

특발성 막성사구체신병증의 신사구체에서 α -Smooth Muscle Actin, Vimentin 발현과 예후와의 상관관계

이민진 · 김옥경

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

Expression of Glomerular α -Smooth Muscle Actin and Vimentin in Idiopathic Membranous Nephropathy as Prognostic Indicators

Min Jin Lee and Ok Kyung Kim

Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Background : The natural history of idiopathic membranous nephropathy (IMN) is heterogeneous with some patients showing spontaneous remission while others show a progressive course leading to end-stage renal failure. We tried to assess quantitatively α -smooth muscle actin (α -SMA) and vimentin expression as markers to predict the outcome of membranous nephropathy. **Methods :** This study included 24 patients with biopsy proven IMN. We measured the volume of the positive area for α -SMA and vimentin within the glomeruli and compared the results with 5 patients in the normal control group. We evaluated glomerular α -SMA and vimentin expression in correlation with BUN and serum creatinine level at the time of diagnosis and after treatment. **Results :** Glomerular α -SMA and vimentin in IMN were higher than in the control group. Glomerular α -SMA was significantly higher in progressive IMN than in non-progressive IMN. The glomerular α -SMA was significantly correlated with BUN and serum creatinine at last follow-up ($p < 0.05$), but there was no statistically significant correlation at diagnosis. The glomerular vimentin was not different between progressive and non-progressive groups. **Conclusion :** These data suggest that the expression of glomerular α -SMA may be a useful prognostic indicator and may be able to differentiate between patients with membranous nephropathy who respond well to treatment and those who continue to progress.

Key Words : Idiopathic membranous nephropathy, Prognosis, Morphometry, α -Smooth muscle actin, Vimentin

접 수 : 2000년 11월 22일
게재승인 : 2001년 1월 15일

책임저자 : 김 옥 경
우 158-056 서울시 양천구 목동 911-1
이대목동병원 해부병리과
전화: 02-650-5194, 5733
Fax: 02-655-0984
E-mail: okkim@mm.ewha.ac.kr

특발성 막성사구체신병증의 자연 경과를 환자에 따라서 다양하게 나타내며, 자연적으로 관해되거나, 혹은 말기 신부전을 초래하기도 한다.¹ 임상적으로, 주조직적합체 haplotype,² 남성, 심한 단백뇨 및 신기능 저하가 있는 환자의 경우³는 예후가 나쁘다고 알려져 있다. 임상 경과를 예측할 수 있는 조직학적 소견으로는 간질 조직의 섬유화⁴ 및 림프구의 침윤⁵이 알려져 있고, 간질 조직의 섬유화에는 근섬유모세포가 중요한 역할을 한다⁶는 것이 밝혀졌다. 근섬유모세포는 혈관의 평활근세포, 혈관주위세포, 그리고 혈관주위 섬유모세포 및 신간질 섬유모세포에서 유래⁷된다. 간질의 근섬유모세포가 예후에 미치는 영향에 대한 여러 연구에서, 근섬유모세포는 사구체 경화와 신간질 조직의 섬유화에 중요한 역할을 하며, 신간질의 α -smooth muscle actin (α -SMA)의 발현을 막성사구체신병증 진행의 초기 예후 지표

가 된다고 하였다.⁸ 그러나 신간질 조직의 섬유화는 이미 심하게 진행된 경우나 비가역적인 상태로 진행된 상태에서 나타나는 소견이므로, 질병의 초기 단계에 예후를 예측할 수 있는 지표가 될 수는 없다. 또한 신간질의 α -SMA의 발현이 섬유화보다 앞서 일어난다고는 하나 이것이 섬유화의 어느 단계에서 발현되는지 알 수 없으므로, 신간질의 α -SMA의 발현만으로는 특발성 막성사구체신병증의 초기에 이 질환의 진행성 여부를 예측하기에 부족하다고 생각하였다. 이에 저자는 신간질의 α -SMA의 발현과 아울러 특발성 막성사구체신병증의 초기에 이 질환의 진행성 여부를 판가름할 수 있는 지표를 찾고자, 사구체 내에서 세포골격 단백질인 α -SMA과 vimentin의 발현을 연구하기로 하였다. 사구체 α -SMA과 vimentin의 발현을 연구하게 된 배경은, 첫째, α -SMA은 신간질의 근섬유모세포뿐만 아니라 여러 사구체 질환

에서 혈관사이세포(mesangial cell)에서도 발현이 증가된다는 사실과⁹ 둘째, 근섬유세포는 본질적으로 이형질성이어서 다양한 세포골격 단백을 발현한다는 사실이다.¹⁰ 즉 이들은 활성화되면 α -SMA와 vimentin을 동시에 혹은 제각기 발현할 수 있다.

Actin은 유핵세포 내에 존재하는 가장 풍부한 세포 단백질 중의 하나로,¹¹ actomyosin, tropomyosin 등 myosin계와, α -actin, vinculin, caldesmon 등의 여섯 가지 isoform이 존재한다. 그 중 α -actin인 α -SMA은 평활근 분화의 좋은 지표이며, 평활근세포에 특이한 반응을 보인다.¹² 혈관사이세포는 수축기능을 포함하여 평활근세포와 유사한 점이 있어 α -SMA을 발현할 것으로 예상되지만,¹³ 정상 쥐의 사구체에서 전혀 발현이 되지 않고,¹⁴ 사람의 경우 아주 약한 반응을 보인다.¹⁵ α -SMA은 배양 상태의 혈관사이세포에서는 그 존재가 확인되었으나, 생체에서는 그 존재의 유무 및 역할에 대하여 아직 논란이 있다.¹⁶

Vimentin은 주로 간엽기원 세포에서 발현되는 중간세포이다. 신장에서는 사람의 정상적인 사구체 술(glomerular tuft)에 vimentin이 존재하는 것으로 Holthofer 등¹⁷이 기술하였고, 이후에 사구체의 족세포를 비롯하여 혈관내피세포, 혈관사이세포 및 신장질 조직 세포에서 발현되는 것으로 보고되었다.¹⁸ Waldherr 등¹⁹은 정상적으로는 vimentin이 세뇨관에서 발현되지 않다가 세뇨관 상피 세포에서 기원한 종양이나 손상 후에 재생하는 세뇨관 상피 세포에서는 발현됨을 보고,²⁰ vimentin이 세포의 증식 및 분화의 표지임을 밝혔다.²¹

본 연구에서는 특발성 막성사구체신병증 환자의 진단 당시의 생검 조직으로 α -SMA과 vimentin의 항체를 이용한 면역염색을 시행하고, 그 발현의 양적 변화에 대해 fraction volume을 계산하여 장기적 임상 추적 결과와 비교 분석함으로써 사구체 α -SMA과 vimentin의 발현이 질병의 초기 예후 인자로서 의미가 있는지를 밝히고자 하였다.

재료와 방법

대상 및 재료

1984년부터 1998년까지 이대 동대문병원 신장내과에 입원하여 막성사구체신병증으로 진단받은 예들 중 이차적으로 발생한 막성사구체신병증을 제외하고 특발성인 24예를 선택하여 대상으로 하였다. 이들은 생검 조직에 사구체를 충분히 포함하며, 광학 현미경 소견과 면역 형광 염색 및 전자 현미경 검사로 특발성 막성사구체신병증을 확진받은 예들이다. 정상 대조군으로는 신장제술을 받은 5명의 신장암 환자의 신장에서 조직학적 변화가 없는 정상 부위를 선택하였다. 이들의 광학 현미경적 소견을 재검토하고 파라핀 포매 조직으로 α -SMA 및 vimentin 면역염색을 시행하였다.

방법

임상 경과

24명의 환자를 추적 관찰하였는데, 관찰 기간은 1년에서 13년까지였다. 각 환자의 진단 당시의 단백질, BUN, 혈청 creatinine과 마지막 추적 관찰시의 BUN, 혈청 creatinine 수치를 관찰하여, 이를 환자의 임상 경과, 추적 관찰 기간과 함께 Table 1에 정리하였다. 19명의 환자들은 치료 후 단백뇨가 완해되었고(비진행군, NP: non-progressive), 5명의 환자들은 지속적으로 신증후군 범주의 단백뇨를 보이거나 말기 신부전증으로 진행(진행군, P: progressive)하였다.

면역조직화학 염색

선택한 조직의 파라핀 포매 조직을 5 μ m 두께로 절편하고 α -SMA에 대한 단클론 항체(DAKO, CA, U.S.A.)와 vimentin에 대한 단클론 항체(DAKO, CA, U.S.A.)를 1차 항체로 하여 LSAB (labelled streptavidin biotin) 방법으로 면역조직화학 염색을 시행하였다. 발색제로는 AEC chromogen (Zymed, San Francisco, CA, U.S.A.)을 이용하였으며, 대조 염색은

Table 1. Clinical findings of 24 patients of idiopathic membranous nephropathy at the time of biopsy and last follow-up

| Patient | Initial study Protein-uria (g/dL) | Initial study BUN (mg/dL) | Initial study sCr (mg/dL) | Last follow-up BUN (mg/dL) | Last follow-up sCr (mg/dL) | Out-come | DOF (mo) |
|---------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------|----------|
| 1 | - | 10.7 | 1 | 10 | 1.2 | NP | 52 |
| 2 | - | 20 | 1.1 | 10 | 1 | NP | 25 |
| 3 | - | 23 | 1.1 | 15 | 0.4 | NP | 7 |
| 4 | - | 15 | 1 | 8 | 0.7 | NP | 6 |
| 5 | - | 13 | 1 | 10.7 | 0.5 | NP | 3 |
| 6 | - | 8 | 0.6 | 13 | 0.8 | NP | 3 |
| 7 | 1.102 | 9 | 0.9 | 8 | 0.7 | NP | 2 |
| 8 | 2.294 | 7 | 0.7 | 11 | 0.6 | NP | 3 |
| 9 | 6.633 | 12 | 1.3 | 11 | 1.2 | NP | 1 |
| 10 | 7.086 | 16 | 2 | 13 | 0.9 | NP | 3 |
| 11 | 2.81 | 24 | 2.1 | 12 | 1.2 | NP | 62 |
| 12 | 5.64 | 10 | 0.8 | 15 | 0.8 | NP | 3 |
| 13 | 1.575 | 12 | 1 | 10 | 1.1 | NP | 2 |
| 14 | 5.601 | 19 | 0.8 | 13 | 0.9 | NP | 54 |
| 15 | 5.896 | 11 | 1.1 | 15 | 0.8 | NP | 2 |
| 16 | 13.26 | 11 | 0.9 | 11 | 0.8 | NP | 3 |
| 17 | 2.464 | 10.8 | 1 | 12.5 | 1.1 | NP | 36 |
| 18 | 7.429 | 8.7 | 0.9 | 8.7 | 0.7 | NP | 1 |
| 19 | 8.213 | 6.6 | 0.8 | 14.7 | 0.7 | NP | 2 |
| 20 | 3.993 | 9 | 1.1 | 15.8 | 1.2 | ESRD | 39 |
| 21 | - | 29.5 | 1.2 | 56.7 | 2.7 | ESRD | 25 |
| 22 | - | 14 | 1.1 | 17 | 1.4 | CRF | 108 |
| 23 | 3.7 | 18 | 0.9 | 25.4 | 1.1 | CRF | 125 |
| 24 | 8.127 | 14 | 1.5 | 25 | 1.7 | CRF | 27 |

Proteinuria: 24 h proteinuria at the time of diagnosis, sCr: serum creatinine NP: non-progressive IMN, ESRD: end stage of renal disease, CRF: chronic renal failure, DOF: duration of follow-up, -: no data.

Meyer's Hematoxylin으로 하였다.

형태계측학적 분석

각각의 사구체 내에서 α -SMA 및 vimentin에 양성을 보인 세포들을 사구체 전체의 단면적에 대한 비율로 fraction volume을 계산하고, 이들의 평균치를 구하였다. Olympus의 OC-M eyepiece micrometer (OCM 10/10SQ)를 사용하여 면적 염색에 양성을 보인 세포 및 세포간 조직들을 점 측정하여 fraction volume %를 다음과 같은 식으로²² 계산하였다. 즉, 400배에서 1 cm²를 10으로 나눈 1 mm²의 눈금자를 이용하여 사구체 전체 단면의 눈금자 수를 측정하고 양성을 보이는 부분의 눈금자를 읽어 100분율로 나타내었다.

Fraction volume %

$$= \frac{\text{Number of grid intersection with positive staining} \times 100}{\text{Total number of grid intersections}}$$

통계

정상 대조군 5명과 특발성 막성사구체신병증 환자 24명의 사구체 α -SMA와 vimentin의 양성부위 fraction volume % 평균치를 two-tail test로 그 차이를 검정하고, 진행성 환자의 사구체 α -SMA와 vimentin의 양성부위 fraction volume %와 비진행성 환자의 사구체 α -SMA와 vimentin의 양성부위 fraction volume % 평균치도 각각 2-tail test로 검정하였다. 사구체 α -SMA 및 vimentin 각각의 양성부위 fraction volume %와 진단 당시 및 마지막 추적 관찰시 BUN, 혈청 creatinine 수치와의 상관관계를 Pearson's correlation (two-tailed) test로 검정하였다.

결 과

조직학적 소견

특발성 막성사구체신병증 환자 24명의 생검 조직은 모두 광학 현미경적으로 볼 때 두꺼워진 사구체 모세혈관벽과 경한 간질 세포의 증가를 보였으며 사구체 내 세포의 증식은 대부분 보이지 않았다. 각 환자의 생검 조직에서 관찰된 여러 개의 사구체는 제각기 여러 단계의 조직 변화를 보였고, 신세뇨관-간질의 섬유화의 정도도 다양하였다. 진행군 중 한 예는 섬유성 반월체 형성을 보이며 심한 섬유화와 조직 손상을 보였고, 다른 한 예는 총 10개의 사구체 중 2개에서 사구체 경화를 보였으며, 신간질에 심한 염증세포 침윤을 동반하였다. 비진행군에서는 사구체에 분절성 경화를 보인 예가 3예 있었고, 이들은 모두 신간질 조직에 염증세포의 침윤을 동반하고 있었다. 신간질 조직의 염증세포 침윤과 섬유화의 정도는 경도 내지는 중등도로 다양하였다. 질병의 초기에 생검된 조직의 HE 염색에서, 진행군과 비진행군

사이에 유의할 만한 조직학적 소견의 차이는 보이지 않았다.

면역조직학적 염색 결과

α -SMA의 면역조직학적 발현 양상

정상 대조군에서 사구체의 α -SMA는 평균 0.13±0.1%로 5예 중 2예에서만 약 양성을 보였다. 간질 조직에서는 주로 신세뇨관 주변의 근섬유모세포 세포질에서 발현되었다.

24명의 특발성 막성사구체신병증 환자에서는 모두 대조군보다 높은 양성률을 보였으며 평균 13.6±10.3%였다. 이는 정상 대조군에 비해 유의하게 높은 수치였다(Fig. 3, p<0.005).

대부분 사구체의 혈관사이세포 세포질 및 혈관사이 기질(mesangium)에 분절성 혹은 미만성 발현을 보였다. 사구체 경화가 있는 경우는 양성 반응을 보이는 세포들의 수가 적었고, 이들은 사구체 술에 침윤된 양상을 보였으며, 사구체 주변의 염증세포 및 사구체를 둘러싼 여러 층의 근섬유모세포도 강 양성 반응을 나타내었다(Fig. 1A-E).

사구체의 α -SMA 발현율이 높은 경우는 대체로 간질 조직에서도 α -SMA 발현율이 높았다. 간질 조직의 사구체 주변 혹은 위축된 신세뇨관 상피 주변에서 양성을 보였으며, 이들은 대조군보다 훨씬 강한 양성을 보였다. 특히 간질 조직에 염증 세포의 침윤으로 세포 밀도가 높은 부분에서 양성 세포들이 관찰되었다(Fig. 1F).

Vimentin에 대한 면역조직학적 발현 양상

정상 대조군에서 사구체의 vimentin은 평균 9.47±3.9%로 5예 중 2예에서만 약 양성을 보였다. 이들은 주로 사구체 내에 국한되어 발현되며, 간질 조직에서는 신세뇨관 주위 모세 혈관에서 발현되었다.

24명의 특발성 막성사구체신병증 환자의 경우, 모두 대조군보다 높은 양성률을 보였으며, 평균 31.7±10.2%로 정상 대조군에 비해 유의하게 높았다(Fig. 3, p<0.001).

대부분 사구체 내에서 미만성으로 강 양성을 보였는데, 이들은 혈관사이세포 및 혈관사이조직보다는 족세포, 모세 혈관 내 피세포에서 발현되어 두꺼워진 기저막을 따라 염색되어 사구체 술의 윤곽을 잘 보여주었다(Fig. 2A, B). 사구체 경화가 있는 경우 사구체 내에는 발현되는 세포가 없었다.

간질 조직에서는 신세뇨관주위 모세 혈관을 비롯하여 사구체 주변 혹은 신세뇨관 주변의 근섬유모세포 및 간질 조직에 침윤한 염증세포에서 양성을 보였고, 그 밖에 손상된 신세뇨관 상피 세포에서 발현되었다(Fig. 2C). 사구체 및 간질 조직간 vimentin 발현의 상관성은 관찰되지 않았다.

면역조직학적 염색 결과와 예후와의 상관관계

사구체 α -SMA 발현과 임상 경과의 비교

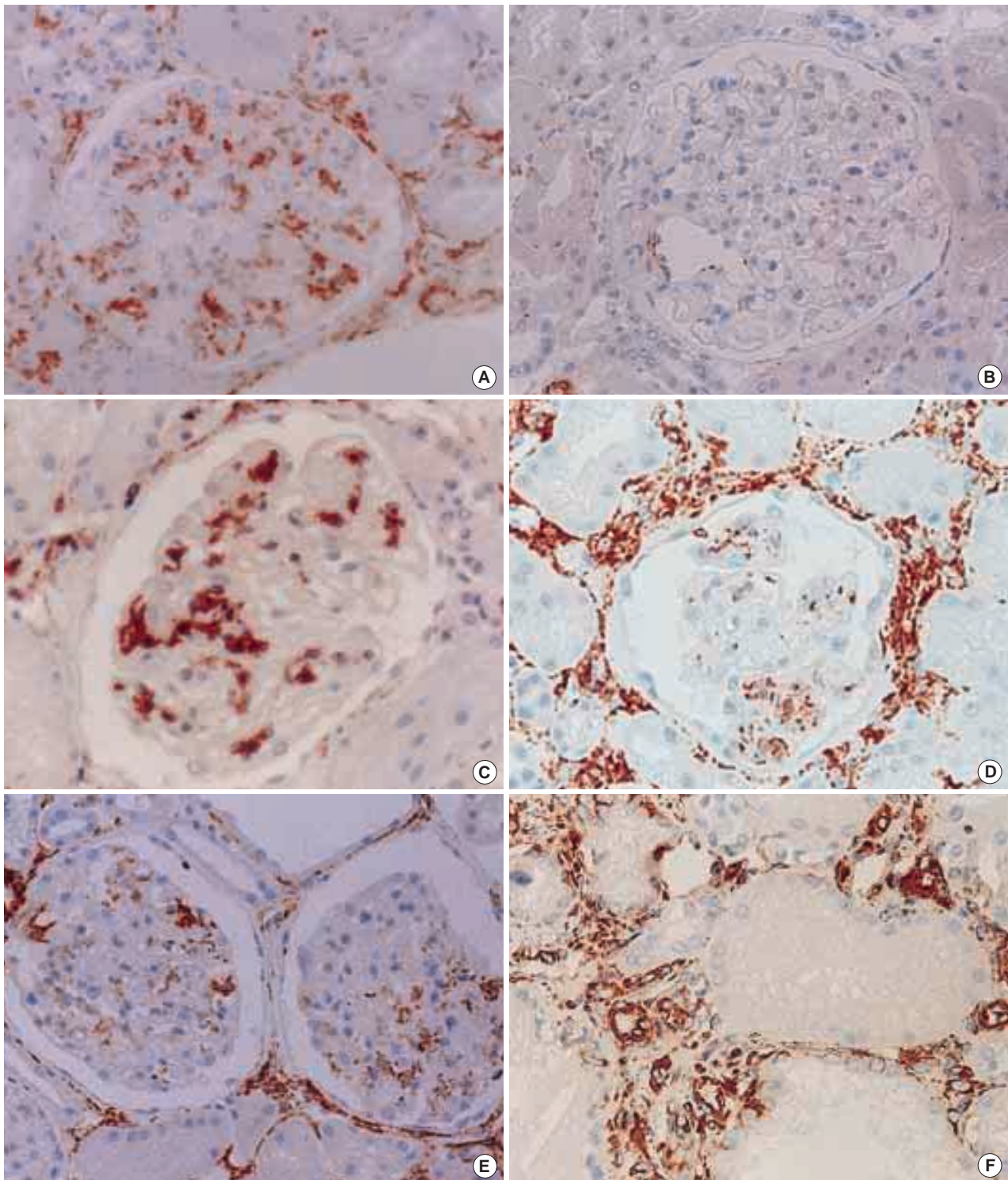


Fig. 1. (A) The immunohistochemical stainings of glomerular and interstitial alpha smooth muscle actin in idiopathic membranous nephropathy. The glomerular α -SMA expression of progressive patients (fraction volume: 24%) is mainly observed in mesangial cells and matrix. (B) In contrary to progressive patients, the glomerular α -SMA expression of non-progressive IMN patients is sparse and only is found in periglomerular and peritubular cells (fraction volume: 1.4%). (C) The glomerular α -SMA expression of progressive patients in segmental pattern. (D) In sclerotic glomeruli, the positive cells are decreased and shown only a few in glomerular tufts. (E) Periglomerular positive cells, indicating periglomerular myofibroblasts. (F) Interstitial myofibroblasts around the atrophic renal tubules. SMA: smooth muscle actin, IMN: idiopathic membranous nephropathy.

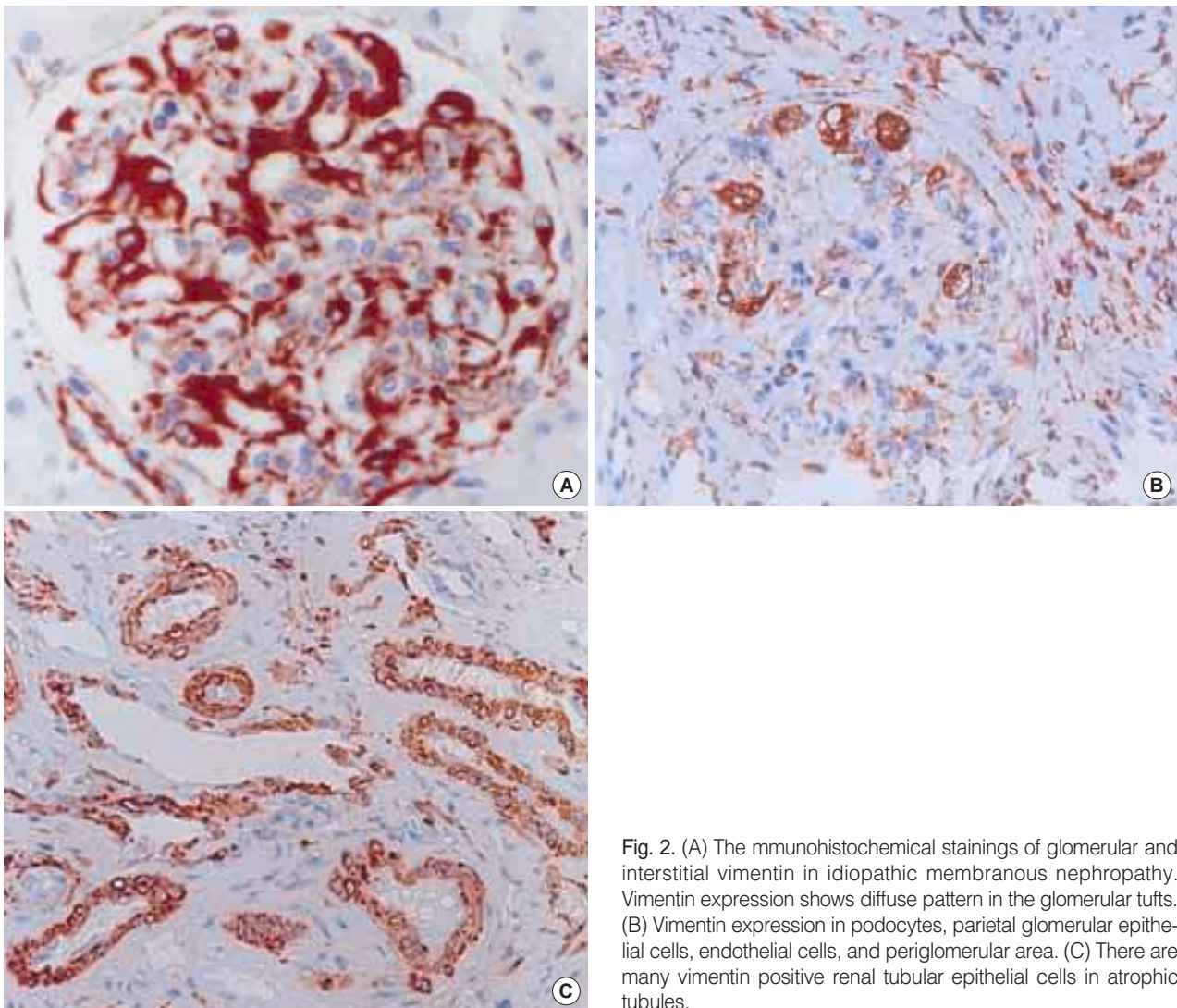


Fig. 2. (A) The immunohistochemical stainings of glomerular and interstitial vimentin in idiopathic membranous nephropathy. Vimentin expression shows diffuse pattern in the glomerular tufts. (B) Vimentin expression in podocytes, parietal glomerular epithelial cells, endothelial cells, and periglomerular area. (C) There are many vimentin positive renal tubular epithelial cells in atrophic tubules.

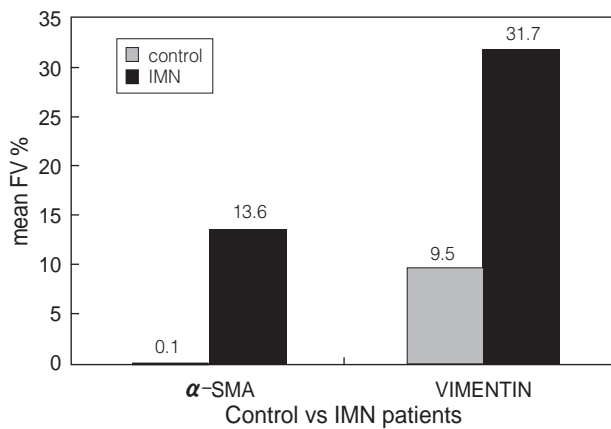


Fig. 3. Comparison of mean fraction volume (FV) of glomerular α -SMA and vimentin in normal control group and IMN patients. The expressions of glomerular α -SMA and vimentin are significantly higher in IMN patients comparing with normal control group ($p < 0.05$). SMA: smooth muscle actin, IMN: idiopathic membranous nephropathy.

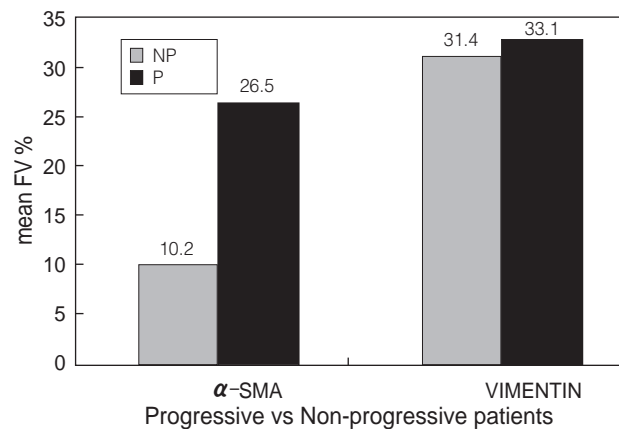


Fig. 4. Comparison of mean fraction volume (FV) of glomerular α -SMA and vimentin in progressive and non-progressive (NP) patients with idiopathic membranous nephropathy. The expression of glomerular α -SMA is significantly higher in (P) comparing with (NP) ($p < 0.05$). But that of vimentin is not different between P and NP. SMA: smooth muscle actin.

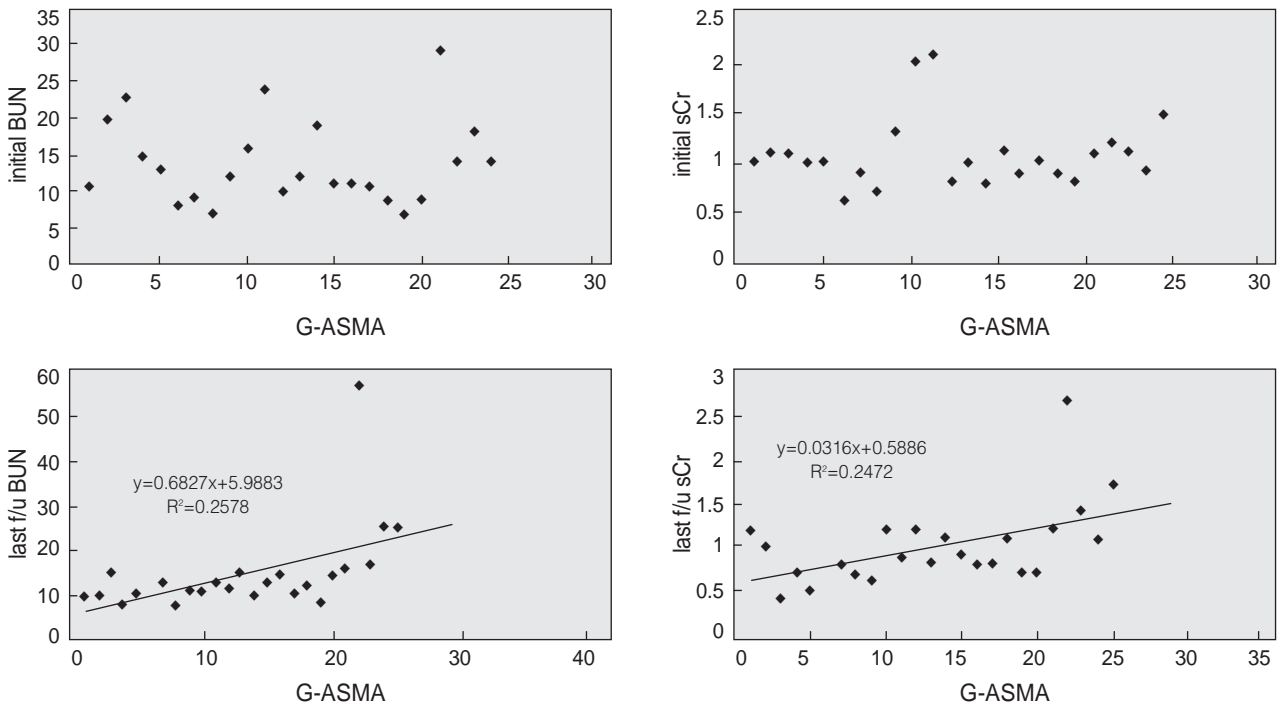


Fig. 5. Comparison of initial and last follow up BUN and serum creatinine levels (last f/u BUN, sCr) with glomerular α -SMA expression in (G-ASMA) patients of idiopathic membranous nephropathy. In initial BUN and serum creatinine, there is no statistically significant correlation with glomerular α -SMA expression. But in last follow up BUN and serum creatinine, there is positive correlation with glomerular α -SMA expression ($p<0.05$). SMA: smooth muscle actin.

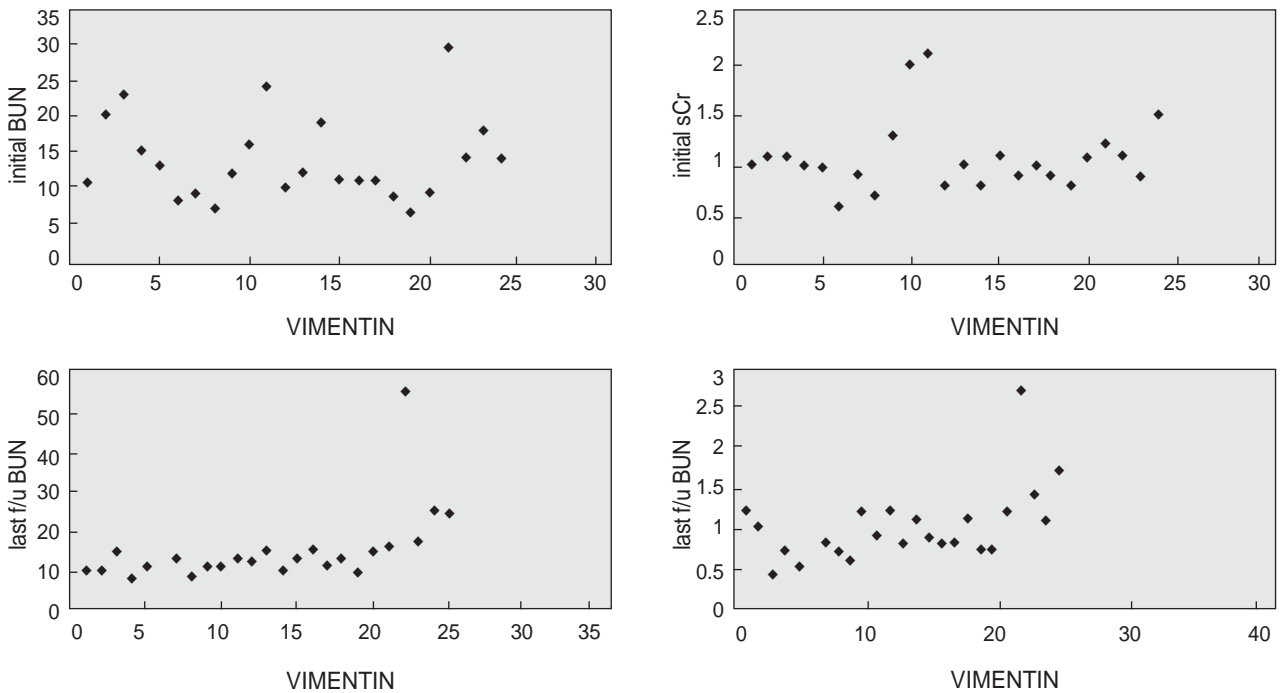


Fig. 6. Comparison of initial and last follow up BUN and serum creatinine levels (last f/u BUN, sCr) with glomerular vimentin expression in patients of idiopathic membranous nephropathy. They show no significant correlation between BUN and serum creatinine levels and glomerular vimentin expression.

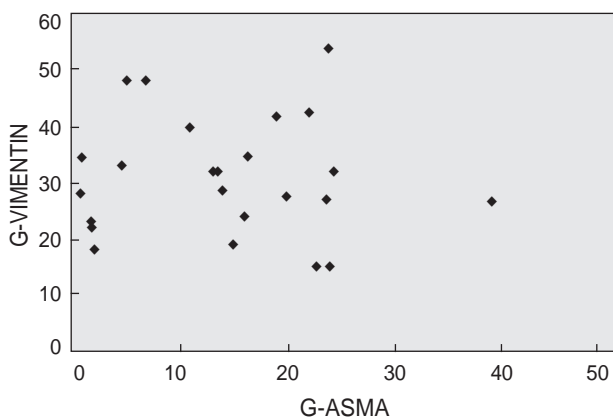


Fig. 7. Comparison of glomerular α -smooth muscle actin (G-ASMA) expression with glomerular vimentin expression in patients of idiopathic membranous nephropathy. There is no correlation.

사구체 α -SMA 발현은 진행군, 비진행군에서 각각 평균 26.5 ± 7.0 , $10.2 \pm 8.1\%$ 의 양성률을 보여 진행군에서 비진행군보다 유의하게 높았다($p < 0.005$) (Fig. 4).

α -SMA 발현을 진단 당시의 BUN, 혈청 creatinine 및 마지막 추적 관찰시의 BUN, 혈청 creatinine 수치와 비교하였다. α -SMA 발현율은 진단 당시 및 마지막 추적 관찰 시 BUN 및 혈청 creatinine 수치와 모두 양성 상관관계를 보였으나, 마지막 추적 관찰 시 BUN ($p < 0.05$) 및 혈청 creatinine ($p < 0.01$)이 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 5).

사구체 vimentin의 발현과 임상 경과의 비교

사구체 vimentin 발현은 진행군과 비진행군에서 각각 평균 $33.1 \pm 15.2\%$, $31.4 \pm 9.0\%$ 로 두 집단간에 별다른 차이를 보이지 않았다(Fig. 4).

vimentin 발현과 진단 당시의 BUN, 혈청 creatinine 및 마지막 추적 관찰 시의 BUN, 혈청 creatinine 수치와는 상관관계가 없었다(Fig. 6).

Glomerular α -SMA과 Vimentin 발현의 상관관계

α -SMA과 vimentin의 발현 사이에는 상관관계가 없었다(Fig. 7).

고 찰

근섬유모세포는 신간질 조직의 섬유화를 유도하며, 신간질의 α -SMA의 발현은 특발성 막성사구체신병증의 예후를 예측할 수 있는 지표가 된다고 알려져 있다. Essawy 등⁸은 당뇨 환자의 신장에서 근섬유모세포가 사구체 경화와 신간질 조직의 섬유화에 중요한 역할을 한다고 하였다. 그리고 Roberts 등²³은 특발

성 막성사구체신병증에서 신간질 섬유화가 진행됨에 따라 α -SMA의 발현이 증가됨을 보이고 신간질 조직의 섬유화에 근섬유모세포가 중요한 역할을 한다는 것을 밝혔다. Badid 등²⁴은 신간질의 α -SMA의 발현이 신간질의 섬유화보다 앞서 일어나므로 막성사구체신병증의 진행에 있어 초기 예후 지표가 된다고 하였다.

최근 α -SMA는 신간질의 근섬유모세포뿐만 아니라 여러 사구체 질환의 신사구체 혈관사이세포에서도 발현이 증가됨에 따라, 그 기전에 대한 연구가 진행 중이다. 여러 혈관사이 증식성 질환에서 사구체 α -SMA의 발현 증가가 밝혀지고, 이에 대해 증식성 세포핵 항원 지표의 증가와 비례하여 α -SMA의 발현이 증가됨이 보고되었다.¹⁵ 이에 이어 혈관사이 증식을 동반하지 않는 다른 사구체 질환, 즉 미세변화 질환, 막성사구체신병증, 분절성 사구체 경화증에서도 사구체 α -SMA의 발현이 증가됨이 밝혀졌다. Stephenson 등²⁵은 배양 혈관사이세포를 이용한 실험에서 α -SMA의 발현이 혈관사이세포의 과다형성보다는 비대와 관계있다고 하였다. 현재 사구체 α -SMA의 발현이 증가되는 기전으로 가장 설득력이 있는 주장은 혈관사이세포의 근섬유모세포로의 표현형 전이이다.⁹ Utsumiya 등⁹은 IgA신병증에서 혈관사이 α -SMA이 발현되는 기전에 대하여, 대식세포가 간질 조직으로부터 혈관사이 기질로 들어가 혈관사이세포를 자극하여 근섬유모세포로의 표현형 전이를 일으키는 것으로 설명하였다. 그리고 혈관사이 기질로 들어간 대식세포는 혈관사이세포를 자극하여 세포의 기질의 생산을 촉진시키게 된다²⁶고 한다. 그들은 혈관사이 α -SMA의 발현과 사구체 내 대식세포의 분포를 비교해보고, 혈관사이 α -SMA 발현 부위에 대식세포가 위치한 점으로 보아 대식세포가 혈관사이세포의 표현형 전이에 관여한다는 점을 밝혔다. 또한 혈관사이세포가 생산한 M-CSF가 대식세포의 혈관사이 기질 내로의 침습을 용이하게 한다고 한다. 본 연구에서는 24예의 특발성 막성사구체신병증 환자의 사구체 α -SMA 발현이 모두 정상 대조군에 비해 유의하게 높은 양성률을 보여, 혈관사이 증식을 동반하지 않는 막성사구체신병증에서도 혈관사이 세포의 표현형의 변화로 인한 α -SMA의 출현 및 증가가 확인되었다.

한편 Utsumiya 등⁹은 사구체 내로 들어온 대식세포가 사구체 혈관내피세포 및 혈관사이 세포와 상호 작용하여 활성 상태의 oxygen species, eicosanoids,²⁷ 혹은 interleukin-1, 그리고 TGF- α 같은 cytokine들을 분비하여²⁸ 사구체 내 세포 손상을 야기시키고, PDGF, IL-1, 그리고 TGF- β 와 같은 성장인자들을 생산하여 사구체의 세포 증식을 유도하고 세포의 기질의 생산을 촉진시킨다고 하였다.²⁹

표현형의 변화로 α -SMA의 출현 및 증가를 야기시키는 세포에 대한 다른 주장들이 있는데, Essawy 등⁸은 신사구체 주변의 근섬유모세포가 Bowman 공간과 사구체 술내로 침윤하여 α -SMA를 발현하고, 이들이 사구체 경화를 일으킨다고 하였다. 본 연구에서는 사구체 경화가 있는 경우 사구체에 인접한 간질에서

많은 근섬유모세포가 관찰되어, 근섬유모세포가 사구체 내로 침윤하여 α -SMA에 양성을 보였을 가능성도 배제할 수 없다고 본다. 이에 대한 명확한 규명을 위해 *In Situ* 방법으로 사구체 내에서 α -SMA를 발현하는 세포의 기원을 찾는 연구가 필요할 것이다.

본 연구에서 사구체 경화가 있는 경우, α -SMA의 발현이 감소되었고, 소수의 양성 세포가 사구체 술에 침윤된 양상을 보였다. Schnaper 등³⁰은 배양된 혈관사이세포를 이용한 실험에서 α -SMA를 비롯한 세포골격의 양적인 증가가 선행된 후에 세포 외기질의 발현이 증가된다고 하였다. 사구체의 경화가 진행될수록 α -SMA의 발현이 감소되는 것은 혈관사이세포의 α -SMA의 발현양이 감소한 것이 아니라 세포의 기질의 축적에 따른 상대적인 혈관사이세포 수의 감소와 관련이 있다고 할 수 있다.

Utsumomiya 등⁹은 27명 IgA신병증의 장기적 임상 경과와 혈관사이세포 및 간질 조직 세포의 표현형 변이와의 상관성 연구에서, 혈관사이세포의 α -SMA 발현이 말기 신부전으로의 진행군에서 안정군보다 높다고 하였다. Tamini 등³¹은 특발성 막성사구체신병증 환자의 경우 사구체에서는 α -SMA이, 간질에서는 vimentin의 발현이 예후에 중요한 인자라고 하였다. 본 연구에서도 특발성 막성사구체신병증 환자의 사구체에서 α -SMA 발현이 진행군에서 비진행군보다 유의하게 높은 양성률을 보였다. 뿐만 아니라, 사구체 α -SMA 발현을 진단 당시의 BUN, 혈청 creatinine 및 마지막 추적 관찰시의 BUN, 혈청 creatinine과 비교한 결과, 사구체 α -SMA 발현율은 진단 당시 및 마지막 추적 관찰 시의 BUN 및 혈청 creatinine 수치와 모두 양성 상관관계를 보였다. 비록 진행성 신부전을 보인 환자는 아니더라도 사구체 α -SMA 발현율이 높았던 환자들은 추적 관찰 시 BUN, 혈청 creatinine 수치가 정상치를 넘거나, 진단 당시보다 약간 증가되거나, 혹은 진단 당시 이미 정상치보다 높은 수치를 보였다. 이러한 상관성은 마지막 추적 관찰 시 BUN ($p<0.05$) 및 혈청 creatinine ($p<0.01$)에서 통계적으로도 유의한 상관관계를 나타냈다.

Vimentin은 여러 간엽 세포에 흔히 존재하는 세포 골격단백의 하나로 신장에서는 세포의 증식 및 분화의 표지로 알려져 있다. Tamini 등³¹은 특발성 막성사구체신병증에서 세포골격 단백질의 발현과 그 역할에 관하여, 21명의 특발성 막성사구체신병증 환자를 진행군과 안정군으로 나누어 사구체 및 신간질에서의 vimentin의 발현을 연구하였다. 이에 따르면 진행성 환자의 경우 신간질의 vimentin 발현은 증가되었으나, 사구체 vimentin 발현율은 비진행성 환자와 진행성 환자에서 별다른 차이를 보이지 않아 신간질 vimentin 발현이 예후와 밀접한 관계가 있다고 한다. 본 연구에서도 사구체 vimentin 발현이 정상 대조군에 비해서는 의미있게 증가하였으나, 진행성 환자와 비진행성 환자 사이에서는 별다른 차이를 보이지 않았다. 사구체 vimentin 발현은 사구체 α -SMA과 전혀 다른 발현 양상을 보여주었는데, 첫째, vimentin은 두꺼워진 사구체 모세 혈관 기저막을 따라 미

만성으로 강하게 염색되어 사구체 술의 윤곽을 잘 보여주었다. 그러나 그 발현의 강도나 분포가 질병의 임상 경과와 유의한 연관성을 보이지는 않았다. 또한 사구체 vimentin은 혈관사이세포나 혈관사이 기질보다는 혈관내피세포나 사구체 상피세포에서 잘 발현되었고, 사구체 경화가 있는 경우 사구체 내에는 발현되는 세포가 없었다.

신간질의 섬유화는 신질환의 진행과 흔히 비례한다. 그러나 진행성 사구체 질환에서 신간질 섬유화의 병리 기전은 복잡하고 불확실하다. 최근의 연구에 의하면 침윤된 탐식구, 섬유모세포, 그리고 근섬유모세포들이 섬유화의 주 역할을 담당하며, 탐식구 침윤과 근섬유모세포 사이에 양성 상관관계가 있다고 한다.^{15,16} 한편 Diamond 등³²은 신세뇨관이 신간질의 섬유화에 참여한다고 하였다. Nakatsuji 등³³은 α -SMA 양성의 근섬유모세포가 vimentin에 양성인 신세뇨관 주변에서만 잘 관찰된다고 밝혔다. 이런 현상은 본 연구에서도 잘 관찰되었다(Fig. 1F, 2C). Nakatsuji 등³³은 손상된 신세뇨관 주변에 침윤한 대식세포에 의해 분비된 섬유원 인자들에 의해 이미 존재해 있던 섬유모세포가 근섬유모세포로 변이된 것으로 이를 설명하고 있다.

본 연구에서는 특발성 막성사구체신병증 환자의 진단 당시 생검 조직에서 사구체 α -SMA의 발현이 높을수록 진행성 신질환으로의 이행이 많으며, 사구체 vimentin의 발현보다는 사구체 α -SMA의 발현이 나쁜 예후를 예측할 수 있는 지표임을 확인하였다.

참고문헌

1. Schieppati A, Mosconi L, Perna A, et al. Prognosis of untreated patients with membranous nephropathy. *N Eng J Med* 1993; 329: 85-9.
2. Short CD, Dyer PA, Cairns SA, Klouda PT, Harris R. A major histocompatibility system haplotype associated with poor prognosis in idiopathic membranous nephropathy. *Disease Marker* 1983; 1: 189-96.
3. Donadio JV, Torres VE, Velosa JA, et al. Idiopathic membranous nephropathy: the natural history of untreated patients. *Kidney Int* 1998; 33: 708-15.
4. Mackenson S, Grund KE, Sindjic M, Bohle A. Influence of the renal cortical interstitium on the serum ceatinine concentration and serum creatinine clearance in different chronic sclerosing interstitial nephritides. *Nephron* 1979; 24: 30-6.
5. Alexopoulos E, Seron D, Hartley B, Nolasco F, Cameron JS. Immune mechanism in idiopathic membranous nephropathy. The role of the interstitial infiltrate. *Am J Kid Dis* 1989; 13: 404-12.
6. Goumenous D, Brown CB, Shortland J, El Nahas AM. Myofibroblasts, predictors of progression in IgA nephropathy? *Nephrol Dial*

- Transplant 1994; 9: 1418-25.
7. Gabbiani G. The biology of the myofibroblast. *Kidney Int* 1992; 41: 530-2.
 8. Essawy M, Soylemezoglu O, Muchaneta-Kubara EC, Shortland J, Brown CB, El Nahas AM. Myofibroblasts and the progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 42-50.
 9. Utsunomiya Y, Kawamura T, Abe A. Significance of mesangial expression of α -smooth muscle actin in the progression of IgA nephropathy. *Am J Kid Dis* 1999; 34: 902-10.
 10. Sappino AP, Schurch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest* 1990; 6: 144-61.
 11. Groma V, Marcussen N, Olsen S. A quantitative immunohistochemical study of the expression of mesangial α -smooth muscle actin and the proliferation marker Ki-67 in glomerulonephritis in man. *Virchows Arch* 1997; 431: 345-50.
 12. Skalli O, Vandekerckhove J, Gabbiani G. Actin isoform pattern as a marker of normal or pathological smooth-muscle and fibroblastic tissues. *Differentiation* 1987; 33: 232-8.
 13. Scheinman JI, Fish AJ, Michael AF. The immunohistopathology of glomerular antigens, the glomerular basement membrane, collagen, and actomyosin antigen in normal and diseased kidneys. *J Clin Invest* 1974; 54: 1144-54.
 14. Floege J, Johnson RJ, Couser WG. Mesangial cells in the pathogenesis of progressive glomerular disease in animal models. *Clin Invest* 1992; 70: 857-64.
 15. Alpers CE, Hudkins KL, Gown AM, Johnson RJ. Enhanced expression of 'muscle-specific' actin in glomerulonephritis. *Kidney Int* 1992; 41: 1134-42.
 16. Diamond JR, Ding G, Frye J, Diamond IP. Glomerular macrophages and the mesangial proliferative response in the experimental nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 1992; 141: 887-94.
 17. Holthofer H, Miettinen A, Paasivuo R, *et al.* Cellular origin of differentiation of renal carcinomas: a fluorescence microscopic study with kidney-specific antibodies, antiintermediated filament antibodies and lectins. *Lab Invest* 1983; 49: 317-26.
 18. Stamenkovic I, Skalli O, Gabbiani G. Distribution of intermediate filament proteins in normal and diseased human glomeruli. *Am J Pathol* 1986; 125: 465-75.
 19. Waldherr R, Schwecheimer K. Co-expression of cytokeratin and vimentin intermediate-sized filaments in renal cell carcinomas. *Virchows Arch* 1985; 408: 474-84.
 20. Ward JM, Stevens JL, Konishi N, *et al.* Vimentin metaplasia in renal cortical tubules of preneoplastic, neoplastic, aging, and regenerative lesions of rats and humans. *Am J Pathol* 1992; 141: 955-64.
 21. Terzi F, Maunoury R, Colucci-Guyon E, *et al.* Normal tubular regeneration and differentiation of the post-ischemic kidney in mice lacking vimentin. *Am J Pathol* 1997; 150: 1361-71.
 22. Hewitson TD, Becker GJ. Interstitial myofibroblasts in IgA glomerulonephritis. *Am J Nephrol* 1995; 15: 111-7.
 23. Roberts ISD, Burrows C, Shanks JH, Venning M, McWilliam LJ. Interstitial myofibroblasts: predictors of progression in membranous nephropathy. *J Clin Pathol* 1997; 50: 123-7.
 24. Badid C, Desmouliere A, McGregor B, *et al.* Interstitial α -SMA: a prognostic marker in membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 1999; 52: 210-7.
 25. Stephenson LA, Haney LB, Hussainin IM, Karns LR. Regulation of smooth muscle α -actin expression and hypertrophy in cultured mesangial cells. *Kidney Int* 1998; 54: 1175-7.
 26. Utsunomiya Y, Abe A, Takahashi T, *et al.* The role interaction between glomerular macrophages and mesangial cells in the progression of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 1996; 7: 1783.
 27. Cook HT, Smith J, Salmon JA, Cattell V. Functional characteristics of macrophages in glomerulonephritis in the rat: O₂-generation, MHC class II expression, and eicosanoid synthesis. *Am J Pathol* 1989; 134: 431-7.
 28. Diamond JR, Pesek I. Glomerular tumor necrosis factor and interleukin 1 during acute aminonucleoside nephrosis. An immunohistochemical study. *Lab Invest* 1991; 64: 21-8.
 29. Torbohm I, Berger B, Sconerkmark M, Von Kempis J, Rother K, Hansch GM. Modulation of collagen synthesis in human glomerular epithelial cells by interleukin 1. *Clin Exp Immunol* 1989; 75: 427-31.
 30. Schnaper HW, Poncelet AC, Hubchak SC, Latayan MB, Runyan CE. Regulation of extracellular matrix turnover in glomerular mesangial cells. *Nephrology* 1997; 3: S41.
 31. Tamini NA, Stevens PE, O' Donnell PL, Strange PE, Muchaneta-Kubara EC, El Nahas AM. Expression of cytoskeletal proteins differentiate between progressors and non-progressors in treated idiopathic membranous nephropathy. *Exp Nephrol* 1998; 6: 217-25.
 32. Diamond JR. Macrophages and progressive renal disease in experimental hydronephrosis. *Am J Kid Dis* 1995; 26: 133-40.
 33. Nakatsuji S, Yamate J, Sakuma S. Relationship between vimentin expressing renal tubules and interstitial fibrosis in chronic progressive nephropathy in aged rats. *Virchows Arch* 1998; 433: 359-67.