

## 안지오텐신 전환효소 억제제가 진행성 사구체 경화증에 미치는 영향

대구효성가톨릭대학교 의과대학 병리학교실, <sup>1</sup>한국과학기술원 생명공학연구소 유전자원센터  
<sup>2</sup>경북대학교 의과대학 병리학교실

박미옥 · 김용진 · 오훈규 · 이철호<sup>1</sup> · 현병화<sup>1</sup> ·곽정식<sup>2</sup>

### The Effects of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor on Progressive Glomerular Sclerosis

Mi Ok Park, Yong-Jin Kim, Hoon Kyu Oh, Chul Ho Lee<sup>1</sup>,  
Byung Hwa Hyun<sup>1</sup>, and Jung Sik Kwak<sup>2</sup>

Department of Pathology, School of Medicine, Catholic University of Taegu-Hyosung,  
Taegu 705-718, Korea; <sup>1</sup>Genetic Resources Center, Korea Research Institute of  
Bioscience & Biotechnology, Korea Institute of Science and Technology, Taejeon;  
<sup>2</sup>Department of Pathology, School of Medicine, Kyungpook National University, Taegu

Almost all advanced glomerular diseases have glomerular sclerotic changes to varying degrees whatever causes their primary glomerular disease are. Pathogenesis of these sclerosis has been thought of as the hyperfiltration in the primary glomerulosclerosis due to development of glomerular hypertension in each insulted glomeruli. This background gave the theoretical bases for antihypertensive therapies for supporting chronic renal insufficient patients. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor, one of the antihypertensive drugs, has received attention recently for its effectiveness. The aims of this study determined the effects and mechanism of the ACE inhibitor, enalapril, on the glomerulosclerosis in FGS/NgaKist mice, which was an animal model of chronic renal failure by generating spontaneously heavy proteinuria and progressive glomerulosclerosis. Five-week-old FGS/NgaKist mice (n=38) were assigned to four groups. Group 1a (n=6) and group 2a (n=8) fed with a vehicle, were sacrificed at the end of 10 weeks and 15 weeks, respectively. Group 1b (n=12) and 2b (n=12) received enalapril (100 mg/L) in drinking water for 5 weeks and 10 weeks from 6th week of age respectively, and were sacrificed on the same day as the control groups. Doses of enalapril were maintained to 2 mg/kg/day by measuring the amount of water consumption. In enalapril groups 1b and 2b, systemic blood pressure ( $74.7 \pm 14.0$  mm Hg,  $74.3 \pm 15.9$  mmHg) were significantly lower than control group 2a ( $116.1 \pm 4.6$  mmHg,  $P < 0.001$ ). Similarly, degree of proteinuria lowered in enalapril group 2b versus control group 2a (0% and 50.0%,  $P < 0.001$ ). Glomerulosclerosis percentage significantly decreased ( $P < 0.001$ ) (group 1b and 2b;  $1.9 \pm 6.5$ ,  $5.6 \pm 7.0$  vs control 1a and 2a;  $32.8 \pm 15.5$ ,  $31.4 \pm 13.8$ ). Glomerulosclerosis score also decreased ( $P < 0.001$ ) (group 1b and 2b;  $0.02 \pm 0.08$  vs control 1a and 2a;  $0.48 \pm 0.12$ ,  $0.30 \pm 0.14$ ). The immunofluorescent staining of enalapril groups showed negative for mesangial deposition of IgG, IgA, IgM, and C3 which were positive in control groups. Immunohistochemical staining with TGF- $\beta$  1 was negative in enalapril groups and sclerotic glomeruli both enalapril groups and control groups. These results support that

접 수: 1998년 2월 23일, 게재승인: 1998년 9월 15일

주 소: 대구광역시 남구 대명 4동 3056-6, 우편번호 705-718, E-mail: yyjjkim@unitel.co.kr

대구효성가톨릭대학 의과대학 병리학교실, 박미옥

\*이 연구는 1997년도 대한의사협회 기초의학 진흥기금 보조금으로 이루어짐.

ISSN : 0379-1149

the ACE inhibitor has a renoprotective effect on glomerulosclerosis not only by decreasing the blood pressure but also by suppressing the immune deposits on glomeruli. (Korean J Pathol 1998; 32: 1058~1065)

**Key Words:** Glomerulosclerosis, Angiotensin converting enzyme inhibitor, Enalapril, TGF- $\beta$  1

## 서 론

사구체 신염의 말기는 그 원인질환에 관계없이 형태학적으로 일부 또는 심한 사구체 경화증이 초래된다. 따라서 사구체 경화증이란 원발성 질환의 한가지임과 동시에 다른 원발성 사구체질환의 이차적인 현상으로도 간주되고 있다.<sup>1~6</sup> 사구체 경화증의 병리기전으로 여러 학자들이 과여과설을 비롯한 비면역학적 기전과 면역학적기전을 제시하고 있는데 이차적인 경우에서도 그 기전은 원발성 사구체질환과는 상관없이 동일하다고 보고있다.<sup>7</sup> 그래서 사구체경화의 기전을 이해하고 이를 방지하려는 시도는 신부전증 또는 사구체질환의 진행을 지연할 수 있는 중요한 연구이다. 실험적으로 사구체 경화증의 소견을 보이는 여러가지 동물실험 모델이 고안되었는데 aminonucleoside,<sup>8~10</sup> adriamycin,<sup>11</sup> puromycin 등의 약물투여에 의한 신증모델, 신적출술 모델,<sup>7,12</sup> 단백질, 소금 혹은 고지방 식이요법 등이다. 그러나 이들은 인위적인 상해모델이어서 사구체경화의 기전을 이해하는데 좋으나 치료법의 개발이나 치료방법을 적용하는데는 부적절함이 많다. 1991년 현등<sup>13</sup>이 자연발생적으로 사구체경화의 형태학적인 소견을 보이는 흰쥐를 개발하여 FGS/NgaKist로 명명하였다. Lee등<sup>14</sup>은 FGS/NgaKist 흰쥐가 자연발생적으로 생후 1~2개월 이내에 단백뇨가 나타나기 시작하여 지속적인 단백뇨를 보이며 1년 이내에 신부전증으로 사망하는 것을 관찰하였는데 형태학적으로 사구체경화가 부분적으로 시작하여 전체적인 사구체경화로 진행되어 이 동물이 사람에게서 볼 수 있는 국소성 분절성 사구체 경화증 (focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)의 형태와 유사함을 보고하였다. 오등<sup>15</sup>은 면역형광검사서 메산지움에 IgG, IgA, IgM 및 C3의 침착을 관찰하였는데 이들 침착부위가 전자현미경검사서 관찰된 전자고밀도 물질의 침착부위와 일치함을 보아 이 동물의 사구체질환이 면역매개성이라는 것을 보고하였다. 또한 사구체경화가 심한 군에서 변환 성장인자 (transforming growth factor, TGF)항체의 발현도가 높았고 TGF- $\beta$  mRNA가 사구체 세포에서 발현됨을 관찰하여 이 개체에서의 사구체경화는 메산지움세포의 TGF- $\beta$ 의 증가에 의한 세포외기질의 침착으로 발생한다고 보고하였다.<sup>15</sup>

안지오텐신 전환효소 (angiotensin converting enzyme, ACE) 억제제는 신장의 레닌-안지오텐신-알도스테론계에 관여하여 안지오텐신 I, 안지오텐신 II 및 알도스테론의 형성을 방지하여 혈관근육의 이완, 혈관계의 저항

성 감소, 심장수축력의 감소 등의 약리작용으로 인해 항고혈압제로서 널리 쓰이고 있다. 신장에서는 사구체 모세혈관 관류압을 감소시키고 과여과의 상태를 감소시켜 단백뇨의 감소와 사구체경화를 감소시키는 작용으로 만성 신부전증의 치료제로서 각광받고 있다.<sup>6,16~19</sup>

이러한 지견을 바탕으로 본 연구자는 FGS/NgaKist 흰쥐에 ACE 억제제를 투여하여 주령 증가와 ACE 억제제 투여기간에 따른 사구체경화의 형태학적 변화와 함께 어떠한 혈행적, 면역학적 의의가 있는지를 알아보고자 면역형광 및 전자현미경적 검사, TGF- $\beta$  1에 대한 면역조직화학적 검사를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

1) 실험동물과 사료: 실험동물로는 CBA/Nga 흰쥐와 RFM/Nga 흰쥐의 교배에서 만들어진 FGS/NgaKist 흰쥐를 한국과학기술 연구원 부설 생명공학 연구소에서 38마리를 구해 플라스틱 쥐장에서 사육하였다. 실험 전 기간동안 페레트형 고형사료로 사육하였고 물은 자유롭게 먹었다.

2) 실험약제: ACE 억제제로 Enalapril (Renitec®, 중외제약)을 사용하였다.

### 2. 실험 방법

1) 실험군 분류: 총 38마리의 흰쥐를 4군 (1a, 1b, 2a, 2b)으로 분류하였다.

(1) 대조군; 고형사료와 물을 자유롭게 마시게 하였고 제 1a군 (6마리)은 10주째에, 제 2a군 (8마리)은 15주째에 관찰하였다.

(2) 실험군; 제 1b군 (12마리)은 6주령째부터 Enalapril이 첨가된 물을 마시게 하여 5주 뒤에 관찰하였다. 제 2b군 (12마리)은 6주령째부터 Enalapril이 첨가된 물을 마시게 하여 10주 뒤에 관찰하였다.

2) 약제 투여 방법: Enalapril은 원형정제 (10 mg/1 tablet)를 분말상태로 만들어 마시는 물에 섞어 (100 mg/L in drinking water) 자유롭게 마시게 하였다. 흰쥐 1마리당 1일 먹는 물량은 약 5~10 mL이었다. 따라서 각 개체당 하루에 체중 1 kg당 2 mg의 Enalapril이 투여되도록 하였다.

3) 생리학적 검사: 각 개체의 하루 뇨배설량이 적어 대사쥐장에 넣어서 24시간 소변을 모우는 것이 불가능하여서 단백뇨의 측정은 각 개체당 한번 배설하는 소변

을 micropipette로 모아서 Lab-stix로 측정하였다. 단백뇨의 수치는 0, +1, +2, +3의 등급으로 구분하였다. 수축기 혈압과 이완기 혈압은 tail-cuff방법으로 측정하였다.

### 3. 관찰 방법

1) 병리조직학 검색: 대조군과 실험군을 ether로 마취하고 신장을 적출하여 2.5% 포르말린-Histochoice (Amresco, USA)용액에 고정시킨후 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하고 2 μm 두께로 박절후 PAS염색을 시행하여 관찰하였다. 각 군의 신장조직에서 한 개체당 100개의 사구체를 검사하였고 사구체경화는 분절성으로 모세혈관들이 파괴되어 내강의 소실 및 경화증을 보일때를 양성으로 하여 경화가 있는 사구체수의 백분율 (glomerulosclerosis percentage)을 구하였다. 경화가 있는 사구체에서 병변이 차지하는 범위에 따라 0에서 2+까지 3등급으로 나누고 그 기준으로 0은 경화가 없는 사구체, 1+는 경화가 사구체 면적의 1/2 미만, 2+는 경화가 사구체 면적의 1/2 이상으로 구분한 후 관찰한 총 사구체수에 대한 경화율 (sclerosis score)을 계산하였다.

Sclerosis Score (경화율) =  $\{(1 + \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 1 + (2 + \text{병변을 보이는 사구체수}) \times 2\} / \text{총 관찰 사구체수}$

2) 면역형광현미경 검색: 신장조직은 7.5% 젤라틴과 함께 액체 질소를 이용하여 -70°C로 냉동고정하였다. 고정된 조직을 4 μm 두께로 박절하여 아세톤에 5분간 고정한 후 완충 식염수에 세척하였다. Fluorescein isothiocyanate conjugated goat anti-mouse IgA, C3 (ICN Pharmaceuticals, Kennebunk, ME, USA), IgG, IgM (Jackson ImmunoResearch, Pennsylvania, USA)으로 염색하고 glycerin으로 봉입하였다.

3) TGF-β1의 면역조직화학 검색: 파라핀에 포매된 조직절편을 Probe-on-Plus (FisherBiotech®, Pittsburgh, USA) 유리슬라이드에 4 μm 두께로 박절하여 붙인 후 모세관 원리를 이용한 Microprobe system (Fisher Scientific, Chicago, USA)으로 염색하였다. Xylene과 Histo-clear를 1:3으로 섞은 용액에 적시고 80°C의 열을 가하는 과정을 4회 반복하여 탈파라핀 한 후 95% 알콜과 100% 알콜에서 탈수하였다. 내재성 peroxidase를 억제하기 위해 endblocker에 반응시킨 후 조직항원이 잘 노출되게 pepsin용액으로 전처치를 하고 1x immuno/DNA buffer로 세척하였다. 일차항체로는 rabbit anti-TGF-β1 polyclonal antibody (cat# sc-146, Santa Cruz Biotechnology, California, USA)를 항체 희석액 (Dako, Carpinteria, CA, USA)에 1:50 배율에서 1:1의 배율로 희석하여 시험적으로 염색하여 1:20의 희석배율을 적절한 농도로 판단하였다. 1:20의 희석배율의 농도 (5 μg/mL)로 4°C의 수조에서 하룻밤동안 반응시켰다. Biotin 결합 이차항체를 가한 후 실온의 수조에서 1시간 반응시키고 streptavidin HRP conjugate (Zymed, San Francisco, California, USA)로 표식하고 AEC chromogen solution (3-amino-

9-ethyl-carbazole in N, N-dimethyl formamide)으로 발색하였고 Harris hematoxylin으로 약 20초간 대조염색하여 glycerol로 봉입하여 관찰하였다.

4) 전자현미경 검색: 신장조직을 1 mm<sup>3</sup>의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde용액 (0.1 M phosphate buffer, PH 7.4)으로 0° -4°C에서 2시간 전고정, 0.1 M PBS로 세척한 후 1% OsO<sub>4</sub>용액에 2시간 후고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척하여 계열에탄올로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 후 epon혼합물로 포매하였다. 포매된 조직을 1 μm 두께로 박절하여 toluidine blue염색을 하여 관찰부위를 결정한 다음 초박절하여 grid에 부착하고, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 Hitachi H-600 투과전자현미경으로 관찰하였다.

### 4. 통계적 방법

실험자료중 수치화된 것은 평균±표준편차로 표시하였으며, 통계학적 처리는 SAS (Statistical Analysis Software)의 program을 이용한 Wilcoxon's rank sum test를 이용하였고 p값이 0.05 이하일 경우를 통계적으로 의의가 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 생리학적 검사성적

단백뇨는 대조군과 실험군의 대부분의 예에서 생후 4주령전후에 나타나기 시작하였고 대조군에서는 전 실험기간에 걸쳐서 지속적인 단백뇨를 보였으며 10주령 정도에서 심한 단백뇨를 보였다. 실험군과 대조군의 희생시키기 전의 단백뇨의 정도를 보면 1a군과 1b군에서는 단백뇨의 등급이 3+ 이상이 각각 33.3%, 16.6%이며

Table 1. Changes of proteinuria after ACE inhibitor administration on FGS/NgaKist mice

Group	Degree of proteinuria			
	0	+1	+2	+3
Normal controls (N=14)				
1a (n=6) 10 W, untreated	0	2(33.3) <sup>a</sup>	2(233.3)	2(33.3)
2a (n=8) 15 W, untreated	0	3(37.5)	1(12.5)	4(50.0)
Experimental groups (N=24)				
1b (n=12) 5 W, untreated + ACEi 5 W	0	2(16.7)	8(66.7)	2(16.6)
2b (n=12) 5 W, untreated + ACEi 10 W	2(25.0)	9(66.7)	1(8.3)	0 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: Number of animal (%)

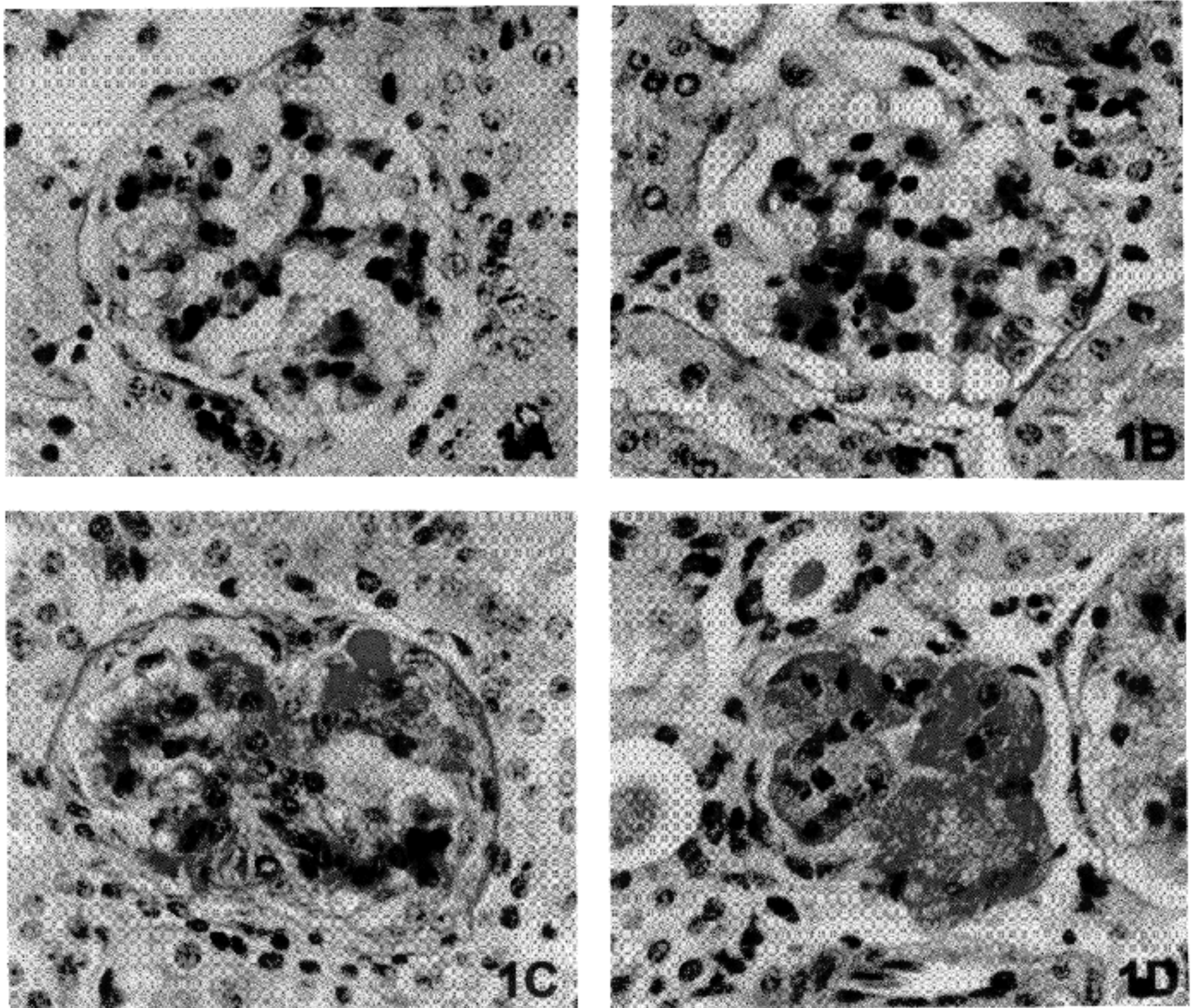
<sup>b</sup>: 2b is significantly lower than 2a (p<0.001)

ACEi: Angiotensin Converting Enzyme inhibitor

**Table 2.** Changes of blood pressure and glomerulosclerosis percentage and sclerosis score according to ACEi administration on FGS/NgaKist mice

Group	Blood pressure (mmHg)		Glomerulosclerosis	
	systolic	diastolic	%	score
Normal control (N=14)				
1a (n=6)	—	—	32.8 ± 15.5	0.48 ± 0.12
10 W, untreated				
2a (n=8)	116.1 ± 4.6	79.6 ± 7.1	31.4 ± 13.8	0.30 ± 0.14
15 W, untreated				
Experimental groups (N=24)				
1b (n=12)	74.7 ± 14.0	54.4 ± 7.8	1.9 ± 6.5 <sup>b</sup>	0.02 ± 0.08 <sup>b</sup>
5 W, untreated + ACEi 5 W				
2b (n=12)	74.3 ± 15.9 <sup>a</sup>	51.0 ± 9.8 <sup>a</sup>	5.6 ± 7.0 <sup>c</sup>	0.08 ± 0.08 <sup>c</sup>
5 W, untreated + ACEi 10 w				

Values are the mean ± SD of 4 different animals. <sup>a</sup>: 2b is significantly lower than 2a (p < 0.001).  
<sup>b</sup>: 1b is significantly lower than 1a (p < 0.001). <sup>c</sup>: 2b is significantly lower than 2a (p < 0.001).



**Fig. 1.** The kidney of FGS/NgaKist mouse shows nearly normal glomerulus (1A, PAS, ×400), segmental cellular proliferation with mesangial expansion (1B, PAS, × 400), hyalinosis of capillary loops and the mesangial sclerosis (1C, PAS, ×400), and global sclerosis (1D, PAS, ×400).

통계학적으로 의의는 없었고 2a군과 2b군에서는 각각 50.0%, 0%로 통계학적으로 유의하게 단백뇨가 감소하였다 ( $p < 0.001$ )(Table 1). 실험군 2b군은 대조군 2a군에 비해 수축기 및 이완기 혈압이 현저히 감소하였고 통계학적으로 의의가 있었다 ( $p < 0.001$ ). 비록 대조군 1a에서 혈압 측정은 시행하지 못하였지만 실험군 1b군과 2b군간에 유의할만한 혈압의 차이는 없었다 (Table 2).

2. 광학현미경적 소견

대조군 1a군에서는 정상으로 보이는 사구체에서부터

증식성 사구체와 경화를 보이는 사구체의 소견을 보였다. 주령이 증가한 2a군에서는 대부분의 개체에서 사구체모세혈관이 수축되었고 메산지움의 확장하였으며 여기에 PAS에 붉게 염색되는 초자양 물질이 침착되는 사구체경화와 세뇨관의 위축과 동반된 간질의 섬유화가 국소적으로 관찰되었다 (Fig. 1). 대조군 1a군과 2a군에서 경화가 있는 사구체수의 백분율이  $32.8 \pm 15.5\%$ ,  $31.4 \pm 13.8\%$ 인데 비해 실험군 1b군과 2b군에서는  $1.9 \pm 6.5\%$ ,  $5.6 \pm 7.0\%$ 로 현저히 감소하였고 통계학적으로 의의가 있었다 ( $P < 0.001$ ). 또한 경화율을 비교해 보면 1a

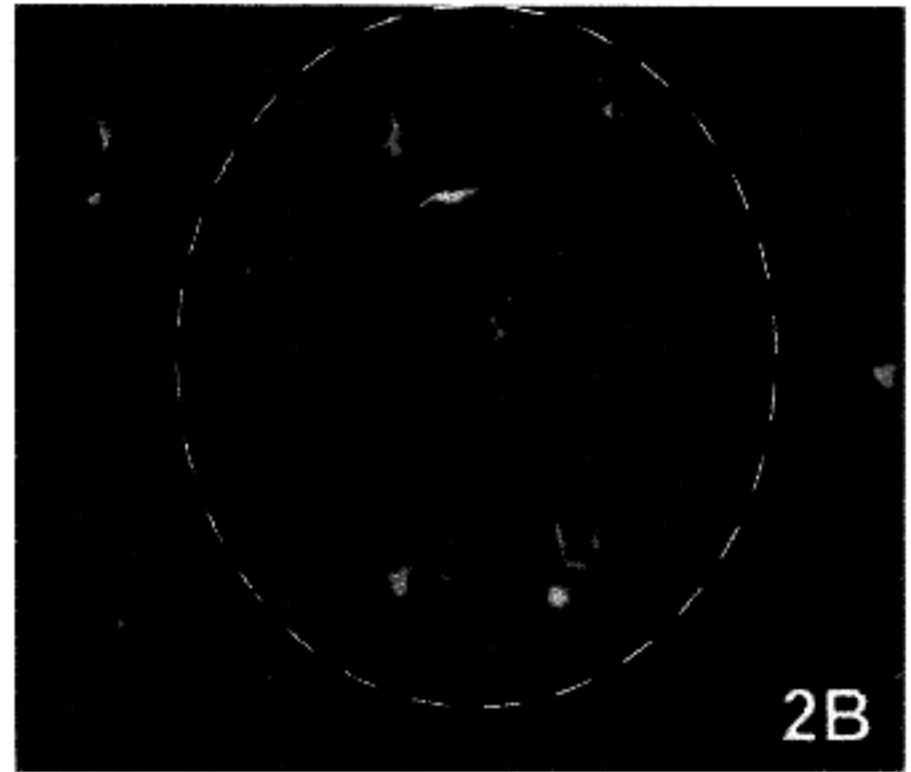
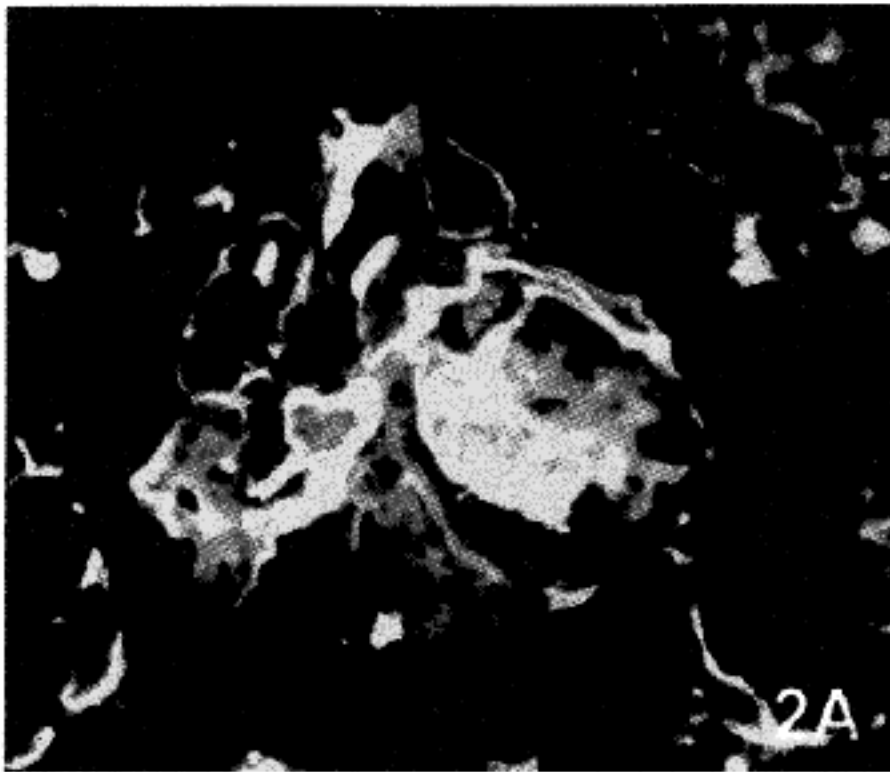


Fig. 2. In control group, immunofluorescence stain for C3 shows dense deposits, mainly in the mesangium (2A,  $\times 400$ ). Very few deposit in the mesangium and focally granular deposit along tubular basement membranes in enalapril group are seen (2B,  $\times 400$ ) Dotted circle indicates the Bowman's capsule.

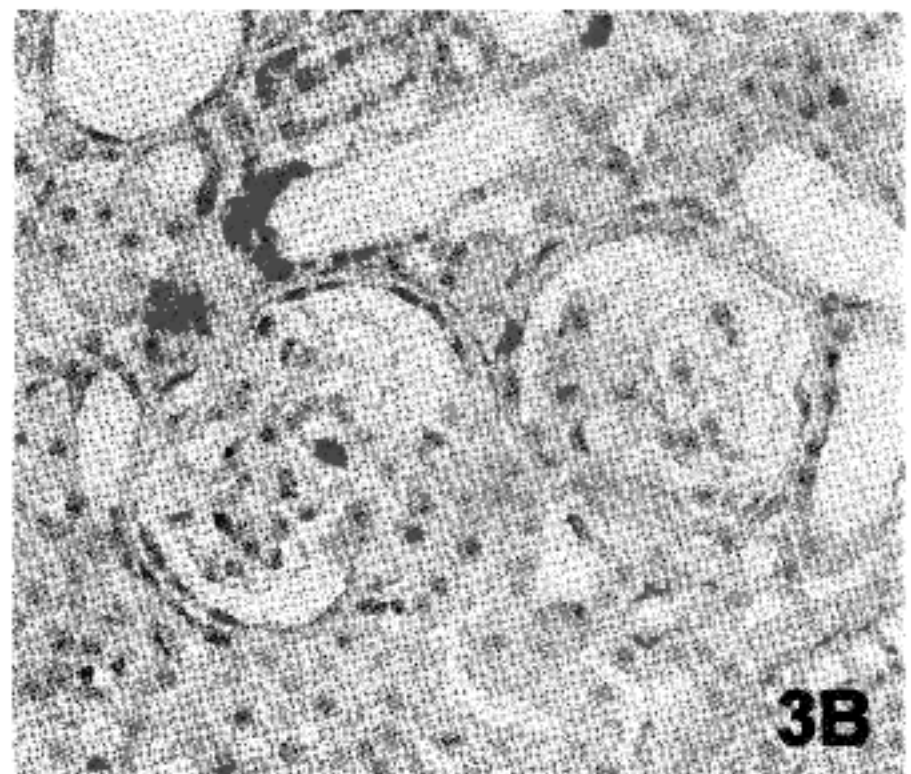
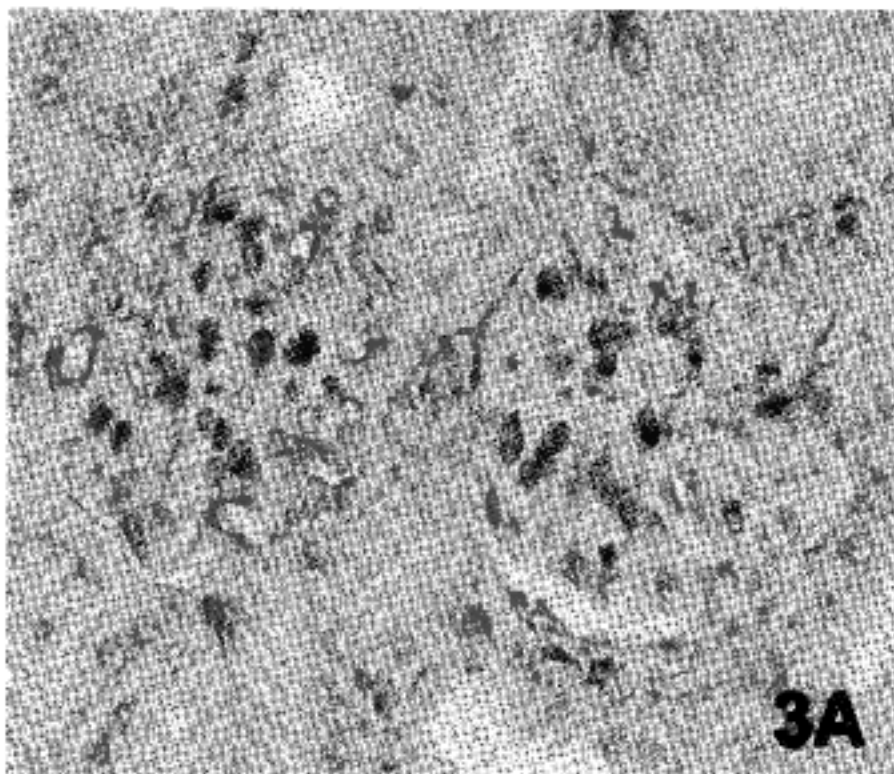


Fig. 3. Immunohistochemical stain for TGF- $\beta$ 1 shows linear positivity along glomerular capillary loops in control group (3A) and no positive stain on glomerular capillary loops and weakly positive of some tubular epithelial cells in enalapril group (3B).

군과 2a군에서  $0.48 \pm 0.12$ ,  $0.30 \pm 0.14$ 이고 1b군과 2b군에서  $0.02 \pm 0.08$ ,  $0.08 \pm 0.08$ 로 실험군에서 유의있게 감소하였다 ( $p < 0.001$ ) (Table 2). 그런데 본 연구에서는 대조군 2a군이 1a군에 비해 오히려 경화가 있는 사구체의 백분율과 경화율이 감소했다. FGS/NgaKist 흰쥐는 주령이 증가할수록 경화가 심해지는 특성을 보이는 모델인데 본 연구에서 이러한 결과는 2a군의 8마리중 3마리는 실제로 FGS/NgaKist 흰쥐로 만들어지지 않은 것으로 생각하였고 이 3마리는 광학현미경적 검색에서 제외하였다.

### 3. 면역형광현미경적 소견

대조군에서 경화를 보이지 않는 사구체와 경화를 보이는 사구체 둘다 같이 메산지움에 IgG, IgA, 및 IgM이 중등도로, 실험군에서는 대조군에 비해 IgG와 IgM는 중등도로, IgA는 약하게 메산지움에서 침착되었다. C3는 대조군에서는 메산지움과 세뇨관기저막에 강양성이었고 실험군에서는 메산지움에는 음성이었고 세뇨관기저막에는 부분적으로 양성반응을 보였다 (Fig. 2).

### 4. TGF-β 1의 면역조직화학적 소견

TGF-β 1에 대한 면역조직화학적 염색은 대조군 11예와 실험군 24예에서 시행하였다. 대조군 1a군과 2a군의 11예중 8예에서 거의 정상으로 보이는 사구체와 증식성 사구체의 모세혈관벽에 양성반응을 보였고 메산지움에는 음성이었다. 실험군 1b군과 2b군의 24예중 20예에서 대부분의 개체에서 방사구 체세포영역과 세뇨관 상피세포에 부분적으로 염색이 되었고 사구체 모세혈관벽과 메산지움은 음성이었다 (Fig. 3). 대조군의 나머지 3예와 실험군의 나머지 4예는 조직절편의 배경에 강하게 염색되어 판독에서 제외하였다. 그런데 대조군과 실험군에서 분절성 경화가 있는 사구체에서 전구성 경화가 있는 사구체에 비해 강하게 염색되리라 기대하였으나

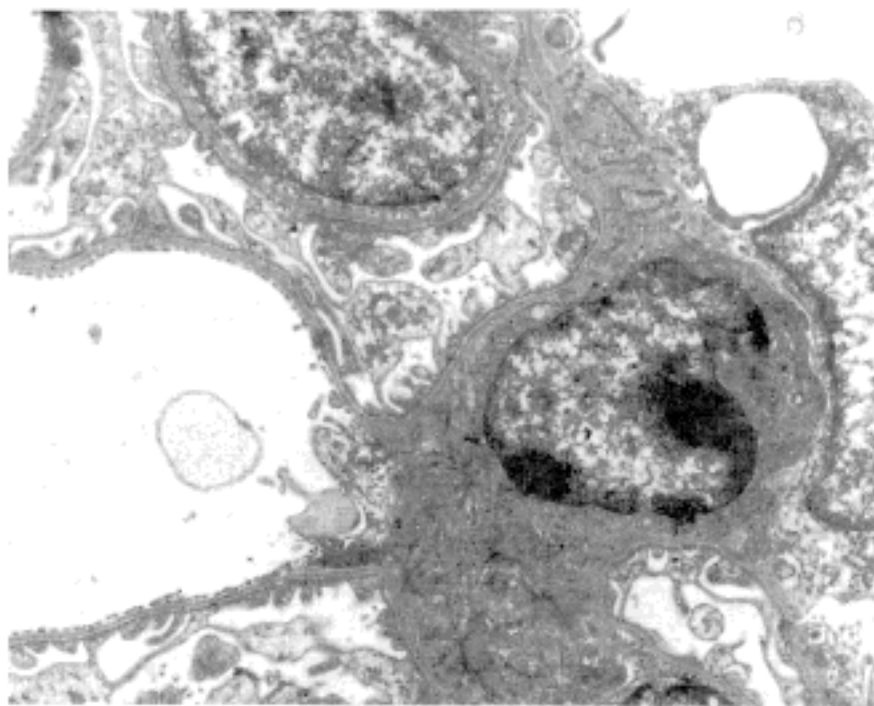


Fig. 4. Ultrastructurally, glomerulus of enalapril group shows absence of electron-dense deposit in the mesangium ( $\times 6,000$ ).

두 사구체에서는 음성반응을 보였다. 양성의 염색결과를 나타낸 대조군 8예에서 조직절편이 부분적으로 염색이 고르게 되지는 않았지만 실험군에서 염색이 되지 않았고 대조군에서 분명히 염색이 되었기에 비록 전 예에서 동일한 염색결과가 나오지는 않았지만 TGF-β 1의 면역조직화학적검사가 실패한 것으로 판단하지 않았다.

### 5. 전자현미경적 소견

대조군에서의 경화된 부위는 사구체모세혈관들의 기저막이 위축 및 응축되고 과량의 혈관간기질이 축적되어 있었으며, 광학현미경 검색에서 초자양변화를 보이는 부위는 주로 메산지움으로 전자고밀도 물질과 교원섬유의 침착이 많았다. 실험군은 경화된 부위에서 사구체모세혈관들의 기저막의 위축, 응축은 관찰되었으나 메산지움에 전자고밀도 물질은 관찰할 수 없었다 (Fig. 4).

## 고 찰

저자들은 사구체 경화증을 보이며 지속적인 단백뇨와 함께 말기에 신부전증으로 사망하는 FGS/NgaKist 흰쥐에 ACE 억제제를 투여하였다. 대조군과 비교하여 주령 증가 및 ACE 억제제 투여기간에 따라서 사구체 경화증의 진행이 지연되는가를 알아보고자 대조군과 실험군을 각각 10주째, 15주째에 병리조직학적 검사, 면역형광검사, TGF-β 1에 대한 면역조직화학적검사를 시행하였다.

그 성적을 종합하면 대조군과 비교하여 실험군에서 단백뇨의 감소와 수축기 및 이완기 혈압의 감소를 보였고 광학현미경학적으로 사구체 경화증의 정도가 감소하였고 세뇨관의 위축과 동반된 간질의 섬유화의 병변은 대부분의 개체에서 일어나지 않았다. 이러한 생리학적 및 형태학적 측면의 호전은 ACE 억제제가 사구체모세혈관 관류압을 감소시켜 과여과라는 혈행역학적 원인을 차단한 것으로 해석되어진다. 또한 10주령인 1b군보다 15주령인 2b군에서 성적이 더 호전된 것은 ACE 억제제가 주령이 증가할수록, 즉 이미 형태학적, 생리학적 증상이 일정한 수준으로 나타내기 시작할 때부터 효과적으로 작용한 것으로 여겨진다. 또한 면역형광 검사에서 대조군에서 메산지움에 IgG, IgA, IgM 및 C3의 심한 침착을 관찰할 수 있는데 비해 실험군에서는 IgA 침착의 현저한 감소와 IgG, IgM 침착의 중등도의 감소를 보였다. 본 실험에 사용된 FGS/NgaKist 흰쥐는 주령이 증가할수록 단백뇨의 증가와 신장에서 분절성 사구체 경화증의 정도가 심해지고 결국은 만성 신부전증으로 사망한다. 이런 소견으로 미루어 보아 이 동물 모델의 특징이 특발성 FSGS와 다른 질환 및 원인에 연관된 이차성 FSGS인지는 확실치는 않지만 우선 광학현미경적으로 분명히 분절성 사구체 경화증의 소견이 나타나고 면역형광검사서 C3가 실험군에서 메산지움에 음성반응을 보였다는 점과 대조군에서 면역글로불린이

침착된 부위가 전자현미경적 검색에서 메산지움에 침착된 전자고밀도 물질과 위치적으로 일치하고 ACE 억제제를 투여한 군에서는 메산지움에 전자고밀도 물질의 침착이 관찰되지 않았다는 점 등으로 미루어 보아 이 개체의 사구체질환이 형태학적으로는 분절성 사구체 경화증을 보이며 그 병리기전으로는 면역매개성일 가능성이 높다고 생각하였다.

ACE 억제제의 작용기전으로 혈행역학적 측면외에도 면역학적기전이 있다고 한다.<sup>16,18,20,21</sup> Rekola등<sup>21</sup>은 IgA 신증환자에서 ACE 억제제를 투여하여 단백뇨의 감소와 함께 신부전의 진행이 지연됨을 보고하였다. 본 연구에서도 ACE 실험군에서 대조군에 비해 형태학적으로 면역복합체 물질의 메산지움에 침착정도의 감소와 함께 단백뇨 정도의 감소, 혈압의 감소, 형태학적으로 사구체 경화증의 감소 등으로 신부전증의 지연을 관찰하여 ACE 억제제의 면역학적 기전이 작용하였으리라 생각하였다.

전자현미경 검색에서 대조군의 경화된 사구체에서는 메산지움에 전자고밀도 물질의 침착외에 사구체기저막의 위축 및 응축이 있고 과량의 혈관간기질의 축적 등 FSGS에서 보이는 변화를 보였는데 실험군에서는 우선 광학현미경적으로도 경화를 보이는 사구체의 수가 대조군에 비해 현저히 감소하였고 분절성 경화를 보이는 사구체에서 사구체기저막의 위축 및 응축은 관찰되었지만 메산지움에 전자고밀도 물질의 침착은 관찰할 수 없었다. 이것은 면역형광검사에서 실험군에서 IgA와 C3 침착의 현저한 감소와 일치되는 소견이었다.

TGF- $\beta$ 는 원래 그 이름의 의미대로 세포의 형질전환을 촉진하는 인자의 하나로 많은 정상세포와 조직에서 분비되는 분자량 25,000인 이종체 단백질이며, 사람에서는 TGF- $\beta$  1, 2, 3의 세가지 아형이 알려져 있다. TGF- $\beta$ 는 세포종류와 배양조건에 따라 다양한 생리활성을 갖고 있고 여러 종류의 상피세포의 성장을 촉진시키는 성장인자이면서 또한 강력한 억제제이다. TGF- $\beta$ 는 T 림프구와 B 림프구의 활성억제, 단핵세포의 화학주성, cytokine 생산의 변화, B 림프구의 면역글로불린의 생산을 억제하는 등의 면역조절에도 관여한다고 보고되고 있다. 간질의 섬유화와 사구체 경화증에서 보이는 세포외 기질의 과잉 축적은 조직 재생과 수복을 위한 생화학적인 현상이며 상해에 대한 초기 자극은 혈행역동학적, 대사성, 또는 면역학적일 수 있으며 병변이 진행되면 결국 말기에는 신부전증에 이르게 한다.<sup>22,23</sup> 이러한 섬유화 과정에 TGF- $\beta$ 는 교원질, fibronectin, thrombospondin, tenascin, osteopontin, osteonectin 그리고 proteoglycan 등의 세포외 기질의 구성성분의 형성과 방출을 증가시키며 특히 교원질 대사과정 중 교원질 유전인자의 전사과정을 촉진시키고 mRNA의 안정성을 지속시킨다고 알려져 있다.<sup>10,24</sup> 사구체경화에서의 TGF- $\beta$ 의 발현은 여러 연구자에 의해 알려져 왔는데 Kaneto등<sup>25</sup>은 신피질의 세뇨관상피세포에서 Yamamoto등<sup>26</sup>은 신세뇨관

과 간질 그리고 간질에 침윤한 단핵염증세포들에서 TGF- $\beta$  단백질과 mRNA의 증가를 발견하였다. 오등<sup>15</sup>은 FGS/NgaKist 흰쥐에서 시행한 TGF- $\beta$  2의 면역조직화학적 검사와 동소보합검사 (in situ hybridization)에서 사구체경화증이 심한 개체에서 사구체내에서 TGF- $\beta$  2의 발현도가 증가하였고 TGF- $\beta$  2의 형성에 관여하는 세포는 메산지움세포라고 보고하였다.

TGF- $\beta$  1 항체를 사용한 본 실험의 대조군에서 사구체 모세혈관벽에 양성이고 메산지움에 음성이고, 분절성과 전구성 경화증이 있는 사구체에서는 음성반응을 보였다. 실험군 1b군과 2b군에서는 사구체 모세혈관벽과 메산지움에 음성이고 세뇨관상피세포는 일부가 양성이었다. 그런데 분절성 경화가 있는 사구체는 대조군과 실험군 둘다에서 음성의 염색결과가 나왔다. 이는 오등의 실험에서 보고한 경화증이 심한 사구체에서 TGF- $\beta$  2의 발현도가 증가되었다는 내용과는 일치하지 않았다. 실험군의 경화가 없는 사구체에서 TGF- $\beta$  1이 음성으로 나타난 것은 ACE 억제제가 안지오텐신 II의 생성을 억제하여 원래 안지오텐신 II의 TGF- $\beta$  1의 발현과 생산촉진하는 기능을 저하시켜서 유발된 결과로 생각하였다.<sup>16</sup> 따라서 말기 신부전 질환에서 ACE 억제제의 사용은 혈압강하 작용은 물론 TGF- $\beta$  1의 발현억제 및 면역학적 억제 등을 유도하여 사구체 경화증의 치료제 내지는 진행 억제제로서의 역할을 한다고 생각한다.

## 결 론

대부분의 진행된 신사구체질환은 원발성 질환의 원인에 관계없이 다양한 정도의 사구체 경화증을 보인다. 이런 경화증의 병리기전으로는 손상받은 사구체에 대한 사구체 고혈압으로 인한 과여과설로 여겨지고 있다. 이런 이론적 근거로 항고혈압제는 신장에서 사구체 모세혈관 관류압을 감소시켜 과여과의 상태를 감소시키고 단백뇨의 감소와 사구체경화를 감소시키는 작용으로 만성 신부전의 치료제로서 각광받고 있다. 특히 항고혈압제의 하나인 ACE 억제제는 이러한 약리작용으로 각광받고 있는 추세이다. 이러한 지견을 바탕으로 본 연구자는 FGS/NgaKist 흰쥐에 ACE 억제제를 투여하여 주령증가와 ACE 억제제 투여기간에 따른 사구체경화의 진행정도를 알아보고자 면역형광 및 전자현미경적 검사, TGF- $\beta$  1에 대한 면역조직화학적 검사를 시행하였다.

5주령의 FGS/NgaKist 흰쥐에 ACE 억제제를 경구로 투여하고 5주 뒤, 10주 뒤에 신장을 적출하여 관찰하였다. ACE 억제제는 실험군에서 신장의 사구체 경화증을 억제시키며 단백뇨의 정도와 혈압을 감소시켰다. 또한 면역복합체의 침착정도를 감소시키며 TGF- $\beta$  1의 발현도도 감소시킴을 알 수 있었다.

말기 신부전 질환에서 ACE 억제제인 Enalapril의 사용은 혈압강하 작용뿐 아니라 TGF- $\beta$  1 발현억제 및 면

역학적작용 등으로 인하여 사구체 경화증의 진행 억제제로서 유용하다고 생각한다.

### 참 고 문 헌

- Bhathena DB, Weiss JH, Holland HN, et al. Focal and segmental glomerular sclerosis in reflux nephropathy. *Am J Med* 1980; 68: 886-92.
- Cotran RS. Glomerulosclerosis in reflux nephropathy. *Kidney Int* 1982; 21: 528-34.
- Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 1990; 38: 384-94.
- Bolton WK, Sturgill BC. Spontaneous glomerular sclerosis in aging Sprague-Dawley rats: II. Ultrastructural studies. *Am J Pathol* 1979; 98: 339-56.
- Anderson S, Diamond JR, Karnovsky MT, Brenner BM. Mechanisms underlying transition from acute glomerular injury to late glomerular sclerosis in a rat model of nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1988; 82: 1757-68.
- Cameron JS. The enigma of focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1996; 50(Suppl 57): 119-31.
- 김용진, 김용선, 서재홍. 5/6 신적출된 동물모델과 신생검에서 초점성 분절성 사구체 경화증의 형태학적 비교. *대한병리학회지* 1997; 31: 100-11.
- 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.
- 김미경, 이현순. Puromycin aminonucleoside 장기투여에 의한 진행성 신사구체 경화증에 관한 실험적 연구. *대한병리학회지* 1993; 27: 1-10.
- 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: 227-85.
- Bertani T, Cuttillo F, Zoja C, Brogini M, Remuzzi G. Tubulointerstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. *Kidney Int* 1986; 30: 488-96.
- Shimamura T, Morrison AB. A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol* 1974; 79: 955-1001.
- Hyun BH, Wakasugi N, Nose M, Saito T, Tomita T. A new mouse strain manifesting high proteinuria and kidney glomerular defect. *Lab Anim Sci* 1991; 41: 442-6.
- Lee CH, Kim YJ, Nam YY, et al. Pathologic observation of FGS/NgaKist mice with glomerulosclerosis. *Korean J Lab Anim Sci* 1996; 12: 51-9.
- 오훈규, 김용진, 박미옥, 이철호, 현병화, 서인수. FGS/NgaKist 백서신의 형태 및 TGF- $\beta$ 의 표현. *대한병리학회지* 1998; 32: 35-42.
- Matsusaka T, Hymes J, Ichikawa L. Angiotensin in progressive renal disease: Theory and practice. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2025-43.
- Galla JH. IgA nephropathy. *Kidney Int* 1995; 47: 377-87.
- Uenasu J, Fujiwara M, Munemura L, Kawasaki. Long-term effects of enalapril in rat with experimental chronic tubulointerstitial nephropathy. *Am J Nephrol* 1993; 13: 35-42.
- Dworkin LD, Benstein JA, Parker M, Tolbert E, Feiner H. Calcium antagonists and converting enzyme inhibitors reduce renal injury by different mechanisms. *Kidney Int* 1993; 43: 808-14.
- D'Agati V. The many masks of focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1994; 46: 1223-45.
- Rekola S, Bergstrand L, Bucht H. Deterioration rate in hypertensive IgA nephropathy: Comparison of a converting enzyme inhibitor and blocking agent. *Nephron* 1991; 59: 57-69.
- Roberts AB, McCune BK, Sporn MS. TGF- $\beta$ : Regulation of extracellular matrix. *Kidney Int* 1992; 41: 557-9.
- Border WA, Brees D, Noble NA. Transforming growth factor-beta and extra cellular matrix deposition in the kidney. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 105-13.
- 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.
- Kaneto H, Morrissey J, Klahr S. Increased expression of TGF- $\beta$  1 mRNA in the obstructed kidney of rats with unilateral ureteral ligation. *Kidney Int* 1993; 44: 313-21.
- Yamamoto T, Noble NA, Miller DE, Border WA. Sustained expression of TGF- $\beta$  1 underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* 1994; 45: 916-27.