

Puromycin Aminonucleoside로 유발된 신증후군성 단백뇨 백서에서 알부민 투여에 의한 신손상

이화여자대학교 의과대학 병리학교실, 소아과학교실*

성 순 회 · 이 승 주*

〈요 약〉

목 적 : 소아 신증후군의 대부분은 스테로이드 치료만으로 완전 완해를 기대할 수 있으나 치료 초기나 스테로이드 저항성 신증후군에서의 심한 부종에는 25% 알부민과 furosemide의 병합 요법이 권장되고 있다. 그러나 알부민 투여로 인한 고혈압, 전해질이상 등의 합병증이 알려져 있고 최근에는 알부민 투여에 따른 사구체 과여과가 스테로이드에 대한 반응을 지연시키고 사구체 족세포의 변성, 신세뇨관 손상, 간질내 단핵구 침윤 및 사구체 경화 등을 촉진시킨다는 보고가 있었다. 저자들은 puromycin aminonucleoside(PAN)로 유발된 신증후군성 단백뇨 백서에 투여한 알부민이 신사구체, 세뇨관 및 간질 등에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

방 법 : Sprague-Dawley 백서 60마리에 PAN 15mg/100g를 복강내 주사하여 신증후군성 단백뇨를 유발하면서 실험 3일 후부터 25% 알부민을 3주간 투여하였다. PAN 단독투여군을 대조군(N=20)으로 하였고 PAN과 함께 25% 알부민을 저용량(1g/kg) 투여한 군(알부민 저용량군, N=20)과 고용량(4g/kg) 투여한 군(알부민 고용량군, N=20)을 실험군으로 하였다. 실험 시작 후 매주 24시간 요단백, 혈청 알부민, 혈청 크레아티닌을 측정하였고 실험 동물의 1/2은 3주 후 1/2은 8주 후에 희생시켜 신조직의 광학현미경(PAS 염색), 면역조직화학적 검색 및 투과전자현미경 검사를 시행하였다.

결 과 :

1) 24시간 요단백량은 실험 1주, 2주, 3주에 알부민 고용량군에서 PAN 단독 투여군과 알부민 저용량군에 비하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

2) 혈청 크레아티닌은 알부민 고용량군에서 실험 3주에 $0.9 \pm 0.54 \text{ mg/dL}$, 8주에 $1.2 \pm 0.85 \text{ mg/dL}$ 로 대조군(3주 $0.6 \pm 0.31 \text{ mg/dL}$, 8주 $0.6 \pm 0.24 \text{ mg/dL}$)과 알부민 저용량군(3주 $0.6 \pm 0.43 \text{ mg/dL}$, 8주 $0.6 \pm 0.21 \text{ mg/dL}$)에 비하여 유의하게 높았다($p < 0.05$).

3) 혈청 알부민은 각 군간의 유의한 차이가 없었다.

4) 사구체 경화율은 알부민 고용량군에서 실험 8주에 $9.4 \pm 5.8\%$ 로 대조군의 $3.5 \pm 1.7\%$ 에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

5) 신간질의 단핵구 침윤은 대조군, 알부민 저용량군, 알부민 고용량군 순으로 증가하였고 침윤된 단핵구의 대다수는 CD68에 양성인 탐식구였다.

6) 전자현미경 검색에서의 족세포의 공포성 변성, 족세포 세포질내의 전자고밀도 단백과립, 근위세뇨관 세포질내의 전자고밀도 단백과립 및 지방의 축적은 알부민 고용량군, 알부민 저용량군, 대조군 순으로 많이 관찰되었다.

결 론 : PAN으로 유발된 신증후군성 단백뇨 백서에서 25% 알부민 투여는 투여량에 따라 비가역적인 신손상에 의한 신기능 저하를 촉진하므로 신증후군성 부종에서 알부민 사용에 신중을 기하여야 할 것으로 생각된다.

서 론

소아 신증후군의 대부분은 스테로이드 치료 만으로 완전 완해를 기대할 수 있으나 치료 초기나 스테로이드 저항성 신증후군에서의 심한 부종은 여전히 중요한 치료과제로 남아있으며 25% 인알부민과 furosemide의 병합요법이 널리 사용되고 있다¹⁾. 동종 단백질 부하에 의한 사구체상피세포의 변화가 제시되었으나 일시적이었고 단백질부하에 의한 단백질도 비가역적인 신손상을 일으키지는 않는다고 하였다^{2,3)}. 그러나 최근에는 알부민 투여에 의한 단백질의 증가가 신증후군의 임상경과를 악화시키며⁴⁾ 과여과된 알부민이 사구체 상피세포 족돌기와 세뇨관에 재흡수 되어 염증세포의 침윤과 섬유화를 야기 시킴이 밝혀졌다^{5,8)}.

Puromycin aminonucleoside(6-dimethyl amino-purine-3-amino-d-ribose, PAN)는 실험 동물에서 사구체상피세포 족돌기의 국소적 탈락과 음이온을 소실시켜 단기 투여시 미세변화형, 장기투여시 국소성 분절성 사구체 경화증을 일으키는 약제로서 백서에서 실험적 신증후군 모델로 많이 이용되고 있다⁹⁻¹²⁾. 본 연구에서는 백서에 PAN을 투여하여 신증후군성 단백뇨를 유발하였고 25% 인알부민 제제를 저용량인 1g/kg과 고용량인 4g/kg를 투여하여 24시간 요단백량, 신기능 및 사구체, 세뇨관, 간질의 조직학적인 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험 동물로 생후 8-10주, 체중 140-180g의 Sprague-Dawley계 백서 60마리 중 대조군인 PAN 단독군에 20마리, 실험군인 알부민 저용량군과 알부민 고용량군에 각각 20마리씩 할당하였다(Table 1).

Table 1. Experimental Groups

Groups	N	Experiments
Control	20	Puromycin aminonucleoside only
Low-dose albumin	20	Puromycin aminonucleoside + 25% albumin 1g/kg
High-dose albumin	20	Puromycin aminonucleoside + 25% albumin 4g/kg

실험약제는 puromycin aminonucleoside(Sigma, U.S.A)를 생리 식염수로 희석하여 20mg/mL 농도로 만들어 사용하였고 25% 인알부민(human serum albumin, 중외제약)은 상품 그대로 사용하였다.

2. 방법

백서 체중 100g당 PAN 15mg의 용량을 실험 첫날과 3주째에 복강내 투여하였다. 25% 인알부민은 PAN의 첫 투여 후 3일째 되는 날 부터 매일 1회 복강내로 투여하였다. 알부민 저용량군은 1g/kg씩, 알부민 고용량군은 4g/kg씩 3주간 투여하였다. 실험 3주째에 실험 동물의 절반을 희생시키고 8주째에 나머지 절반을 희생시켜 병리조직학적 검색을 하였다.

3. 생화학적 검사

24시간 요단백은 acryl metabolic cage에 1마리씩 넣어 24시간 요를 수거하여 trichloroacetic법으로 요단백량을 측정하였으며 혈액화학지표는 Hitach 다중분석기를 이용하여 혈청 creatinine과 알부민치를 측정하였다.

4. 병리조직학적 검색

실험 3주와 8주에 실험 동물을 희생시켜 적출한 신장은 투과전자현미경적 검색을 위해 일부 따로 처리하였고 나머지는 10% 완충 포르말린에 24시간 고정하였다. 통상적인 조직제 조정을 거친 후 파라핀에 포매하고 rotary microtome을 이용하여 3 micron 두께로 박절하였다. Periodic Acid Schiff 염색을 시행하여 사구체 경화율, 신세뇨관 변화, 신간질의 단백질 침윤, 섬유화 등을 관찰하였다. 신간질에 침윤된 단백질 세포에 대한 면역조직화학적 검색은 CD68, Pan T, L26에 대한 일차항체를 이용하여 labeled streptavidin biotin 방법으로 시행하였다¹³⁾. 각 군에서 4마리씩 총 12마리는 신선한 조직을 3% glutaraldehyde 용액에 고정하여 Epon에 포매한 뒤 ultramicrotome을 이용하여 5nm 두께로 세절한 뒤 초박절편을 만들어 copper grid에 부착하고 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과 전자현미경적 검색을 시행하였고 사구체상피세포 족돌기의 변화와 근위세뇨관 세포질의 변화를 면밀히 관찰하였다.

5. 통계 처리

SAS program을 이용한 이요인분산 분석(two way ANOVA)를 시행하였으며 $p < 0.05$ 인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 24시간 요단백량의 변화

24시간 요단백량은 알부민 고용량군에서 1주 845 ± 364 mg, 2주 1127 ± 453 mg, 3주 986 ± 341 mg로서 대조군의 1주 120 ± 76 mg, 2주 340 ± 184 mg, 3주 170 ± 63 mg, 알부민 저용량군의 1주 194 ± 86 mg, 2주 436 ± 224 mg, 3주 246 ± 132 mg에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 1).

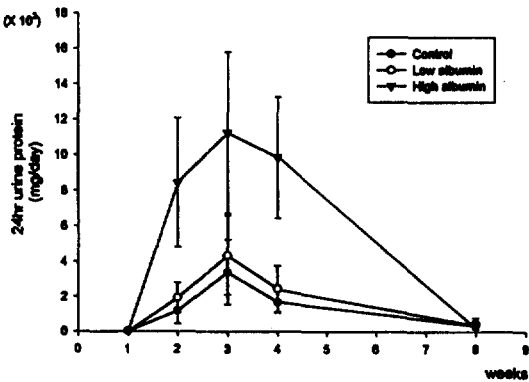


Fig. 1. The changes of 24 hour urine protein excretion.

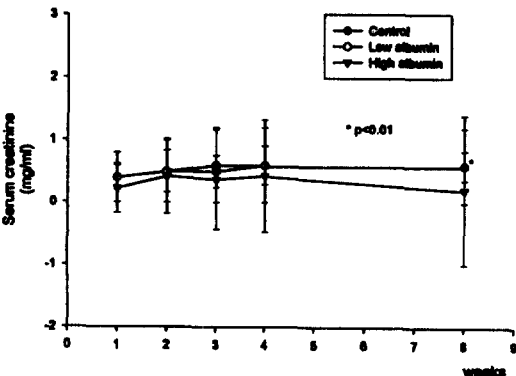


Fig. 2. The changes of serum creatinine.

2. 혈청 알부민, 혈청 크레아티닌의 변화

혈청 알부민은 실험기간 동안 각 군간에 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

혈청 크레아티닌은 실험 1, 2주에는 각 군간의 유의한 차이가 없었으나 3주에는 알부민 고용량군이 0.9 ± 0.54 mg/dL로 대조군의 0.6 ± 0.31 mg/dL과 알부민 저용량군의 0.6 ± 0.43 mg/dL 보다 유의하게 높았고($p < 0.05$) 실험 8주에도 알부민 고용량군에서 1.2 ± 0.85 mg/dL로 대조군의 0.6 ± 0.24 mg/dL, 알부민 저용량군의 0.6 ± 0.21 mg/dL 보다 유의하게 높았다($p < 0.01$, Fig. 3).

3. 신장의 병리조직학적 변화

실험 3주에 사구체 경화율은 대조군이 평균 $3.0 \pm 2.4\%$, 알부민 저용량군이 $4.3 \pm 2.5\%$, 알부민 고용량군이 $5.7 \pm 3.5\%$ 로 알부민의 투여량에 따라 증가하였지만 유의한 차이가 없었고 실험 8주에는 알부민 고용량군에서 $9.4 \pm 5.8\%$ 로 대조군의 $3.5 \pm 1.7\%$ 에 비하

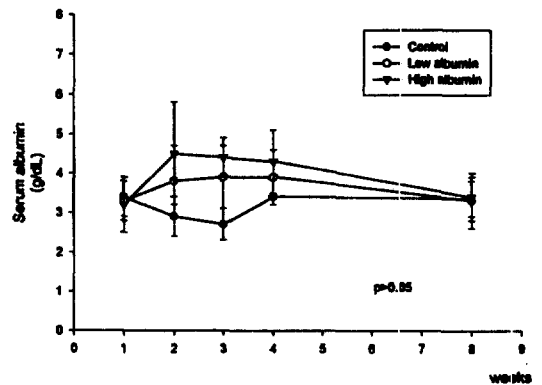


Fig. 3. The changes of serum albumin.

Table 2. Comparison of Percent Glomerular Sclerosis according to Albumin Infusion in PAN Induced Nephrotic-Range Proteinuric Rats

Experimental groups	3 week	8week
Control group	$3.0 \pm 2.4\%$	$3.5 \pm 1.7\%$
Low-dose albumin group	$4.3 \pm 2.5\%$	$6.6 \pm 4.3\%$
High-dose albumin group	$5.7 \pm 3.5\%$	$9.4 \pm 5.8\%^*$

mean \pm standard deviation, * $p < 0.001$ vs control

Fig. 4. The histologic findings of kidney in high-dose albumin group. Frequent eosinophilic hyaline globules in the cytoplasm of podocytes(PAS, $\times 200$, A), glomerular sclerosis with collapse of capillary loops(PAS, $\times 200$, B), vacuolar change of tubular cytoplasm which are surrounded by mononuclear cells(PAS, $\times 200$, C), and nodular aggregation of mononuclear cells in interstitium(PAS, $\times 100$, D) are seen.

여 유의하게 증가하였다($p < 0.001$, Table 2).

신세뇨관 간질의 단핵구 침윤은 대조군에서는 드물게 흩어져 관찰된 반면 알부민 저용량군과 알부민 고용량군에서는 점차 심해지면서 군집을 형성하는 곳이 많았다(Table 3). 침윤된 단핵구는 CD68에 양성을 보이는 탐식구가 대부분(70%)이었고 그 다음으로 panT(CD3)에 양성인 T세포, L26에 양성을 보이

는 B세포 순이었다. 그 외에 신세뇨관 위축 및 확장 과 확장된 세뇨관 강내의 PAS 양성 단백 원주 등도 알부민군 특히 알부민 고용량군에서 현저하였다.

4. 투과전자현미경적 검색

사구체상피세포의 족돌기 소실과 미세용모 전환은 세 군 모두에서 관찰되었다. 사구체 족세포의 공포

Table 3. Comparison of Tubulointerstitial Cell Infiltration according to Albumin Infusion in PAN Induced Nephrotic-Range Proteinuric Rats

Experimental groups	3wks	8wks
Control group	±	±
Low-dose albumin group	+	+
High-dose albumin group	++	++

Note : - : absent, ± : a few individually scattered mononuclear cells, + : frequent individually scattered mononuclear cells with rare foci of aggregation, ++ : frequent aggregation of mononuclear cells in interstitium

Table 4. Comparison of Ultrastructural Changes at 3 Weeks according to Albumin Infusion in PAN Induced Nephrotic-Range Proteinuric Rats

Groups	Control	Low albumin	High albumin
Effacement of foot process and microvillous formation	++	+++	++
Vacuolar degeneration of podocyte	±	+	++
Protein droplets in podocyte	±	+	++
Protein and lipid droplets in proximal tubule	±	+	++

Fig. 5. Ultrastructural findings of kidney in high-dose albumin group(A, ×5100, uranium acetate & lead citrate). Marked effacement of foot process with microvillous transformation, vacuolar degeneration, and many electron dense protein reabsorption droplets are noted in the visceral epithelium. Frequent lipid droplets are seen in the cytoplasm of proximal tubules of albumin overload group (B, ×25,500).

성 변성과 재흡수된 단백질로 여겨지는 전자고밀도 과립의 침착은 대조군, 알부민 저용량군, 알부민 고용량군순으로 증가하였다(Table 4). 이는 근위세뇨관 세포질에서도 비슷한 정도로 관찰되었다. 근위세뇨관 세포질에서 중간 전자고밀도를 보이는 등근 지방과립의 축적도 대조군, 알부민 저용량군, 알부민 고용량군 순으로 빈번히 관찰되었다.

고 찰

본 연구에서 알부민 고용량군에서 실험 1, 2, 3주에 요단백이 증가하였고 실험 3주에 혈청 크레아티닌이 상승하였으며 신간질의 단핵구 침윤, 사구체상피세포의 족돌기 소실, 미세용모 전환, 족세포의 공포성 변성과 전자고밀도 단백질, 근위세뇨관 세포질내 전자고밀도 단백질과 지방 재흡수 과립 등은 알부민 투여량에 따라 증가하였다. 실험 8주에는 혈청 크레아티닌이 상승하였고 신간질의 단핵구 침윤과 사구체 경화율이 증가하여 알부민에 의한 신손상이 일시적이 아니고 비가역적임을 시사하였다.

Weening 등³⁾은 단백질 과부하로 단백뇨를 유발시킨 동물 실험에서 사구체 족세포의 변성은 관찰되었으나 사구체 기저막 부위의 변화는 없었으며 족세포의 변성 역시 가역적 변화로 사구체 경화 등 비가역

적인 신손상을 일으키지는 않는다고 하였다. 최근 Yoshimura 등은 27명의 신증후군 환자에서 알부민 투여가 스테로이드치료에 의한 관해를 지연시키고 관해 후 재발율도 증가시킨다고 보고하여 알부민 투여가 오히려 임상경과를 해롭게 한다고 보고하였다⁴⁾. 이후 동물 실험에서 사구체를 여과한 알부민 자체가 세뇨관을 통해 재흡수 되어 신세뇨관, 간질에 비가역적인 신손상을 일으키는 직접적인 원인 물질임이 증명되었고 신간질의 단핵구 침윤이 신손상과 섬유화에 중요한 역할을 담당한다는 것이 확인되었다⁵⁻⁸⁾. Eddy 등⁷⁾은 알부민을 과용량 투여한 백서에서 탐식구의 침윤과 함께 osteopontin, MCP-1, VCAM-1, ICAM-1 및 TGF b-1의 발현이 증가하며 다양한 종류의 세포 외기질 성분이 축적됨을 보고하였다. 신간질의 탐식구의 침윤에는 NF-kB 활성화에 의해 매개된 세뇨관세포의 화학주성인자¹⁴⁾, 단핵구 화학친화성 단백질(MCP-1)¹⁵⁾, RANTES의 생성¹⁶⁾, osteopontin¹⁷⁾, IGF¹⁸⁾, 혈관활성 유전자의 발현증가¹⁹⁾, 세뇨관세포의 apoptosis의 촉진 등²⁰⁻²²⁾이 다양한 물질이 관여하는 것으로 밝혀졌다. Kees-Folts 등²³⁾은 여과된 알부민이 세뇨관에 재흡수 되어 대사 되는 과정에서 지방산과 같은 염증성 성분이 축적되고 화학주성에 의한 탐식구와 세포 침윤이 일어나 섬유화를 야기 시킨다고 보고하였다. Alfrey 등²⁴⁾은 세포배양 실험을 통해 단백뇨에 의한 신손상에서 소변내 holotransferrin의 역할도 보고하였다. 소변내 holotransferrin은 과산화 작용에 의해 세뇨관세포 손상을 일으키며 이때 nitric oxide가 중요한 역할을 하며 철분이 근위 세뇨관내 lysosome의 수와 lysosome내 N-acetyl-b-D-glucosaminidase의 활성도를 증가시켜 세뇨관세포의 손상을 유도한다고 하였다. 신간질의 염증세포의 침윤을 야기하는 대표적인 cytokine으로는 MCP-1이 알려졌고 알부민에 의해 세뇨관세포에서의 발현이 현저히 증가되었으며 MCP-1이 간질의 단핵구 침윤을 유도함이 증명되었다.

본 연구에서도 알부민의 투여 및 그에 따른 단백뇨의 증가에 비례하여 신간질의 단핵구의 침윤이 증가하였으며 이들이 대부분 CD68 표지자에 양성을 보이는 탐식구임을 증명하였다. 이때 탐식구의 침윤이 단백뇨의 정도와 직접적으로 비례하며 궁극적으로 단백뇨에 의해 침윤된 탐식구가 위에 기술한 여러 연구에서 증명된 바 여러 기전에 의해 진행성 신손상에 주

도적인 역할을 함이 증명된 것으로 미루어 결국 알부민의 투여에 의해 단백뇨가 가중되고 이것이 궁극적으로는 비가역성 진행성 신세뇨관 간질손상에 관여하는 것으로 간주할 수 있다.

또한 이 연구에서는 PAN의 투여에 의한 사구체의 경화율과 알부민의 부가에 의해 사구체의 경화율이 시간에 따라 어떻게 변화하였는지를 비교하였다. Ruiz-Torres 등에 의하면 아무런 처치를 하지 않은 정상 쥐에서도 24개월이 지나면 노화에 의해 사구체의 경화와 신간질의 섬유화를 관찰할 수 있으며 이는 TGF-b1의 증가와 관련이 있음을 증명하였다²⁵⁾. 본 연구에서 PAN 단독 투여군에서 사구체의 경화율이 실험 3주와 8주째에 각각 $3.0 \pm 2.4\%$ 와 $3.5 \pm 1.7\%$ 였는데 PAN 자체는 용량 및 투여 횟수에 비례하여 사구체 경화증을 유발하는 것이 잘 알려져 있으며 Diamond와 Karnovsky에 의하면²⁶⁾ PAN의 1회 정맥주사에 의해서도 국소성 분절성 사구체 경화증이 유발된 것은 이 결과와 부합되는 것으로서 이에 더하여 알부민을 대량 투여하였을 때 사구체의 경화율이 8주 후에 $9.4 \pm 5.8\%$ 로 의미 있게 증가한 것은 알부민의 투여가 신세뇨관 간질 손상 뿐 아니라 사구체의 비가역적 손상에도 기여함을 의미하는 것이다. 알부민의 투여에 의한 사구체의 변화는 족돌기의 소실, 족세포의 공포성 변성, 족세포의 국소적 탈락, 세포질내 단백질 재흡수 과립의 침착 등 전자현미경적인 변화가 기술되어 있으며^{2-4, 27-29)} 이것이 가역적인 변화인지 비가역적인지에 대해서는 결과가 일치하지 않다. 이에 더하여 Marks 등은 쥐에 인 혈청 알부민을 투여시 사구체의 경화, 매산지움의 증식, 단백질주의 형성을 동반한 신세뇨관의 위축, 확장을 관찰하고 기술하였으며 이는 알부민의 투여 중지 후에도 지속되는 비가역적인 사구체의 병적인 변화라고 하였다³⁰⁾.

결론적으로 신증후군에서의 알부민 투여는 투여량에 따라 신기능 저하와 신간질의 단핵구 침윤, 사구체 경화율 증가 등 비가역적인 진행성 신손상에 관여하리라 생각된다. 따라서 신증후군성 부종에서의 알부민 투여는 신증을 기하여야 할 것으로 생각된다.

=Abstract =

Renal Injury by Albumin Infusion in Puromycin Aminonucleoside Induced Nephrotic-Range Proteinuric Rats

Sun Hee Sung, M.D. and Seung Joo Lee, M.D.*

Departments of Pathology and Pediatrics*,
College of Medicine, Ewha Womans University,
Seoul, Korea

Purpose: To examine the renal injury by albumin infusion, which has been widely used to correct severe nephrotic edema, in puromycin aminonucleoside(PAN) induced nephrotic-range proteinuric rats.

Materials and Methods: Sixty Sprague-Dawley rats were divided into 3 experimental groups, control group(PAN only, n=20), low-dose albumin group (PAN+25% albumin 1g/kg, n=20) and high-dose albumin group(PAN+25% albumin 4g/kg, n=20). PAN was peritoneally injected on day #1 and #7 to all experimental rats & 25% albumin was peritoneally injected from day #3 for three weeks. Twenty-four hour urine protein, serum creatinine and serum albumin were measured weekly. Histopathologic and ultrastructural examination using transmission EM, and immunohistochemical stainings of CD68, pan T, and L26 were done at 3 and 8 week.

Results: Twenty-four hour urine proteins at 2 and 3 weeks were significantly increased in high-dose albumin group compared to control and low-dose albumin group. Serum creatinine at 3 week in high-dose albumin group was 0.9 ± 0.54 mg/dL which was significantly higher than 0.6 ± 0.31 mg/dL of control group and 0.6 ± 0.43 mg/dL of low-dose albumin group. Serum creatinine at 8 week in high-dose albumin group was 1.2 ± 0.85 mg/dL which was significantly higher than 0.6 ± 0.24 mg/dL of control group and 0.6 ± 0.21 mg/dL of low-dose albumin group. Serum albumin was not different among groups. Percent(%) glomerular sclerosis at 8 week in high-dose albumin group was $9.4 \pm 5.8\%$ which was significantly higher than $3.5 \pm 1.7\%$ of control group. Interstitial mononuclear cell infiltration was increased according to albumin dose and most of them was CD68(+) macrophages. Vacuolar degeneration of podocytes, accumulation of protein reabsorption droplets in the cytoplasm of podocytes and proximal tubule and lipid droplets in the cytoplasm of proximal tubules were increased according to albumin dose.

Conclusion: Albumin infusion in PAN induced proteinuric rats load accelerate the decline in renal

function by progressive glomerular and tubulo-interstitial injury. Albumin infusion in clinical nephrotic edema should be used very carefully.

Key Words: PAN induced proteinuria, Rats, Albumin, Renal injury

참 고 문 헌

- 1) Weiss RA, Schoeneman M, Greifer I: Treatment of Severe nephrotic edema with albumin and furosemide. *NY State J Med* 84:384-386, 1984
- 2) Schwartz MM, Bidani AK, Lewis EJ: Glomerular epithelial structure and function in chronic proteinuria induced by homologous protein load. *Lab Invest* 55:673-9, 1986
- 3) Weening JJ, Guldener CV, Daha MR, Klar N, Wal AVD, Prins FA: The pathophysiology of protein overload proteinuria. *Am J Pathol* 129:64-73, 1987
- 4) Yoshimura A, Ideura T, Iwasaki S, Taira T, Koshikawa S: Aggravation of minimal change nephrotic syndrome by administration of human albumin. *Clin Nephrol* 37:109-114, 1992
- 5) Fries JW, Sandstorm DJ, Meyer TW, Rennke HG: Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rats. *Lab Invest* 60:205-217, 1989
- 6) Remuzzi G, Bertani T: Is glomerulosclerosis a sequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 38:384-394, 1990
- 7) Eddy AA, Giachelli CM: Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int* 47:1546-1557, 1995
- 8) Liguang, Yiping, Yuet-Ching, et al.: Proteinuria and tubulointerstitial injury. *Kidney Int* 61:S60-S62, 1997
- 9) 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* 36:183-197, 1977
- 10) Glasser RJ, Verosa JA, Michael AF: Experimental model of focal sclerosis I relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 36:519-26, 1977
- 11) Karihara H, Anderson JM, Kerjaschki D, Farquhar MG: The altered glomerular filtration slits seen in puromycin aminonucleoside nephrosis and protamine sulfate-treated rats contain the tight junction protein 20-1. *Am J Pathol* 141:805-816,

- 1992
- 12) Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ: A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 29:478-483, 1986
- 13) Hooke DH, Gee DC, Atkins RC: Leukocyte analysis using monoclonal antibodies in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 31:964-972, 1987
- 14) Rangan GK, Wang Y, Tay YC, Harris DCH: Inhibition of nuclear factor- κ B activation reduces cortical tubulointerstitial injury in proteinuric rats. *Kidney Int* 56:118-134, 1999
- 15) Wang Y, Chen J, Chen L, Tay YC, Rangan GK, Harris DCH: Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol* 8:1537-1545, 1997
- 16) Zoja C, Donadelli R, Colleoni S, Figliuzzi M, Bonazzola S, Morigi M, Remuzzi G: Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubule cells depending on NF- κ B activation. *Kidney Int* 53:1608-1615, 1998
- 17) Narita I, Nakayama H, Goto S, et al.: Identification of genes specifically expressed in chronic and progressive glomerulosclerosis. *Nephron* 63:S215-7, 1997
- 18) Hirschberg R: Bioactivity of glomerular ultrafiltrate during heavy proteinuria may contribute to renal tubulointerstitial lesions: Evidences for a role for insulin growth factor 1. *J Clin Invest* 98:116-124, 1996
- 19) Remuzzi G, Ruggenti P, Benigni A: Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 51:2-15, 1997
- 20) Lieberthal W, Levine JS: Mechanism of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol* 271:F477-488, 1996
- 21) Thomas ME, Brunkill NJ, Harris KPG, et al.: Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy. *Kidney Int* 55:890-898, 1999
- 22) Abbate M, Zoja C, Corna D, Capitanio M, Bertani T, Remuzzi G: In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 9:1213-1224, 1998
- 23) Kees-Folts D, Sadow JL, Schreiner GF: Tubular catabolism of albumin is associated with the release of an inflammatory lipid. *Kidney Int* 45:1697-1709, 1994
- 24) Alfrey AC, Froment DH, Hammond WS: Role of iron in the tubulo-interstitial injury in nephrotoxic serum nephritis. *Kidney Int* 36:753-9, 1989
- 25) Ruiz-Torres MP, Bosch RJ, O'valle F, Del Moral RG, Ramirez C, Masseroli M, Perez-Caballero C, Iglesias MC, Puyol MR, Puyol DR: Age related increase in expression of TGF- β 1 in the rat kidney: Relationship to morphologic changes. *J Am Soc Nephrol* 9:782-91, 1998
- 26) Diamond JR, Karnovsky MJ: Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol* 122:481-7, 1986
- 27) Brewer DB, Filip O: The morphometry of the glomerular epithelial cell and its foot processes after the injection of the bovine serum albumin or egg albumin. *J Pathol* 120:209-20, 1976
- 28) Davies DJ, Brewer DB, Hardwicke JH: Urinary proteins and glomerular morphometry in protein overload proteinuria. *Lab Invest* 38:232-43, 1978
- 29) Haws RM, Baum M: Efficacy of albumin and diuretic therapy in children with nephrotic syndrome. *Pediatrics* 91:1142-46, 1993
- 30) Marks MI, Drummond KN: Nephropathy and persistent proteinuria after albumin administration in the rat. *Lab Invest* 23:416-20, 1970