

알코올 유인성 IgA신병증에 관한 실험적 연구

계명대학교 의과대학 병리학교실

장은숙 · 유경재

서 론

면역글로불린 A신병증 (IgA nephropathy, IgAN)은 1968년 Berger와 Hinglais가 재발성 혈뇨환자들에서 면역병리학적으로 사구체의 맥관막 기질에 면역글로불린 A (IgA)의 침착을 특징으로 하는 신질환을 처음 발표하여 알려진 질환¹⁾이며 그후 이 질환은 사구체신염증에서 가장 흔한 병으로²⁾ 등장하게 되었고 전세계적으로 원발성 사구체신염의 약 15%를 차지하며³⁾ 우리나라에서는 7.2~30.8%⁴⁻⁷⁾로 보고자에 따라 그 빈도의 차이는 있지만 계속 증가하고 있는 추세이다⁸⁻¹²⁾. 이것은 신조직의 면역형 광검사상 사구체에 침착되는 면역글로불린 중에서 IgA가 가장 지배적으로 많은 것이 특징으로 되어 있다. 원발성 IgA신병증은 그 원인을 모르나 지금 까지의 여러 실험동물 모델로 연구한 결과에 의하면 IgA생성의 면역학적 조절장애로 인한 중합체 면역글로불린 A (polymeric IgA, p-IgA) 및 면역복합체의 과형성, 단핵식세포계(mononuclear phagocyte system)의 탐식기능 장애 그리고 보체의 변이 경로(alternative pathway)의 활성에 의한 사구체 손상이라고 밝혀졌다¹³⁾. 그러나 아직도 발생기전은 확실히 모른다.

한편 원발성 IgAN과 같은 면역형광 소견은 다른 전신성 질환, 예를들면 전신성 홍반성 루푸스 (systemic lupus erythematosus), Henoch-Schönlein purpura 그리고 알코올성 간질환, 간담관 질환등에서도 보는데 이들을 소위 속발성 IgA신병증이라고 한다¹⁵⁾. 이 신병증의 특징적인 소견은 경한 맥관막 세포과다 (mesangial hypercellularity)와 IgA 침착, 또는 경한 IgG 및 IgM의 동반 침착을 볼 수 있으며 전자현미경상 맥관막내 고전자 물질 침착 (mesangial electron dense deposits)을 보는 것인데, 이들은 검고 뚜렷하게 (dark distinct) 혹은 연하고 불분명하게 (pale and ill-defined) 관찰된다¹⁶⁾.

우리나라의 알코올 소비량은 산업화와 더불어 점차 증가하고 있는 경향이고 이로 인한 알코올성 간장애가 많아지고 있으며 한편 IgAN의 보고도 날로 증가하고 있는 추세에 있다. 동물실험을 통해서 또는 사람에서 알코올 남용으로 인한 간장애에 대한 연구는 많으나¹⁷⁻²⁰⁾ 더 나아가 신장병변에 대한 동물실험 연구는 희귀하다²¹⁾.

저자들은 이상과 같은 문헌적 지견을 기반으로 하여 흰쥐에 알코올을 일정량 경구 투여하여 신장의 병변을 경시적으로 광학, 면역형광 및 전자현미경으로 관찰하여 알코올 유인성 IgAN의 발생기전과 면역병인적 기전을 규명하는데 기여하고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 체중 250~350g의 Sprague-Dawley종 숫컷 흰쥐를 일정기간 사육하여 환경에 적응시킨 후 건강한 것을 골라 다음과 같이 실험 하였다.

실험방법 : 실험은 다음과 같이 3개군으로 나누어서 시행하였다.

제1군 : 대조군 6마리

제2군 : 10% 알코올 경구 투여군 11마리

제3군 : 40% 알코올 경구 투여군 14마리

알코올 투여방법 : 알코올 용액은 무수 에틸알코올 용량비로 회석하여 40%와 10% 알코올을 만들어서 매일 각기 40%를 3ml 그리고 10%를 4ml씩 경구 투여하였다. 대조군은 알코올 대신 생리식염수 3ml를 경구 투여하였다. 모든군에 일반고정식을 투여하였다.

관찰시기 : 알코올 (10% 와 40%)경구 투여 시작 후 아래 표에서와 같이 도살하여 검색하였다 (Table 1).

단백뇨 및 혈뇨 검사 : 도살 직전에 방광에서 주사기로 소변을 채취하여 혈뇨와 단백뇨의 유무를 판정키위해 strip (Hema-Combistix, Ames Division,

Table 1. Date of examination and number of rats examined

Group	Date						Total
	3D	5D	1W	4W	8W	12W	
I			1	1	2	2	6
II			1	2	4	4	11
III	2	1	2	1	4	4	14

D: day, W: week.

Indiana)으로 검사 하였다.

광학현미경 관찰 : 광학현미경적 검사를 위하여 도살시 신장, 위, 소장, 간장 및 폐장을 적출하여, 각 조직들을 10% 증성포르말린에 고정한 후, 계열 에틸알코올로 탈수하고, 파라핀에 포매한 후 3~4μm 두께로 박절하여 일반적인 변화를 보기위한 hematoxylin-eosin 염색, 맥관막 기질의 변화를 보기 위한 periodic acid Schiff 염색, Masson's trichrome 염색과 periodic acid methanamine silver 염색을 각각 실시하여 관찰하였다.

면역형 광현미경 관찰 : 면역병리조직 검사를 위하여는 신장 및 소장의 조직들을 즉시 동결하여 cryocut로 2~3μm 두께로 박절하여 공기중에 건조시키고 PBS (pH 7.4)로 세척 후 신장은 fluorescein isothiocyanate (FITC) Goat Anti-rat IgA (Nordic immunology, Tilburg, The Netherlands), IgM, IgG, C3 (Cappel, Organon Teknica Corporation, West Chester, PA)를 사용하여 신사구체내의 IgA, IgM, IgG 및 C3의 침착을, 소장도 C3를 제외하고 동일한 방법으로 염색하여 점막고유층의 IgA, IgM 및 IgG 함유세포를 Leitz-Diaplan (Leitz, West Germany) 면역형 광현미경으로 관찰하였다.

전자현미경 관찰 : 전자현미경적 검색을 위하여는 도살즉시 신장, 소장, 간조직 일부의 절편을 1 mm³의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde용액

(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)으로 1~4°C에서 2시간 전고정을 하고 0.1M 인산염 완충용액으로 세척한 후 1% OsO₄용액에 2시간 후고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척을 하여 계열 에틸알코올로 탈수를 하였다²²⁾. Propylene oxide로 치환한 후 Luft방법²³⁾에 의한 epon혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1μm 두께로 박절하여 toluidine blue염색을 하여 관찰 부위를 결정한 다음 초박절은 Sorvall MT 5000형 초박절기에 DuPont diamond칼을 부착하여 회백색 (40~60nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻어서 grid에 부착하여 Watson²⁴⁾ 및 Reynolds방법²⁵⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

성 적

육안소견

신장과 간에서는 육안적 병리소견을 대조군이나 실험군에서 볼 수 없었다. 위장과 소장의 점막에는 경한 초점적 충혈 및 미란 상태가 40% 알코올 투여군 8주와 12주에서 현저하게 나타났고 10% 알코올 투여군에서는 더 경하게 나타났다. 그밖에는 육안적으로 의의있는 소견은 없었다.

소변검사소견

대조군과 10% 및 40% 알코올 8주 투여군에서도 100mg/dl의 뇨단백과 알부민이 1+~2+이었고, 40% 알코올 12주 투여한 쥐에서는 300mg/dl의 뇨단백과 알부민이 3+이었고 이중 한마리에서는 혈미경적 혈뇨도 관찰되었다(Table 2).

광학현미경 소견

실험군이나 대조군에서 신장 조직의 병리학적 소견이 거의 보이지 않았다. 단 40% 알코올 투여 8주와 12주군의 신장조직은 PAS염색에서 약간의 맥

Table 2. Urinalysis findings

Date of examination		8W	12W		
Group	Findings	Protein (N)	Protein (N)	Albumin	RBC (N)
I		100mg/dl (1)	100mg/dl (2)	2+	- (0)
II		100mg/dl (1)	30~100mg/dl (2)	1+~2+	- (0)
III		100mg/dl (1)	300mg/dl (2)	3+	mic+ (1)

W: week, N: number of rats, mic: microscopic.

관막기질의 증가가 간혹 관찰되었으나 대부분은 정상이었다 (Fig 1). 소장은 40% 알코올 투여 8주군과 12주군에서 용모 첨단 및 점막상피의 탈락과 부위에 따라서 미란도 관찰되었고, 이런 점막에는 경도내지 중등도의 염증세포 침윤이 있었는데 12주군에서 더욱 현저하였고 또 용모의 높이도 감소되어 점막이 전체적으로 그 두께가 현저히 감소되어 있었다 (Fig 2). 한편 10% 알코올 투여 8주군과 12주군에서는 위와 같은 소견이 아주 경미하게 나타났다. 간조직은 경도의 지방침윤이 중심소엽 부위에 40% 알코올 투여 12주군에서 관찰되었다.

면역형광현미경 소견

40% 알코올 투여 8주군 4마리중 1마리에서 신사구체 맥관막내 IgA 침착이 흔적 내지 아주 약한 정도로, 국소에서 경미하게 관찰되었으며 저배율 한시야에서 약 반수의 사구체에서, 제12주째 도살시에는 4마리중 3마리에서 맥관막내 IgA 침착이 좀 더 광범하게 저배율 한 시야에서 2/3 이상의 사구체에서 과립상으로 관찰되었다 (Fig 3). 그외 40% 알코올 투여군 1주 및 4주와 10% 알코올 투여군에선 IgA침착이 없었다 (Fig 4). 이때 IgA 양성의 대조로는 대조군의 소장절편을 동결하여 사용하였는데 고유층에 함유된 세포들이 양성으로 염색되었다. IgG와 IgM 그리고 C3는 신사구체 맥관막에 국소적 침착이 40% 알코올 투여군 12주에서 약하게 그리고 8주군에서는 아주 약하게 관찰되었고, 8주군에서는 C3의 침착은 없었다. 10% 알코올 투여군 12주에도 거의 무시할 만큼 미미한 국소침착이 관찰되었다. 또 소장의 면역형광현미경 검사상 제8주군에서 FITC Goat Anti-rat IgA로 검사한 결과 대조군보다 10% 알코올 투여군에서, 또 10% 보다 40% 알코올 투여군에서 더욱 IgA 형광양성 정도와 양성세포수가 현저하게 증가함 (Fig 5)을 관찰할 수 있었고 대조군 (Fig 6)과 비교하여 뚜렷한 증가가 보였다. 그러나 IgM과 IgG의 침착은 각 군에서 의미있는 증가를 보이지 않았다.

전자현미경적 소견

10% 알코올 투여 12주군에서 4마리중 1마리에서 국소적으로 맥관막 기질의 증대 및 미약한 고전자밀도 침착물이 맥관막내 국소에서 관찰되었고, 40% 알코올 투여 8주군에서 4마리중 2마리에서 그리고 12주에서는 4마리중 3마리에서 신맥관막 기질증대 및 맥관막내의 고전자밀도 침착물과 국소적인 족돌기 (foot process)의 융합과 소실이 관찰되

Table 3. Immunofluorescence microscopic findings of alcohol induced glomerular IgA deposits

Group	Date of examination		
	4W(N)	8W(N)	12W(N)
I	-1(1)	-2(2)	-2(2)
II	-2(2)	-4(4)	-4(4)
III	-2(1)	+1(4)	+3(4)

W: week, N: number of rat.

었다 (Fig 7, 8). 맥관막세포의 활성을 나타내는 세포질내의 소기관이 풍부하고 간혹 맥관막 세포의 증식도 보였다 (Fig 9). 사구체 모세혈관의 내피세포의 활성을 의미하는 원형의 단백소적이 세포질내에서 관찰되었다. 그외의 40%와 10%군 그리고 대조군에서는 뚜렷한 변화가 없었다 (Fig 10). 소장은 40% 알코올 투여 12주군에서 미소용모의 쇄자연 길이가 일정치 않고 짧거나 그 방향이 불규칙하고 그 밑의 상피세포의 소기관의 불규칙성 즉 미토콘드리아의 불규칙한 모양 및 수의 감소와, 또 군데군데 종창된 것이 보였다 (Fig 11). 활면소포체의 확장 및 증가, 그리고 리소좀의 증가를 볼 수 있었고 또 세포들간의 간격확대도 보였다. 부위에 따라서 미소용모가 소실되거나 위축된 장상피세포도 보였다. 간은 크고 다양한 크기의 지방적 축적이 관찰되었고 미토콘드리아의 종창 및 그 기질의 비정상적 농축등이 관찰되었다 (Fig 12). Kupffer 세포들은 많은 지방적을 탐식한 것외에는 특기할 만한 변화가 관찰되지 않았다.

Table 4. Electron microscopic findings of alcohol induced IgA nephropathy

Group	I	II	III	
Date of examination	8W	12W	8W	12W
Mesangial electron dense deposits	0/2	0/1	0/4	1/4
Mesangial expansion	0/2	0/2	0/4	1/4
Foot process effacement	0/2	0/2	1/4	1/4
W: week.	2/4	3/4	2/4	3/4

고 찰

알코올 유인성 IgA신병증의 실험적 연구는 희귀하나²¹⁾ 알코올 남용경력 및 알코올성 간경화증이 있

었던 환자들의 부검 또는 생검상 IgA신병증을 발견한 보고가 있으며^{15, 26-28)} 이들의 형태학적 및 형광면역학적 변화는 잘 알려져 있다.

본 실험은 지속적으로 알코올을 투여한 환쥐에서 단지 알코올성 간변화의 가장 초기인 지방변성만이 생긴 상태에서 신장의 맥관막내 IgA의 침착과 또 IgA보다 미미한 IgG, IgM침착도 동시에 동반되고 그리고 전부는 아니지만 C3의 침착도 면역형광현미경상 실증했다. 40% 알코올을 8주간 투여하고 관찰한 4마리중 1마리에서 아주 미미하게 부분적으로 여러 사구체에서 IgA가 형광현미경상 관찰되기 시작하여 12주군에서 4마리중 3마리에서 맥관막내에 IgA침착이 8주군보다 뚜렷하게 나타났고 보다 더 많은 수가 관찰되었다. 투과전자현미경상 활성맥관막세포와 또 맥관막기질의 확대 및 맥관막내 약간 불분명하거나 또는 뚜렷한 고전자밀도 침착물이 가끔 보였고 죽돌기의 융합 및 소실이 보였다. 이런 형태학적 변화는 이전에 Smith 등²¹⁾이 기술한바와 비슷하며 40% 알코올 투여군중에 8주에서 발현하기 시작하여 12주에 더 현저하게 나타나는 것으로 보아 알코올을 더 계속 투여하면 더욱 뚜렷한 변화가 나타날 것으로 믿는다.

경미한 단백뇨가 비록 대부분의 환쥐에서 나타났으나 단연 사구체에 IgA침착을 보인 40% 알코올 투여 12주군의 한마리에서는 심한 단백뇨 (300mg/dl, albumin 3+)와 현미경적 혈뇨가 관찰되었는데 이 환쥐는 IgG와 IgM의 경미한 침착외에 C3도 약하게 침착되었다. IgM과 IgG의 동반 침착은 혈뇨를 유발시키지 못하나, 보체침착을 유발하여 이것이 사구체 손상을 주어 혈뇨를 일으킨다고 본다. 왜냐하면 IgM와 IgG가 보체계를 직접 활성화 시켜서 C3가 사구체의 죽세포 (podocyte)의 C3 수용체와 결합하여 침착하면 혈뇨를 초래하는데 이것이 사구체 손상을 주기때문이라고 본다²⁹⁾. 알코올 남용으로 생기는 IgA 신병증에서 지배적으로 침착되는 IgA의 근원을 추적하기 위하여 손상 정도가 다양한 간 장애를 가진 만성 알코올 중독 환자에서 사구체신염 동반 여부를 불문하고 순환 IgA면역복합체와 그의 IgA₁과 IgA₂ subclass를 측정하여 실험한 결과 신장에 신병증의 발병과 무관하게 만성 알코올 성 간질환을 가진 환자에서 유의할만한 IgA 면역복합체 증가를 발견했고 반면 생화학적으로 간손상의 근거가 없는 만성 알코올 중독에서는 IgA 면역복합체가 정상이었다. 상승된 IgA 면역복합체내의

두 IgA subclass IgA₁과 IgA₂는 장분비물의 IgA양상과 유사함이 입증되어 이는 장점막에서 유래된 IgA 면역복합체가 간에서 제거되는데 지장이 있음을 시사했다³⁰⁾.

본 실험에서 알코올 투여로 인한 소장의 병변도 역시 40% 알코올 투여군에서 그 투여기간이 길수록 저명하였으며 12주간 투여군에서는 광학현미경상 짧고 뚁퉁한 용모의 표면 점막상피의 탈락과 전체 점막의 두께가 저명하게 감소되었는데 이런 변화들은 Boraona 등³¹⁾이 이미 관찰한 바와 유사하였다. 전자현미경상 쇄자연 (brush border)의 소실, 불규칙성 및 위축 그리고 세포간 접합 (intercellular junction)들 사이에 세포간 틈 (gap)이 생긴곳도 관찰되었는데 이는 Draper 등³²⁾이 horseradish peroxidase의 알코올 용액을 투여하여 이미 관찰된바와 동일하다. 이들은 알코올이 소장상피세포에 손상을 준 결과³³⁾로 사료된다.

p-IgA는 장점막의 고유층 (lamina propria)에 있는 풍부한 형질세포에서 주로 생성되어 방출되며 이는 장상피세포를 선택적으로 통과운송되는데 그 운송기전은 IgA가 J-연쇄 이합체 (J-chain dimer)이어서 표면 장상피세포 (surface enterocyte)내의 당단백질인 분비성분 (secretory component, SC)과 결합하여 장상피세포를 통과하여 점막 표면으로 나와서 장상피세포 표면을 보호하는 점막간벽 (mucosal barrier)내의 면역구성 성분으로서 면역간벽을 형성하고 장분비물내에 최고로 농축되어 장점막에 국한하여 존재하면서 항원이나 미생물의 침착 내지 침투에 대해, 또 내강에 존재하는 독소에 대해 대항해서 점막면역 작용에 독특하게 적응하여 이들의 침입을 차단한다^{34, 35)}. 그러나 계속적인 알코올 섭취는 앞에서 기술한 점막의 상해작용으로 장간벽의 소실을 초래하고 정상점막에서 배제되는 물질인 거대분자의 흡수가 증진될 뿐만 아니라 소장점막의 염증을 쉽게 일으켜 소장에 부가될 수 있는 바이러스, 세균, 기타 식이성 내지 독성 항원등이 장점막 고유층에 존재하는 형질세포를 자극하여 p-IgA생성 및 분비를 촉진하게 된다. 호흡기나 위장관에서 발병하는 바이러스양 증후군 (virus like syndrome)은 기존하는 IgAN의 임상적 악화를 흔히 초래한다³⁶⁾고 하며 Emancipator¹³⁾는 생쥐에서 Sendai virus로 반복적인 호흡기점막 감염을 유발시켜 결국 IgA와 Sendai virus항원의 면역침착이 사구체에 생기는 것을 실험하여 증명하였다. 항원에 대한 점막면역

반응은 주로 IgA항체와 더불어 면역복합체 (immune complex)를 생산하고 이것이 사구체에 침착하여 사구체 손상을 일으킨다. 알코올에 의한 장점막세포의 손상으로 장점막내의 장상피세포통과 운송계 (transenterocyte transport system)의 결손이 생겨서 장 분비내에 분비성 면역글로불린 A (secretory IgA, s-IgA)의 감소를 초래하고 장상피세포의 통과 없이 직접 순환혈액내로 새어 들어가서 결국 혈청중 p-IgA 면역복합체 치가 상승하게 된다³⁷⁾. 사람에서는 이렇게 혈중 IgA치가 증가하는 원발성 IgAN에서 면역글로불린 A 특이 억제 T세포 (IgA-specific suppressor T-cell)의 활성화 및 수의 저하가 보고된 바 있다. IgA 반응은 T세포와, T세포 인자들에 매우 의존적이고 IgA 과형성은 IgA 함유한 형질세포의 과다자극 혹은 과활성화에 달려있고 이는 보조 T세포 (helper T-cell)에 의해서 일어나거나 역으로 억제 T세포 (suppressor T-cell) 수의 감소에 의해 서도 일어나기³⁸⁾ 때문이다. 쥐에서 p-IgA는 장내강의 분비물내에 상당히 높은치로 존재하고 또 장간막 및 흉관 (mesenteric and thoracic duct)내 림프장액으로 상당량 배출되어 이것이 직접 혈류로 들어가지만 혈중 p-IgA치는 낮다. 이는 특히 쥐에서 p-IgA는 혈류에서 담즙으로 운송되기³⁹⁾ 때문이다. 이 때 운송은 간세포가 매개되어 일어나는데 간세포가 분비성분 (secretory component, SC)를 합성하여 p-IgA를 위한 특수 수용체로 작용하며 이 IgA-SC 복합체는 특수한 세포봉입체 소포 (endocytic vesicle)내에서 통과 운송되어 담즙내로 방출된다. 이 복합기전은 주로 장에서 기원된 p-IgA를 순환 혈류에서 제거하여 위장관내로 되돌려주며 이렇게 하여 혈류에서부터 잠재성 유독 동위원소를 단순히 제거하는데, 또는 처음에 상피세포를 통과하여 분비되지 않은 IgA를 재순환하는데 기여한다⁴⁰⁾.

면역원성인 거대분자가 장에서 흡수되어 혈류내로 유입되는 것은 쥐를 포함한 여러 종에서 실험하여 증명되었다. 만약 간경변증 또는 알코올성 간염으로 간기능이 약화된 상태이면 간의 Kupffer 세포의 제거기능 약화와 또 상기한 간세포 매개로 일어나는 SC-의존성 운송기전에 지장을 주어 IgA가 제거되지 못하여 계속 혈중에 과량이 순환하게 된다^{41, 42)}. 정상에서 면역글로불린을 생성하는 형질세포의 분포는 IgA : IgM : IgG가 20 : 10 : 1의 비율로 존재한다⁴³⁾. 본 실험에서 각 군에서 IgA 양성인 형질세포의 분포 및 이들 간의 비율의 변화를 관찰하기 위하여 실험

8주군에서 소장의 면역형광 검사를 실시하였더니 대조군의 장점막 고유층에서 IgA양성 세포들이 관찰되었고, 이 보다 10% 알코올 투여군에서는 IgA 양성 세포가 더 많았고, 또 40% 알코올 투여군에서는 10% 알코올 투여군보다 IgA양성 세포들이 현저히 더 많은 수로 월등히 증가된것이 관찰되었다. 이는 40% 알코올 투여군에서 점막에 염증세포 특히 형질세포의 증가와 비례한 현상이라고 생각된다. 또 IgM와 IgG양성 세포도 조사하였으나 별로 증가를 보이지않아 대조군에서의 IgA : IgM : IgG의 20 : 10 : 1비율보다 IgA가 상대적으로 증가되었음을 나타냈다.

본 실험에서는 간의 알코올성 병변중 가장 초기 단계인 간 지방변성이 아주 경한 정도로 생겼는데도 40% 알코올 투여 8주군에서 신 사구체내에 IgA의 침착이 관찰되기 시작하였고 40% 알코올 투여군 12주에서는 더욱 현저하고 또 침착된 사구체 수도 증가하였다. 이 정도의 간 지방변성이 IgA의 제거에 크게 지장을 주지는 않았을 것이나 소장에서의 과형성이 혈중 IgA상승을 초래했을 것으로 보며 이것이 사구체의 침착의 원인으로 사료된다. 만약 알코올을 계속 더 장기간 투여한다면 간의 알코올성 병변이 더 진행되어서 더 심한 만성 알코올성 장애가 발생하게 될 것이고 이렇게 손상된 간은 단핵식세포계에서 가장 중요한 Kupffer 세포의 기능저하 내지 장애상태가 오고^{37, 44)} 또 상기한 SC-의존성 운송기전의 지장도 생겨 과량의 IgA함유 면역 복합체 및 항원을 제거하지 못하게 되어 결국 사구체내에 IgA 축적은 더욱 증가할 것이다. 대개의 맥관막세포는 거대분자를 탐식할 수 있고⁴⁵⁾ 때로는 면역복합체도 탐식할 수 있기 때문이다⁴⁶⁾. 이때 IgA 항체분자의 생리화학적 성질과 또 그 크기에 따라서 각기 다른 부위에 침착하는데 작은 (200~300 Kd) 양성대전복합체 (positively charged complex)는 사구체 모세혈관벽내 내피하 영역에 침착하고, 중성 혹은 음성대전 복합체는 맥관막내에 침착한다. 한편 항원 단독(500 Kd까지)인 경우와 혹은 항체 단독인 경우는 침착하지 않는다. 그러므로 면역복합체의 정전기 대전 (electron charge) 및 분자량은 사구체 침착의 부위 및 크기를 결정하는데 중요하고 이것이 조직내에 침착하는데는 면역복합체의 면역격자 (immune lattice)구성이 필요하다^{47, 48)}.

본 실험으로 얻은 결론은 그림 13-A에서 요약한 바와 같이 알코올 섭취로 소장점막 면역간벽의 파

괴와 장세포의 손상으로 비정상적으로 거대분자의 흡수증가와 또 수반되는 염증등이 항원으로 작용하여 장점막고유층에 있는 형질세포들을 과자극하여 p-IgA 생성이 증진된다. 그러나 장세포가 손상되어서 그 세포내에서 일어나는 장상피세포 통과운송계의 장애로 장분비물 안으로 s-IgA의 배출이 감소되어 점막간벽내의 면역구성성분 IgA감소로 면역간벽의 역할이 부실하여지고, 알코올의 영향으로 소장에서 기원된 과량의 항원은 소장점막 고유층에서 비정상적으로 과형성된 IgA 특이항체와 결합한 후 면역복합체 형태로 손상된 장점막의 혈관을 통해 직접 순환 혈류내에 유입되어 혈중 IgA면역복합체가 증가하게 되고 이것이 신사구체 맥관막 등에 침착하게 된다고 본다. 만약 알코올성 간 변화가 심하여 간 기능이 저하되면 Kupffer세포의 제거기능도 저하되어 과량의 IgA 면역복합체를 제거하지 못하여 계속 혈중에 높은 치로 존재하게 되고, 또 간세포 손상으로 인한 간세포내의 SC-의존성 운송기전에도 지장이 생겨 IgA를 담집내로 방출이 불가능하게되어 혈청중 과량의 IgA 면역복합체가 남아서 계속 순환하게 된다. 이런 비정상 기전에 의해 생긴 순환 IgA 면역복합체는 신사구체에 침착되어 IgA신병증을 일으키고 (그림 13-B) 일단 침착되고나면 혈중의 IgA 면역복합체는 그 수치가 감소하게 된다. 본 실험과

문헌적 지견을 기반으로하여 알코올 유인성 IgA신병증은 면역복합체가 매개된 면역복합기전으로 생기는 면역복합질환이라고 생각된다.

요 약

알코올 남용으로 유인되는 IgA신병증의 발병 및 그 발생기전을 알아 보고자 흰쥐에 10% 와 40% 알코올을 정량 매일 경구투여하여 3일, 5일, 1주, 4주, 8주, 12주에 도살직전에 소변검사하고 부검하여 신사구체, 소장, 간장의 광학현미경 및 전자현미경적 변화와 동시에 신사구체와 소장의 면역형광현미경적 변화를 경시적 관찰성적을 요약하면 다음과 같은 결과를 얻었다.

40% 알코올 투여군 12주에서 현미경적 혈뇨와 현저한 단백뇨가 검색되었다.

40% 알코올 투여군 8주와 12주에서 신사구체에 IgA 침착과 소량의 IgM 및 IgG의 침착도 관찰되었고 사구체내 IgA 침착은 알코올 투여기간이 길수록 증가함을 보였고 전자현미경상 고전자밀도 침착물이 맥관막내에, 또 모세혈관 내피하에서 관찰되었다.

소장의 점막하 IgA 함유세포의 수는 대조군에 비해 10% 알코올 투여군이 경한 증가를 보였고 이보다 40% 알코올 투여군은 더욱 뚜렷하게 더 증가함을

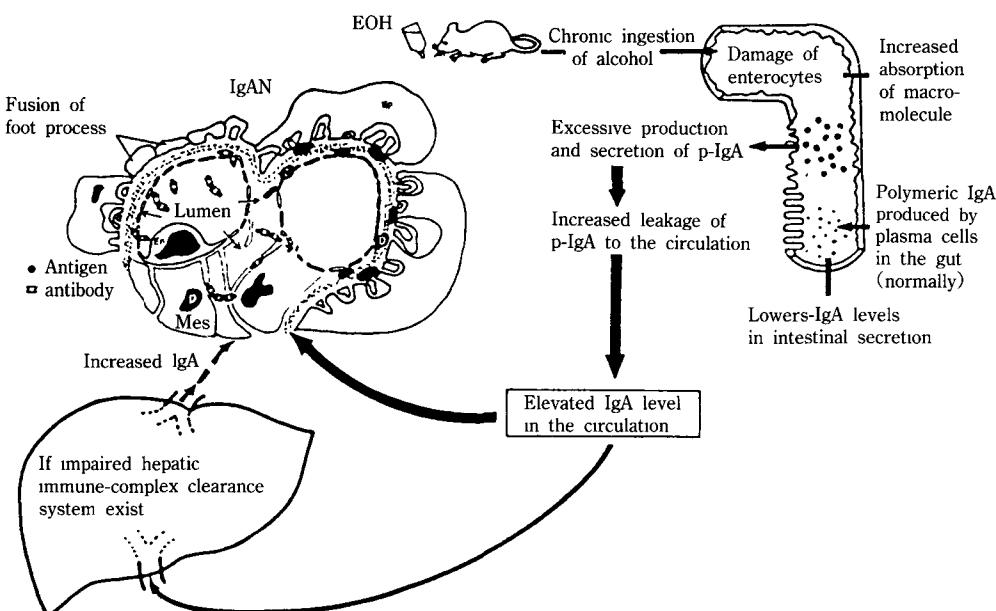
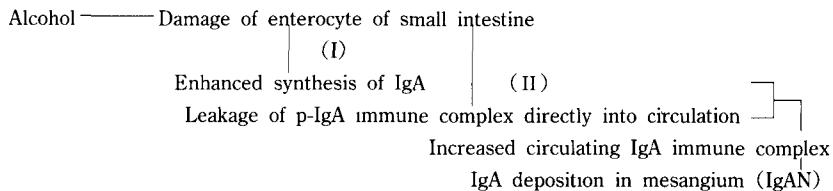
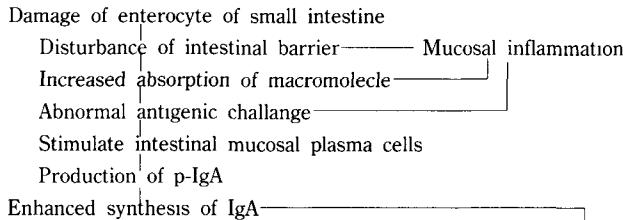


Fig 13-A. Schematic illustration of the possible pathogenesis of alcohol induced IgA nephropathy.



* Pathogenesis (I)



* Pathogenesis (II)

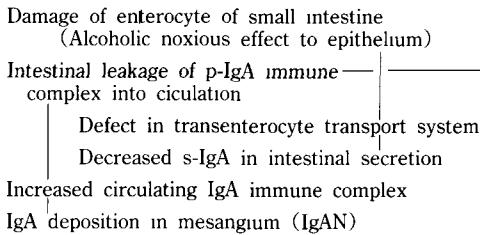


Fig 13-B. Possible pathogenesis of alcohol induced IgA nephropathy.

보여주어 이는 알코올의 농도가 높을 수록 또 그 투여기간이 길수록 소장의 병변이 심해지고 아울러 IgA 함유세포 수도 증가함을 보였다.

이상의 성적으로 보아 알코올을 경구투여하면 소장점막에 알코올성 상해가 일어나서 면역장간벽이 파괴되어 거대분자 및 염증성 산물들이 항원으로 작용하며 이 항원들이 장점막에 있는 형질세포들을 자극하여 비정상적으로 과량의 IgA를 생산케 하고 이 IgA가 과량의 항원과 결합하여 IgA함유 면역복합체를 생성하여 이것이 손상된 장점막의 혈관에 비정상적으로 유입되어 혈중 IgA 면역복합체치가 상승된 채 순환하다가 이것이 신장에 침착되어 IgAN을 일으킨다고 생각된다. 이때 알코올성 간장 애가 있으면 혈중의 IgA를 제거하는 기능에 장애가 생겨 더욱 혈중 IgA 면역복합체가 상승하게 되어 신장에 IgA침착을 더 가중시킬 것이라고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Berger J, Hinglais N: Les depots intercapillaires d'IgA-IgG. *J Urol Nephrol* 1968; 74: 694-695.
2. 조병수, 엄순희, 차주홍, 안창일, 양문호, 이현준 : 소아 IgA nephropathy의 임상적 고찰. 대한신장학회잡지 1987; 6: 95-102.
3. Emancipator SN, Gallo GR, Lamm ME: IgA nephropathy: perspectives on pathogenesis and classification. *Clin Nephrol* 1985; 24: 161-179.
4. 이영혁, 이재승, 심호식, 김병길, 정현주, 최인준 : 소아 IgA신병증에 관한 임상적 및 조직학적 고찰. 대한신장학회잡지 1986; 5: 37-44.
5. 김주현, 김우주, 이명석, 김숙주, 김형규, 홍순국 : IgA nephropathy의 임상적 고찰. 대한신장학회잡지 1986; 5: 45-52.
6. 최은영, 유광희, 안중기, 강성귀 : IgA nephropathy에 임상적 연구. 대한신장학회잡지 1986;

- 5: 164-171.
7. 장은숙 : IgA nephropathy의 증후군. 계명의대논문집 1988; 7: 335-349.
8. 윤영석, 김영진, 최의진, 차봉연, 장윤식, 이광우, 손호영, 강성구, 방병기 : 강직성 척추염을 동반한 IgA 신증 1례. 대한신장학회지 1986; 4: 105-110.
9. 고세중, 김병길, 이종균, 배기수, 정현주, 최인준 : Cyclosporin A로 관해를 유도한 Steroid저항성 미세변화형 신증후군이 병발된 IgA 신병증 1례. 대한신장학회잡지 1988; 7: 199-205.
10. 서병천, 김창렬, 이우길, 박문향 : 장티푸스에 동반된 IgA 신병증 1례. 대한신장학회잡지 1987; 6: 184-188.
11. 안명주, 김홍근, 박찬현, 강종명, 박한철, 이창우 : IgA 신증환자의 피부내 IgA 침착. 대한신장학회잡지 1987; 6: 329-333.
12. 유한옥, 정해일, 이환종, 최용, 고광육 : 스테로이드에 반응하는 IgA 신병증에 동반된 신증후군. 대한신장학회잡지 1987; 6: 89-94.
13. Emancipator SN: Immunopathogenesis of IgA nephropathy: experimental models of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1988; XII: 415-419.
14. Clarkson AR, Woodroffe AJ, Bannister KM, et al: The syndrome of IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 1984; 21: 7-14.
15. Smith SM, Hoy WE: Frequent association of mesangial glomerulonephritis and alcohol abuse; a study of 3 ethnic groups. *Mod Pathol* 1989; 2: 138-143.
16. Smith SM, Hoy WE, Welford A: Immunoelectronmicroscopy in mesangiopathic glomerulonephritis related to alcohol abuse (abstr). *Kidney Int* 1989; 35: 374.
17. Rosa J, Rubin E: Effects of ethanol on amino acid uptake by rat liver cells. *Lab Invest* 1980; 43: 366-372.
18. Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microsc* 1985; 18: 331-347.
19. Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37: 213-224.
20. Taguchi K, Asano G: Neovascularization of pericellular fibrosis in alcoholic liver disease. *Acta Pathol Jpn* 1988; 38: 615-626.
21. Smith SM, Yu GSM, Tsukamoto H: IgA nephropathy in alcohol abuse. *Lab Invest* 1990; 62: 179-184.
22. Fujita H: Procedures from fixation to embedding. *J Clin Electron Microsc* 1989; 21: S31-S35.
23. Luft JH: Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophys Biochem Cytol* 1961; 9: 409-417.
24. Watson ML: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol* 1958; 6: 475-479.
25. Reynolds ES: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 1963; 17: 208-212.
26. Bene MC, De Korwin JD, De Ligny BH, et al: IgA nephropathy and alcoholic liver cirrhosis. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 769-773.
27. Jatinderpal K, Delacroix DL, Hodgson HJF: IgA in alcoholic cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 1983; 52: 499-504.
28. Lomax-Smith JD, Woodroffe AJ: Elution of antibodies to Mallory's hyalin from kidneys of patients with alcoholic liver disease and mesangial IgA deposits. *J Clin Pathol* 1983; 36: 1416-1417.
29. Emancipator SN, Ovary Z, Lamm ME: The role of mesangial complement in the hematuria of experimental IgA nephropathy. *Lab Invest* 1987; 57: 269-276.
30. Coppo R, Arico S, Piccoli G, et al: Presence and origin of IgA₁-and IgA₂-containing circulation immune complexes in chronic alcoholic liver diseases with and without glomerulonephritis. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 35: 1-8.
31. Baraona E, Pirola RC, Liever CS: Small intestinal damage and changes in cell population produced by ethanol ingestion in the rat. *Gastroenterology* 1974; 66: 226-234.
32. Draper LR, Gyure LA, Hall JG, et al: Effect of alcohol on the integrity of the intestinal epithelium. *Gut* 1983; 24: 399-404.
33. Rubin E, Rybak BJ, Lindenbaum J, et al: Ultrastructural changes in the small intestine induced by ethanol. *Gastroenterology* 1972; 63: 801-814.
34. Bene MC, Faure G, Duheille J: Mucosal immunity. *Contrib Nephrol* 1984; 40: 137-140.
35. Mestecky J: Immunologic considerations of IgA and IgA-containing immune complexes. *Am J Kidney Dis* 1988; XII: 378-383.
36. Walker WA: Antigen handling by the small intestine. *Clin Gastroenterol* 1986; 15: 1-20.

37. Wiel A, Schuurman HJ, Kater L: Immunoglobulin A in alcoholic liver disease. *Contrib Nephrol* 1984; 40: 276-282.
38. Silva FG, Hogg RJ: IgA nephropathy in renal pathology, edited by C.C. Tisher, Brenner BM Philadelphia, JB Lippincott Co, 1989, pp 434-463
39. Jackson GDF, Lemaitre-Coelho I, Vaerman JP: Transfer of MOPC 315 IgA to secretions in MOPC 315 tumour-bearing and normal BALB/c mice. *Protides Biol Fluids* 1977; 25: 919.
40. Peppard J, Orlans E, Payne AWR, et al: The elimination of circulating complexes containing polymeric IgA by excretion in the bile. *Immunology* 1981; 41: 83-89.
41. Peppard JV, Orlans E, Andrew E, et al: Elimination into bile of circulating antigen by endogenous IgA antibody in rats. *Immunology* 1982; 45: 467-472.
42. Rifai A, Mannik M: Clearance of circulating IgA immune complexes is mediated by a specific receptor on Kupffer cells in mice. *J Exp Med* 1984; 160: 125-137.
43. Kingston D, Pearson JR, Penna FJ: Plasma cell counts of human jejunal biopsy specimens examined by immunofluorescence and immunoperoxidase techniques: a comparative study. *J Clin Pathol* 1981; 34: 381-385.
44. Gormly AA, Smith PS, Seymour AE, et al: IgA glomerular deposits in experimental cirrhosis. *Am J Pathol* 1981; 104: 50-54.
45. Michael AF, Keane WR, Raji L, et al: The glomerular mesangium. *Kidney Int* 1980; 17: 141-154.
46. Zanetti M, Wilson CB: Participation of auto-anti-idiotypes in immune complex glomerulonephritis in rabbits. *J Immunol* 1983; 131: 2781-2783.
47. Rifai A: Experimental models for IgA-associated nephritis. *Kidney Int* 1987; 31: 1-7.
48. Isaacs K, Miller F: Antigen size and charge in immune complex glomerulonephritis. II. Passive induction of immune deposits with dextran antidextran immune complexes. *Am J Pathol* 1983; III: 298-306.

=Abstract=

Experimental Study on IgA Nephropathy Induced by Alcohol

Eun Sook Chang, MD; Kyung Jae Yoo, MD

*Department of Pathology
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea*

For the elucidation of a possible immunopathogenesis that leads to morphological and functional renal injury induced by alcohol abuse, immunopathologic and ultrastructural studies were carried out on animal models; male Sprague-Dawley rats were fed a regular diet with 3ml of 40% and 4ml of 10% alcohol for 3 days to 12 weeks. The control group animals were fed a regular diet with 3ml of normal saline daily instead of alcohol. The experimental animals were sacrificed on the 3rd, 5th and 7th day, 4th, 8th, and 12th week. The kidney, liver and small intestine were examined by light and electron microscopy, and the kidney and small intestine were also examined by immunofluorescence microscopy. No pathologic findings were observed by light microscopy in 25 alcoholic and 6 control kidney samples. In one out of four rats after 8 weeks and three out of four rats after 12 weeks of 40% alcohol ingestion the IgA nephropathy (IgAN) with dominant mesangial IgA deposits on immunofluorescence microscopy and mesangial electron dense deposits on electron microscopy were observed. These IgAN cases also showed weak depositions of IgM, IgG and C3. Albuminuria (3+) and proteinuria (300mg/dl) were found in a rat with IgAN of 40% alcohol ingestion for 12 weeks. In the rest of the alcoholic rats up to 8 weeks of 40% alcohol ingestion and 12 weeks of 10% alcohol ingestion no immunoglobulin deposition was observed but mild albuminuria (+1) and urinary protein 30 mg/dl to 100 mg/dl were found in two of these animals. In this experimental study of animal models, chronic alcohol ingestion is clearly linked to renal disease even in the absence of liver cirrhosis. In alcoholic rats the mucosa of the small intestine revealed short and blunt villi with sloughing off of the surface epithelial cells and an increased infiltration of plasma cells in the lamina propria. It is assumed that the mucosal inflammation may result in disturbances of the intestinal immune barrier and then promotes abnormal absorption of macromolecules which stimulate plasma cells in the lamina propria to produce IgA. The small intestine of rats given 40% alcohol for 8 weeks stained with FITC Goat Anti-rat IgA revealed an increased number of IgA positive cells, presumable plasma cells, in the lamina propria compared to that of the 10% alcohol group or the control rats on immunofluorescence microscopy. This fact suggests that an increased number of plasma cells pathologically responded to an abnormal alimentary antigen by the defense mechanism system and clearly participated in an excessive production and secretion of IgA. These excessively produced IgA are combined with antigen of alimentary origin and produce IgA containing immune complexes which enter directly into the circulation resulting an elevated IgA immune complex in the blood. There will be more IgA present in the liver; depending on the capacity of the liver to sequester or clear this increased supply, and elevated IgA immune complex levels occur in the circulation. In this study the liver revealed only a mild fatty change, which may render the saturation of Kupffer cells but there is no evidence of impairment in the clearing function according to an ultrastructural base. In the clearance of IgA-containing immune complexes, the mononuclear phagocyte system is important and an alcohol induced impaired hepatic immune complex clearance system might also contribute to an IgA increase. Therefore, the initiative point of the pathogenesis of the alcohol induced IgAN is an alimentary

antigen, abnormally absorbed by altered intestinal mucosa induced by alcohol. The first step is a pathological response of plasma cells to the antigen enhancing synthesis of polymeric IgA which are combined with the antigen of alimentary origin and produce IgA containing immune complex. The second step is that these excessively produced IgA immune complexes enter directly into the circulation resulting in an elevated serum IgA immune complex which is eventually deposited in the mesangium of glomeruli. On the basis of this experimental study, it can be postulated that alcohol induced IgAN explained by the mechanism of a possible immune complex-mediated disease.

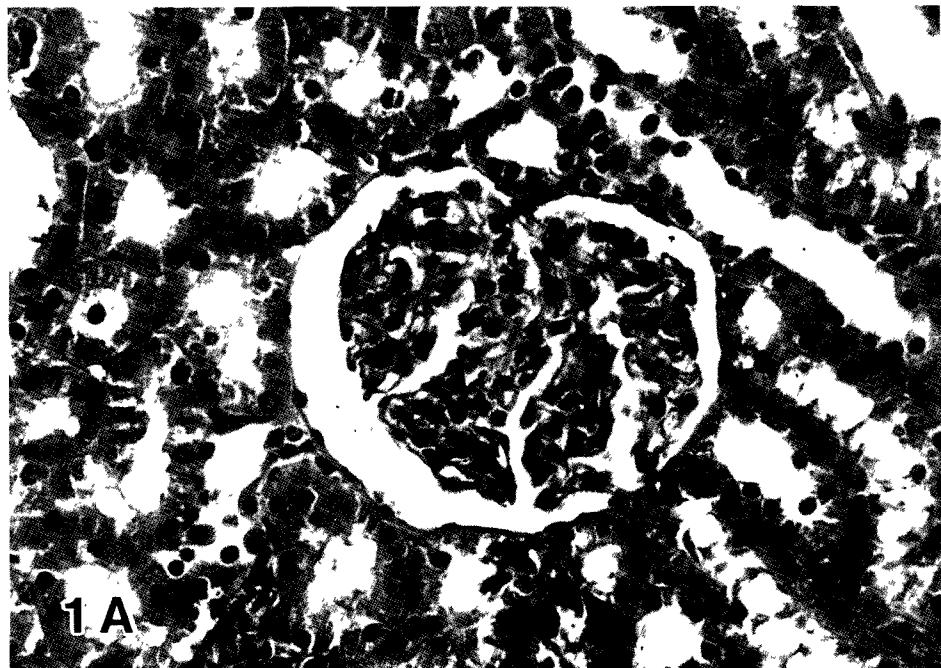
Key Words : Alcohol abuse, Damage of enterocyte, IgA nephropathy, Increased serum IgA, Synthesis of IgA.

LEGENDS

- Fig 1A&B. Kidney, rat ingested 40% alcohol for 12 weeks. Completely normal glomerulus is seen by light microscopy (H & E and PAS, $\times 2000$).
- Fig 2A&B. Small intestine, rat ingested 40% alcohol for 12 weeks. Thin mucosa shows short blunt villi with denuded surface epithelium and moderate infiltration of chronic cells, mainly plasma cells in the lamina propria (H & E, $\times 200$).
- Fig 2C&D. Small intestine, control rat. Intact mucosa with well preserved brush border, small number of plasma cells in the lamina propria (H & E, $\times 200$).
- Fig 3. Kidney, rat ingested 40% alcohol for 12 weeks. Moderate mesangial deposition of IgA in an alcoholic rat, (FITC Anti-rat IgA, $\times 250$).
- Fig 4. Kidney, control rat, no evidence of immunoglobulin deposition in the kidney (FITC Anti-rat IgA, $\times 160$).
- Fig 5. Small intestine, rat ingested 40 alcohol for 12 weeks. Intense deposition of IgA in large numbers of cells in the lamina propria forming aggregates, these IgA positive cells are presumably plasma cells (FITC Anti-rat IgA, $\times 160$).
- Fig 6. Small intestine, control rat. Deposition of IgA in smaller numbers of cells compared to Fig. 5 (FITC Anti-rat IgA, $\times 250$).
- Fig 7. Kidney, rats ingested 40% alcohol for 12 weeks. Distinct well defined mesangial electron dense deposits (arrows) in alcoholic rats with IgAN. Foot process fusion is observed in the left lower corner ($\times 8000$).
- Fig 8. Kidney, rat ingested 40% alcohol for 8 weeks. Small poorly defined mesangial electron dense deposits (arrows) in a alcoholic rat with IgAN ($\times 17,000$).
- Fig 9. Kidney, rat ingested 40% alcohol for 8 weeks. Activated mesangial cell, small poorly defined mesangial electron dense deposits (arrows) in alcoholic rat with IgAN ($\times 19,200$).
- Fig 10. Kidney, rat ingested 40% alcohol for 3 days. Unremarkable findings ($\times 6,000$).
- Fig 11. Small intestine, rat ingested 40% alcohol for 12 weeks. The enterocyte in the lower part appears to be electron dense containing bizarre mitochondria, cross sectioned microvilli ($\times 17,000$).
- Fig 12. Liver, rat ingested 40% alcohol for 12 weeks. The cytoplasm of the hepatocyte is filled with large fat droplets (F) and some swollen mitochondria (SM) ($\times 8,500$).

Key for abbreviation

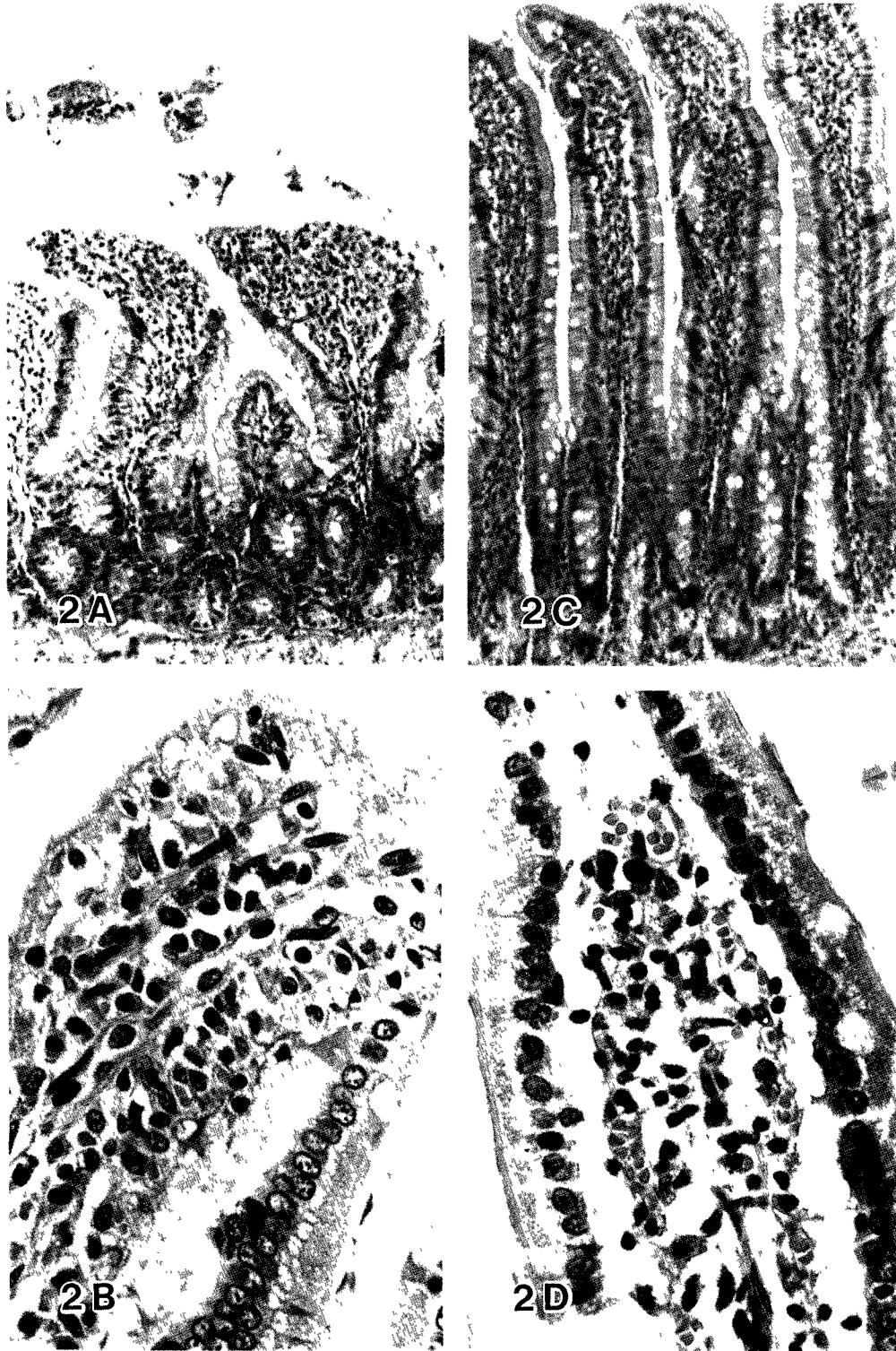
- BM: Basement membrane
En: Endothelial cell
F: Fat droplet
Fp: Foot process
L: Capillary lumen
MC: Mesangial cell
MM: Mesangial matrix
MV: Microvilli
SM: Swollen mitochondria
U: Urinary space
VE: Visceral epithelial cell

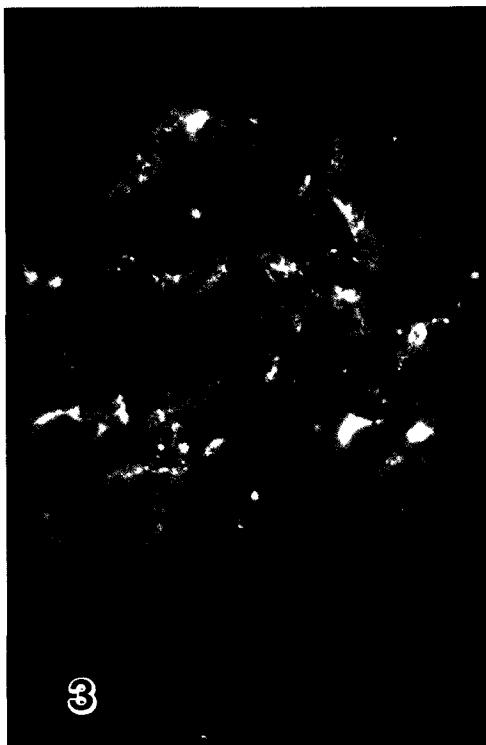


1A



1B

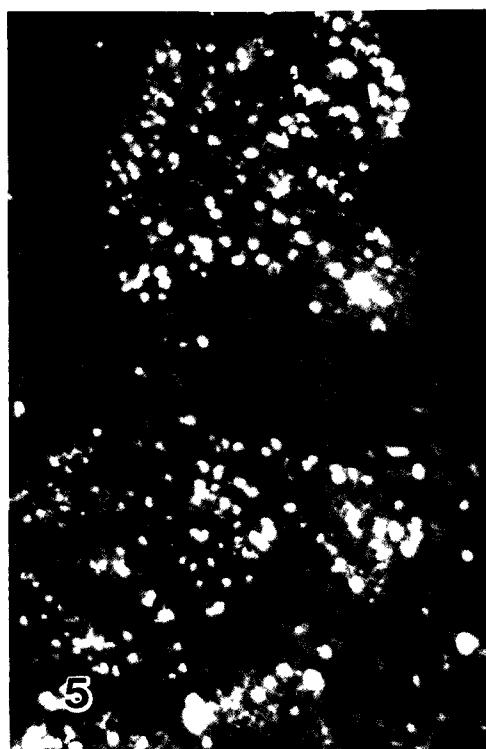




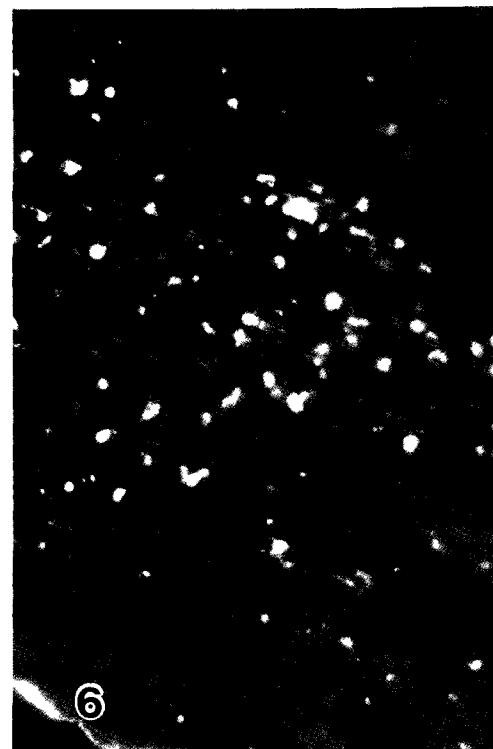
3



4



5



6

