IV형 교원질과는 다르게 결절성 초기부터 결절의 변연부에서 현저한 증가가 나타나기 시작하여 후기결절에서는 미만성의 증가를 보여 결절이 진행되면서 제 IV형 교원질과 fibronectin의 염색정도와 분포가 제 VI형 교원질의 염색 양상과 반대로 나

타나서 제 VI형 교원질이 간질성 교원질의 출현과 함께 후기결절의 진행에 더 관여할 것으로 생각되었다.

## 결 론

저자는 당뇨병성 신병증에서 신부전을 유발하는 원인으로 사구체 세포외기질의 변화에 대해 알아보고 신병증의 진행에 따른 기질성분의 변화를 알아보고자 신생검 조직이 유용한 17예를 대상으로 collagen I, III, IV, VI, fibronectin, laminin에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 사구체의 변화에 따라 미만성 병변 13예와 초기결절성 병변 8예 그리고 후기결절성 병변 4예를 나누어 분석한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 제 IV형 교원질은 미만성 당뇨병성 사구체경화증을 보이는 사구체에서 주로 혈관간 기질에서 강하게 염색되었고 기저막에서 약하게 선상으로 염색되었다. 결절성 사구체경화증에서 결절의 수와 크기가 증가됨에 따라 주로 결절의 변연부에서 제 IV형 교원질 염색도의 감소를 볼 수 있었는데 후기결절에서 뚜렷하게 감소되었다.

2) 제 VI형 교원질은 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체에서 기저막과 혈관간 기질에서 대부분이 염색되었고 혈관간 기질에서 더 강하게 염색되었다. 결절성 사구체경화증에서는 결절에서 진하게 염색되었고 결절이 진행함에 따라 결절의 변연부에서 더 강하게 발현되었고 중심부에는 변연부보다 다소 약하였다.

3) 간질성 교원질인 제 I형과 제 III형 교원질은 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체에서는 음성이거나 매우 약하게 염색되었고 결절성 사구체경화증에서는 일부의 예가 결절이 진행함에 따라 결절의 변연부에서 판상으로 나타났다.

4) Fibronectin은 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체에서 기저막과 혈관간 기질에서 대부분 염색되었으나 주로 혈관간 기질에서 강하게 염색되었다. 결절성 사구체경화증에서 초기결절에는 강하게 발현되었으나 후기결절에는 약간 감소하는 경향을 보였다.

5) Laminin은 미만성 사구체경화증을 보이는 사구체에서 주로 기저막에 약하게 염색되었으나 결절성 사구체경화증에서 초기와 후기 결절에는 거의 발현되지 않았다.

이상의 결과로 당뇨병성 사구체경화증의 초기 병변에서는 특히 혈관간 기질에 제 IV형 및 제 VI형 교원질과 fibronectin의 증가가 현저한 반면, 후기에는



결절이 진행될수록 제 IV형 교원질과 fibronectin이 감소하고 제 VI형 교원질과 간질성 교원질인 제 I형 및 제 III형 교원질의 발현이 증가되어 이들이 결절의 진행에 관여할 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Schleicher E, Wieland OH. Changes of human glomerular basement membrane in diabetes mellitus. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 223-7.
- Steffes MW, Osterby R, Chavers B, Michael AF. Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes* 1989; 39: 1077-81.
- Steffes MW, Bilous RW, Sutherland DER, Mauer SM. Cell and matrix components of the glomerular mesangium in type I diabetes. *Diabetes* 1992; 41: 679-84.
- Ellis EN, Steffes MW, Goetz FC, Sutherland DER, Mauer SM. Glomerular filtration surface in type I diabetes mellitus. *Kidney Int* 1984; 29: 889-94.
- Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DER, Brown DM, Goetz FC. Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74:1143-55.
- Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T. Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes: An epidemiological study. *Diabetologica* 1983; 25: 496-501.
- Glick AD, Jacobson HR, Haralson MA. Mesangial deposition of type I collagen in human glomerulosclerosis. *Hum Pathol* 1992; 23: 1373-79.
- Nerlich AG, Schleicher ED. Immunohistochemical localization of extracellular matrix components in human diabetic glomerular lesions. *Am J Pathol* 1991; 139: 889-99.
- Kashtan CE, Kim Y. Distribution of the  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  chains of collagen IV and of collagens V & VI in Alport syndrome. *Kidney Int* 1992; 42: 115-12.
- Nerlich AG, Schleicher ED, Wiest I, Specks U, Timpl R. Immunohistochemical localization of collagen VI in diabetic glomeruli. *Kidney Int* 1994; 45: 1648-56.
- Falk RJ, Scheinman JI, Mauer SM, Michael AF. Polyantigenic expansion of basement membrane constituents in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32: 34-9.
- Kim Y, Kleppel M, Butkowski RJ, Mauer SM, Wieslander J, Michael AF. Differential expression of basement membrane collagen chains in diabetic nephropathy. *Am J Pathol* 1991; 138: 413-20.
- von der Mark H, Aumailley M, Wick G, Fleischmajer R, Timpl R. Immunohistochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *Eur J Biochem* 1984; 142: 493-502.
- Mundel P, Elger M, Sakai T, Kriz W. Microfibrils are a major component of the mesangial matrix in the glomerulus of the rat kidney. *Cell Tissue Res* 1988; 254: 183-7.
- Mohan PS, Carter WG, Spiro RG. Occurrence of type VI collagen in extracellular matrix of renal glomeruli and its increase in diabetes. *Diabetes* 1990; 39: 31-7.
- 박문향, 안혜선. B형 간염 바이러스에 동반된 신병증의 임상 및 병리학적 연구. *대한병리학회지* 1992; 26: 215-28.
- Schleicher E, Wagner EM, Olgemoller B, Nerlich A, Gerbitz KD. Characterization and localization of basement membrane-associated heparan sulfate proteoglycan in human tissues. *Lab Invest* 1989; 61: 323-32.
- Bruneval P, Foidart JM, Nochy D, Camilleri JP, Bariety J. Glomerular matrix proteins in nodular glomerulosclerosis in association with light chain deposition disease and diabetes mellitus. *Hum Pathol* 1985; 16: 477-84.
- Chung E, Rhodes RK, Miller EJ. Isolation of three collagenous components of probable basement membrane origin several tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 77: 1167-74.
- Engvall E, Hessle H, Klier G. Molecular assembly, secretion, and matrix deposition of type VI collagen. *J Cell Biol* 1986; 102: 703-10.
- Trueb B, Winterhalter KH. Type VI collagen is composed of a 200kd subunit and two 140kd subunits. *EMBOJ* 1986; 5: 2815-19.
- Timpl R, Engel J. Type VI collagen, in structure and function of collagen types, edited by Mayne R, Burgeson R, Mecham RP, New York, Academic Press 1987; pp105-43.
- Keene DR, Engvall E, Glanville RW. Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *J Cell Biol* 1988; 107: 1995-2006.
- Hatamochi A, Aumailley M, Mauch C, Chu M, Timpl R, Krieg T. Regulation of collagen VI expression in fibroblasts. *J Biol Chem* 1989; 264: 3494-99.
- Zhu D, Kim Y, Steffes MW, Groppoli TJ, Butkowski RJ, Mauer SM. Application of electron microscopic immunocytochemistry to the human kidney: Distribution of type IV & type VI collagen in normal human kidney. *J Histochem Cytochem* 1994; 42: 577-84.