실험적 사구체 신 질환

서울대학교 의과대학 소아과학교실

하 일 수

서 론

신 질환의 병태생리학과 그 치료에 관한 많은 지식은 실험적 신 질환으로부터 얻어진 것이 많다. 실험동물로 과거에는 수술이나 정맥주사, micropuncture 등의 조작을 하기가 비교적 쉬운 토끼나 쥐 (rat)가 흔히 사용되었으나 최근에는 유전학적 혹은 면역학적으로 잘 정의된 순계 (inbred strain)나 lupus, 다낭성 신, 고혈압, 당뇨병 등 질환이 저절로 생기는 strain이 많은 생쥐 (mouse)도 많이 이용되고 있다. 특히 배아기 간세포 (embryonic stem cell)에서 특정 유전자를 파괴하거나 이식하여 유전자를 조작한 생쥐의 생산이 가능해지면서 이런 생쥐들을 이용하여 어떤 유전자가 질병의 진행과 회복의 과정에서 어떤 역할을 하는지에 대한 연구가 최근 활발히 이루어지고 있다. 그러나 아직 생쥐는 몇 가지 신염 모델이 잘 유발되지 않으며 순수한 사구체의 분리가 어렵고 획득할 수 있는 검체의 양이 적은 등의 단점을 가지고 있다.

생 물 학

쥐와 생쥐의 생물학적 특징과 정상치는 Table 1, 2와 같다. 재태기간과 수유기간은 모두 3주 정도이고, 사춘기까지의 기간과 수명은 쥐가 생쥐보다 길다. 생쥐는 정상 혈압이 비교적 높으며 헨레 고리가 길어 요를 4,300 mOsm/kg까지 농축하므로 매우 농축된 소변을 본다. 정상 쥐도 소변으로 사람보다는 더 많은 단백질을 배설하나 그 정도는 생쥐가 더 심하며, strain에 따라 차이가 있다. 저자의 실험실에서 Sprague-Dawley 쥐, Balb/c 생쥐, C57bl 생쥐의 요 단백/크레아티닌 비의 정상 범위는 각각 <0.8 mg/mg, <2.0 mg/mg, <6.0 mg/mg 정도이었다.

사람에서 nephrogenesis는 태생 36주경 완성되며, 그 이후에는 세뇨관의 연장과 기능적 성숙이 생후 약 1년까지 지속되나 쥐나 생쥐의 신장 발달은 이보다 느리다. 즉 nephrogenesis는 생후 1-2주가 되어야 완성되며, 4주령 쥐의 신 성숙도는 사람의 신생아와 비슷하다.

혈청병 (serum sickness)

실험적 면역복합체성 사구체 신염의 전형은 이종 항원 (foreign antigen)의 투여로 인한 혈청병이다. 급성 혈청병 (acute serum sickness)은 이종 항원의 1회 대량 투여와 숙주의 항체 반응으로 유발되며 항체반응의 정도와 속도에 따라 다양한 신염이 나타난다. 만성 혈청병 (chronic serum sickness)은 이종 항원의 반복적인 투여와 이로 유발된 숙주 동물의 반복적인 항체 반응으로 항원 항체 비율이 증가와 감소를 반복하게 되면서 사구체에 면역 복합체의 침착을 초래한다.

수동형 혈청병 (passive serum sickness)은 이종 항원과 그에 대한 항체를 동시에 또는 순차적으로 투여함으로써 유발되는 신염이다. 형성되는 면역 복합체

Table 1. Biologic Characteristics of Rat and Mouse

	Rat	Mouse
Chromosomal number (2n)	42	40
Gestation	21-23 days	19-21 days
Litter size	8-14	4-12
Birth weight	5-6 g	1-1.5 g
Adult weight		
Male	300-400 g	20-40 g
Female	250-300 g	18-35 g
Weaning	21 days	21 days
Puberty	40-60 days	28-49 days
Life span	2.5-3 years	1-3 years

Table 2. Normal Values in Rats and Mice

	Rat	Mouse
Mean blood pressure	116/60 mmHg	133-160/102-110 mmHg
Blood volume	6-7 mL/100 g weight	5-6 mL/100g weight
Serum total protein	5-7 g/dL	4.0-6.2 g/dL
Serum albumin	3-4 g/dL	2.9-4.2 g/dL
BUN		19-29 mg/dL13-23 mg/dL
Serum creatinine	0.3-0.7 mg/dL	0.2-0.7 mg/dL
Urine volume	5.5 mL/100 g/day	0.5-1.0 mL/day
Urine protein	<20 mg/day	6.8-25.8 mg/day
Urine creatinine	7 mg/mL	0.57-0.67 mg/day

의 크기, 항원과 항체의 결합력, 항원이 띠는 전하가 신염 유발의 중요한 인자가 된다.

혈청병은 사람의 감염 후 사구체신염과 유사한 면이 있다.

Planted antigen으로 유발되는 신염

사구체 모세혈관에 이종 항원이 결합하고 여기에 능동적으로 생산되거나 수동적으로 투여된 항체가 결합되면 in situ immune complex를 형성하고 신염을 유발한다. 항원으로는 음전하를 띤 사구체 기저막과 세포막에 잘 결합하도록 양전하를 띠게 만든 ferritin, IgG, 알부민이 흔히 이용된다. 신염의 정도는 투여된 항원과 항체의 양, 양전하의 정도, 항원과 항체 투여의 시간 간격에 의해 결정된다.

양전하를 띤 우혈청 알부민 (cationized BSA) 유발성 신염은 우혈청 알부민을 ethylenediamine 존재하에서 carbodiimide로 carboxyl기를 활성화 함으로써 양전하를 띠게 한 후 반복 주사하여 유발되는 신염으로 subepithelial granular immune complex deposit을 보이며 보체의 활성화에 의존하고 혈청병에서보다 더 균일한 사구체 손상을 초래하는 장점을 가진다.

아포페리틴 유발성 신염은 adjuvant의 동시 투여가 필요 없이 메산지움 증식성 사구체 신염을 초래한다. 백혈구의 침윤, thrombosis, 단백뇨가 생기며 사구체 경화로 진행할 수 있다. Th-2 면역반응에 의존하므로 Balb/C 생쥐에서는 발생하나 C57bl/6에선 잘 발생하지 않는다. C3과 C5의 활성화가 중요하다. 사람의 감염 후 사구체신염과 유사한 면이 있다.

Heymann 신염

능동형 Heymann 신염은 근위세뇨관 상피세포의 brush border fraction (Fx1A)으로 쥐를 반복 면역할 때 만들어진다. 4-8주경에 사람의 막성신병증과 비슷한 질환이 발생한다. 전자현미경상 subepithelial area에 면역 복합체가 침착되며 면역형광검사로 granular pattern의 rat IgG와 보체 침착을 확인할 수 있다. 쥐 중 Lewis, Fischer, AS, BDV, AS2 strain에 잘 생기나 다른 종류에서는 잘 생기지 않는다.

수동형 Heymann 신염 (passive Heymann nephritis, PHN)은 Fx1A에 대한 이종 항체를 투여함으로써 유발되는데 항체는 흔히 양과 토끼에서 만들어진 것을 사용한다. 능동형에서 4-6주 후 나타나는 소견이 3-5일 후에 나타나며, 이종 항체 (heterologous antibody)에 의한 질병기에 이어 자가 반응(autologous reaction)이 일어난다. 두 시기 모두 보체가 활성화되며 자가 항체에 의한 병기는 7일 후부터 시작된다. 이종항체가 생산된 종의 IgG로 미리 면역된 동물에서는 더 심한 신염이 생긴다. 능동형과 달리 PHN는 모든 종류의 쥐에서 만들어진다.

능동형과 수동형 Heymann 신염은 생쥐에서는 잘 유발되지 않는다. Heymann 신염은 사람의 막성 신병증과 흡사하다.

항 사구체 기저막 신염 (anti-glomerular basement membrane nephritis, anti-GBM nephritis)

항 사구체 기저막 신염은 사구체 모세혈관의 기저

막 (GBM)을 따라 linear pattern으로 결합하는 항체에 의한 신염으로 신독성 신염 (nephrotoxic nephritis)이라고도 한다. 양과 guinea pig에서는 항원 주사만으로 유발되는 능동형 신염이 보고되어 있으나 쥐에서는 항체 투여로 유발되는 수동형 신염이 주로 이용된다.

항 사구체 기저막 항체는 질병을 유발하려는 종류의 동물 신장 homogenate나 분리된 사구체 혹은 추출된 사구체 기저막으로 양이나 토끼를 면역함으로써 얻어진다.

전형적인 항GBM신염에서는 heterologous phase의 단백뇨가 24시간 내에 발생하여 2-3일 후 회복된다. 일주일 후 다시 심해지는 단백뇨는 자가항체에 의한 신 손상 때문이다. Heterologous phase의 손상은 항체와 보체 등 humoral mediator에 의해 일어나며, autologous phase의 손상은 보체와 관계없이 macrophage와 neutrophil에 의해 매개된다. PHN에서처럼 이종항체가 생산된 종의 IgG로 미리 면역된 동물에서는 더 심한 신염이 생긴다.

항 사구체 기저막 신염은 쥐, 토끼, 생쥐, guinea pig 등에서 만들어진다. 그러나 단백뇨를 유발하기 위해서는 토끼나 guinea pig에서보다 쥐에서 더 많은 항체가 필요하다 (IgG로 4-8 ug/g 체중 정도). 쥐에서와 달리 토끼와 생쥐에서는 흔히 반월상이 나타난다. 사람의 Goodpasture 병, crescentic glomerulonephritis와 유사한 점이 있다.

Aminonucleoside 신증

Puromycin aminonucleoside (PAN)를 주사하면 초기에 사구체 기저막의 상피세포 측 음전하가 소실되며 이와 함께 단백뇨와 상피세포 족돌기의 융합이 일어난다. 수일 후 이 소견들은 회복되나 오래 관찰하면 수개월 후 사구체 경화와 진행성 신 질환이 나타난다. 다량의 PAN나 PAN를 반복 주사하면 사구체 경화증을 더 빨리 유발한다. 그러나 쥐의 strain에 따라 나타나는 임상적 및 병리학적 소견은 매우 다양하다. 사구체 경화의 발생 기전으로 사구체 내 고혈압, 상피세포의 메산지움 증식 억제 물질 분비 감소, 지질대사의 이상, 대식세포의 침윤, TGF-β1 등이 제시되고 있다. 신 사구체에서 adenosine deaminase의 활성도가 높은 쥐에서 주로 보고되어 있고 생쥐에서는 잘 유발되지 않는다. 사람의 미세변화 신증후군, 초점성 분절성 사구체 경화증과 유사한 점이 있다.

Adriamycin 유발성 신병증

Adriamycin 주사는 쥐에서는 약 4주경부터, 생쥐에서는 주사 직후부터 지속적인 사구체성 단백뇨, 저알부민혈증, 고지혈증을 초래한다. 초기에는 사구체 상피세포의 공포와 족돌기의 융합만 보이지만 약 2개월 후부터는 국소성 분절성 사구체 경화와 간질의 섬유화를 초래하며 사구체 여과율의 저하와 진행성 신 질환을 유발한다. 신병증의 기전은 아직 불명확하나 사구체 상피세포의 손상과 TGF-β1의 발현, 단백뇨와 지질 대사의 장해, CD8+ T cell의 역할 등이 중요한 역할을 한다는 보고들이 있다. 사람의 초점성 분절성 사구체 경화증과 유사한 점이 있다.

Anti-Thy 1.1 신염

Thy 1.1은 흉선 세포의 표면 항원으로 쥐의 메산지움 세포 표면에도 발현된다. 소량의 anti-Thy 1.1 항체를 주사하면 일차적으로 메산지움 세포가 심하게 손상 받아 mesangiolysis가 일어나고 다시 메산지움 증식성과 세포 외 기질의 증가, 단백뇨가 동반되는 사구체 신염이 발생한다. 보체의 매개를 받는다. 1회 주사로 발생하는 신염은 약 1개월 후 회복되지만 반복 주사시 사구체경화와 진행성 신 질환이 된다. 생쥐는 메산지움 세포가 Thy 1.1 항원을 가지고 있지 않으므로 이 질환이 생기지 않는다. 사람의 메산지움 증식성 사구체신염과 유사한 점이 있다.

Habu 사독 (snake venom) 유발성 신염

*Trimeresurus flavoviridis*라는 독사의 독을 정맥주사하여 쥐와 생쥐에서 메산지움 증식성 사구체 신염을 유발할 수 있다. 주사 직후 혈소판의 응집과 기질의 용해, 그리고 사구체 내피세포의 손상을 초래하며 anti-Thy 1.1 신염과 비슷하게 2-3일째에 mesangiolysis가 오고 이어서 glomerular cyst 형성과 메산지움 세포의 증식이 지속된다. 쥐와 생쥐에서 유발할 수 있으나 저자의 경험으로 생쥐에서는 일측성 신 절제술과 병합하여야 뚜렷한 신 질환을 유발할 수 있다.

사람의 메산지움 증식성 사구체신염과 유사한 점이 있다.

Streptozotocin 유발성 당뇨병성 신병증

Beta islet cell toxin인 streptozotocin의 투여는 당뇨병과 당뇨병성 신병증을 초래한다. 당뇨병 발생 2주 후부터 세뇨관의 퇴행성 변화가 나타나며 이후 사구체 기저막에 IgG, 알부민의 침착이 생기고 수 주 후부터는 사구체의 경화가 나타난다. 그러나 신 병리 소견이 사람의 심한 당뇨성 신병증만큼 심한 경우는 드물다. 일측성 신 절제술을 병합하는 경우 더 일찍 신병증을 유발할 수 있다.

Remnant kidney model

심한 신원의 소실은 남아있는 신원의 부적당한 적응을 유발하여 진행성 단백뇨, 전신적 고혈압, 사구체 여과율의 감소를 초래한다. 병리학적으로 사구체의 비대, 상피세포의 공포화, 메산지움 기질의 증가, hilum 부위의 내피세포에 PAS 양성물질의 축적을 초래하고 국소성 분절성 사구체 경화증과 말기 신부전의 소견을 보인다. 신원의 감소가 남아 있는 신원의 사구체 내압과 SNGFR의 증가를 초래하는 것이 원인이라고 설명되어 왔으나 비혈류학적 인자들이 작용하는 증거들도 보고되어 있다. 사람에서의 다양한 진행된 신 질환, 혹은 만성 신부전과 유사하다.

자연히 신 질환이 발생하는 생쥐 strain

다클론 B cell의 활성화가 일어나는 (NZBxNZW) F1, MRL-lpr/lpr 생쥐에서는 lupus 신염이 자연적으로 발생한다. 성장 호르몬을 과다 발현하는 transgenic mouse는 메산지움 기질 증가, 국소성 분절성 사구체 경화, 심한 단백뇨, 간질 섬유화와 함께 신 질환이 진행한다. Thy-1, SV40Tag, Mpv17/MPV17 transgenic mouse와 (C57Bl/10xDBA/2)F1 hybrid, oligosyndactyly mouse (Os)도 자연히 사구체 경화를 초래한다.

고인슐린혈증성 당뇨병 생쥐인 C57BL/6 db/db, New Zealand 비만 생쥐 (NZO)는 신 비대, hyperfiltration, 지속적인 단백뇨와 메산지움 기질 증가 및 사구체 기저막의 비후를 초래한다.

결 어

다양한 실험적 사구체 신 질환들이 있고 유전자가 조작된 생쥐들을 포함한다면 그 종류는 최근 더욱 늘어나고 있다. 그러므로 연구자는 자신의 연구 목적, 가용한 실험과 분석 기법에 따라 그 중 적절한 모델을 선택하여야 한다. 처음 신 질환 모델을 만드는 경우에 참고할 수 있는 문헌은 많겠지만 본 실험에 들어가기 전에 일차적으로 대조군과 질병군 간에 사구체 신 질환의 발생을 여부를 확인하기 위한 용량-반응 실험이 각 개별 실험실에서 정립되어야 한다. 다음 단계로 선택된 신 질환 모델을 이용하여 연구 목적 달성에 필요한 표적 물질의 측정 및 분석 가능성 여부를 개별 연구자의 실험실에서 확인할 필요가 있다.

참 고 문 헌

1) Salant DJ, Cybulsky AV : Experimental glomerulonephritis. Methods Enzymol 162:421-461, 1988
2) Furness PN, Harris K : An evaluation of experimental models of glomerulonephritis. Int J Exp Pathol 75:9-22, 1994
3) Anders H-J, Schlöndorf D : Murine models of renal diseases : possibilities and problems in studies using mutant mice. Exp Nephrol 8:181-193, 2000