

신아밀로이드증 1예

— 전자현미경 및 면역화학적 소견 —

계명대학교 의과대학 병리학교실

박 관 규 · 권 건 영 · 장 은 숙

내과학교실

박 성 배 · 김 현 철

바이다.

서 론

아밀로이드증은 불용성의 섬유성 단백질이 조직에 침착하여 기능장애를 야기하는 만성 침윤성 질환으로서 비록 아밀로이드증이라는 이름 자체는 초자양 물질의 축적으로 특징지어지는 병리조직학적인 질환이지만 그 질병 과정은 임상적인 소견, 기전, 생화학적, 면역학적 등의 측면에서 보면 아주 다양하다¹⁻⁴⁾. 신장의 아밀로이드증은 거의 전신질환의 한부분이므로 신장에만 국한하지 않고 광범위한 범주의 질환으로 고려되어야 한다.

전신성 아밀로이드증은 아밀로이드 섬유단백의 성분에 따라 만성염증에 2차적으로 동반되는 AA형 아밀로이드증과 면역장애나 가족성 아밀로이드증과 연관된 AL형 아밀로이드증으로 분류될 수 있다. AA형 아밀로이드증은 전신성 아밀로이드증의 가장 흔한 형이며 류마티스 질환은 가장 많은 원인 질환으로 알려지고 있다.

AL형 아밀로이드증은 약 반수가 다발성 골수종과 관계 있으며 그 나머지는 일차적 또는 자연발생적이다. 최근까지 신아밀로이드증의 형태학적 소견, 화학적 종류 그리고 그와 관련된 임상증세 등에 관한 많은 보고가 있어 왔지만⁵⁻⁸⁾ 우리나라의 보고는 별로 많지 않은 실정이다⁹⁻¹²⁾.

이에 저자들은 신증후군으로 계명대 동산의료원 내과에 입원한 26세 남자환자에서 메산지움과 모세혈관벽의 기저막을 주로 침범한 신장 아밀로이드증 1예를 전자현미경 및 면역화학적 소견을 문헌고찰과 함께 보고하는

증 례

병 력 : 환자는 26세 남자로서 7년전에 임상적으로 류마티드 관절염 진단을 받았으며 이후 부적절한 치료를 하면서 지내던중 4개월전에 우연히 단백뇨가 발견되었고 입원 1주일전부터 전신부종이 악화되어 입원하였다. 검사실 소견으로는 단순뇨검사상 단백뇨 3+였고 혈뇨 및 농뇨는 없었으며 24시간 총단백뇨는 22.5 gm, creatinine 청정율 74.4 ml/min였고 혈액생화학적 검사상 혈청 콜레스테롤 657 mg/dl, BUN 10 mg/dl, 혈청 creatinine 0.8 mg/dl, 총단백 3.6 gm/dl, albumin 1.6 gm/dl였다. C3 150 mg/dl, C4 48.7 mg/dl, ASO -, RA test +, CRP -, ANA -, HBs Ag -, VDRL - 였다.

광학현미경적 소견 : 광학현미경적 검색은 파라핀 포매한 조직을 2~3 μ m로 연속 절편하여 hematoxylin-eosin (H & E), periodic acid schiff (PAS), Masson-Trichrome, methenamine silver 염색을 시행하여 관찰하였으며 초자양 아밀로이드가 주로 혈관벽과 사구체에 침착되어 있었다. 사구체에서는 메산지움과 모세혈관의 기저막을 침범하고 있었고 그것들은 주위로 확장되어 결절성 혹은 미만성의 형태를 이루고 있었으며 이것은 당뇨병성 사구체 경화증의 양상과 비슷하게 보였다 (Fig. 1 and 2). 일부의 사구체는 커지고 폐색된 것도 있었다. 수입동맥 및 다른혈관의 벽에도 흔히 아밀로이드의 침착이 관찰되었다. 사구체의 변화와 함께 간질에서도 세뇨관의 위축과 주위의 부분적인 섬유화 및 아밀

*이 논문은 1991년도 계명대학교 유종 연구비로 이루어졌음.

Fig. 1. Amyloid deposits form nodule in the mesangium extending to the capillary wall. $\times 200$, H & E stain.

Fig. 2. Argyrophilic membrane is distinct on the outer aspect of the amyloid. $\times 200$, PAMS stain.

로이드 침착이 관찰되었다. 유리질 원주도 일부 세뇨관에서 관찰되었다. 조직을 Congo red stain한 후 편광현미경으로 관찰하여 apple-green 색의 복굴절이 신사구체, 간질, 혈관벽 및 신세뇨관 기저막을 따라 국소적으로 관찰되었다(Fig. 3).

면역형광학적 소견 : 신장조직을 일부를 드라이 아이스에 넣어 즉시 얼린 후 동결절편해 형광화된 인체의 IgG, IgM, IgA, IgE, C₃, C_{1q}, C₄, fibrin, albumin, kappa, lambda, properdin의 항체로 염색하여 시행하였으며 C₃와 lambda가 약하지만 균일하고 비특이한 침착이 관찰되었고 나머지는 음성으로 나타났다.

면역조직화학적 소견 : Anti-AA와 anti-prealbumin의 두가지 antisera(Dako)를 이용하였다. AA 단백질과 prealbumin은 이미 보고된 방법으로 정제되었으며¹³, PAP 방법을 사용하여^{14,15} anti-AA와 anti-prealbumin 혈청을 1:4000, 1:2000으로 각각 희석하여 시행하였다. 그 결과 anti-AA 혈청에 대하여 양성으로 관찰되었다(Fig. 4).

전자현미경적 소견 : 4°C에 보존된 조직을 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 1~4°C에서 2시간 전고정을 하고 0.1 M phosphate buffer로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후

Fig. 3. Picture photographed in polarizing light shows orange-green birefringence of amyloid. $\times 200$, Congo red stain.

Fig. 4. Immunoperoxidase (PAP) staining with anti-AA serum shows nodular deposits of amyloid in the mesangium and hilar arteriole. $\times 200$.

고정을 한 뒤 같은 buffer 용액으로 세척하여 계열 ethanol로 탈수하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법¹⁶⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C 에서 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μ m 두께로 박절한 후 toluidine blue 염색을 실시하여 관찰 부위를 선택한 다음, Sorvall MT-5000형 ultramicrotome에 Dupont diamond knife를 부착하여 회백색(40~60 nm)의 간섭 색을 나타내는 초박절편을 얻어 grid에 부착시킨 뒤 Watson¹⁷⁾ 및 Reynolds 방법¹⁸⁾에 의한 Uranyl acetate 와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H

-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다. 아밀로이드 원 섬유들은 non branching rod로 구성되어 있으며 주로 메산지움에 침착되어 있고 주위 모세혈관의 기저막으로 확장되어 있었다(Fig. 5 and 6).

고 찰

아밀로이드증 환자에서 신장은 잘 침범되는 장기중의 하나로 알려져 있으며^{19,20)} 그 침착에 관해서도 다양한 보고들이 있는데 Watanabe등⁵⁾은 사구체의 모세혈관벽에 의 침착의 형태에 따라 nodular type과 diffuse type으

Fig. 5. *Electron microscopic finding shows large mass of amyloid in the basement membrane. $\times 10,000$, Uranyl acetate and lead citrate.*

Fig. 6. *Randomly, haphazardly arranged and nonbranching amyloid fibrils are seen. $\times 40,000$, Uranyl acetate and lead citrate*

로 분류하였으며 Dikman등²¹⁾은 사구체에서의 모양에 따라 4 group 즉 segmental, diffuse, nodular, mixed nodular-diffuse로 분류하였다. 또한 드물게 보이는 소견으로 Ansell와 Jocks등²²⁾과 Moorthy와 Burkholdes

등²³⁾은 아밀로이드가 주로 모세혈관 고리를 따라 침착하여 막성사구체신염과 유사한 양상을 보인다고 보고한 바가 있다. 또한 주로 혈관에만 침범한 아밀로이드증도 보고된 바가 있다²⁴⁾. 또한 면역화학적 아밀로이드형과

임상 및 조직학적 소견의 연관성에 대한 보고가 드물게 있는데 이러한 관점에서 Dikman등²¹⁾은 이차성 아밀로이드증때 결정성 양상이 훨씬 많다고 보고하고 있고 KMnO₄ method를 이용하여 Kemeny and Nakamodo등⁷⁾은 AL 아밀로이드증 때 조금 더 미만성 양상을 보인다고 한다. Watanabe등²⁵⁾은 다시 사구체에서의 아밀로이드 침착을 형태학적 특징에 따라 4가지 모양으로 분류하였는데 첫째는 mesangial nodular type (25 예), 둘째는 mesangiocapillary type (19 예), 셋째는 perimembranous type으로 주로 기저막의 상피하 침착 (6 예), 넷째는 hilar type으로 주로 폐문동맥에 침범한다 (11 예)고 보고하면서 mesangiocapillary와 perimembranous type때 AL 아밀로이드가 79%를 차지한다고 하였다. 또한 신증후군때 AL 아밀로이드가 더 흔하게 관찰되었고 이때 조직학적으로는 perimembranous type이 많다고 하였다. 만성 신부전때는 혈관에 아밀로이드 침착이 동반된 mesangial nodular type이 흔하다고 보고하면서 아밀로이드 단백질의 화학적 종류는 형태학적, 임상양상 및 예후와 상당한 연관성이 있다고 하였다. 신아밀로이드증의 초기에는 spotty 또는 segmental로 침범되며²⁶⁾ 경한 아밀로이드증 때의 형태학적 소견은 적은수의 사구체를 가지는 생검조직에서는 진단이 용이하지 않다. Shiiki와 Watanabe 등의 보고로는²⁵⁾ 형태학적 모양과 화학적 종류와의 연관성을 제시하고 있다. Type I mesangial nodular pattern에서는 거의가 AA 단백질이었으며 type III perimembranous pattern은 거의 AL 아밀로이드였다. Type II mesangiocapillary의 mixed pattern때는 AL형이며 type IV hilar pattern때는 AA 아밀로이드였다고 보고하였다. 이러한 형태학적인 다양성과 AA 및 AL 단백질과의 연관성은 Shirahama와 Cohen등²⁷⁾도 보고한 바가 있다. AA 단백질에 비하여 AL 단백질은 사구체에서 좀더 미만성으로 침착된다. Watanabe와 Saniter등⁵⁾에 의하면 AL 단백질은 처음에는 모세혈관 고리의 상피하에 침착되어 점차 메산지움과 모세혈관강으로 확장된다고 하고 있고 또 이형의 아밀로이드는 주위의 메산지움의 침범은 보이지 않는다는 보고도 있다.^{8,28,29)}

이러한 아밀로이드의 침착기전은 아밀로이드 전구물질이 혈류를 따라와서 모세혈관을 통과한 후 상피세포의 lysosomal enzyme과 반응하여 이러한 아밀로이드의 형태로 침착한다고 한다.^{8,28)}

위에서 언급한 바와같이 신증후군때는 AL형의 아밀로이드증이 더 흔하며 이때의 침착은 주로 기저막에 침착된다. 이러한 침착은 기저막에 심한 손상을 초래하고 혈장단백질이 urinary space로 빠져나가게 된다. 또한 혈청단백질의 손실은 아밀로이드 원섬유가 spicules로 배열된 곳을 통해 일어나고 이것은 또한 상피세포의 즉상돌기의 박리와는 필수적으로 연관되어 있다.^{29,30)} 이에 관한 연구는 Watanabe등⁵⁾과 Mackensen등³¹⁾에 의한 사구체에서의 아밀로이드 침착의 양은 혈청 creatinine의 증가와 관련되어 있다는 보고와도 일치된다. 또한 신부전 및 신손상은 type I 때 더 흔하게 발생되고 사구체 아밀로이드의 침착범위는 혈관의 아밀로이드와 밀접한 관계가 있는데 이것은 혈청 creatinine 농도와 간질성 섬유화와의 밀접한 관계가 있다. Mackensen등³¹⁾은 생물형태측정기법을 이용한 연구에서 신부전은 아밀로이드 뿐만 아니라 간질성 섬유화의 결과로 초래된다고 하였고 혈관 아밀로이드의 정도와 간질성 섬유화는 신부전으로의 진전 비율과 연관된다고 하였다. 즉 혈관벽의 아밀로이드 침착으로 인한 폐색이 국소빈혈을 초래하고 섬유화와 신원의 손실을 초래한다³²⁾. AL 아밀로이드증에 비교해서 AA 아밀로이드증때 혈관벽에 침착이 훨씬 잘 일어난다는 보고가 있으며^{24,33)} 또한 일차성 및 골수종과 연관된 아밀로이드증때 혈관을 더 잘 침범 한다는 보고도 있다²⁶⁾. Falck등²⁴⁾은 이차성 아밀로이드증이 사구체에는 거의 침착이 없이 혈관벽에만 침착이 있으면서 신부전으로 진행된 사례들을 보고 하였다. 그렇지만 신기능의 부전은 사구체, 혈관 및 간질의 복합된 요인으로 생각되어진다.

이상에서 본바와 같이 신아밀로이드증에 관해 종합적으로 혹은 실험적으로 검색한 보고가 아주 다양하나 우리나라에서의 보고가 드문 것은 신장의 아밀로이드증의 예가 실제로 아주 적거나 아니면 이 질환에 대한 관심이 나 이해의 부족이 아닌가 사료된다.

결 론

본 저자들은 4개월간의 단백질과 일주일간의 전신부종으로 입원한 환자에서 신생검을 실시하여 광학현미경, 전자현미경 및 면역조직화학적 검사에서 AA형의 아밀로이드증으로 판명된 전형적인 1예를 경험하였기에 문헌고찰과 더불어 보고하는 바이다.

— Abstract —

Renal amyloidosis (a case report)

—Ultrastructural and immunohistochemical finding—

**Kwan Kyu Park, M.D., Kun Young Kwon, M.D.
and Eun Sook Chang, M.D.**

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

Sung Bae Park, M.D. and Hyun Chul Kim, M.D.

Department of Internal Medicine

A case of a 26 year old man who was found to have renal amyloidosis is reported. The patient was admitted to the Keimyung University Medical Center in April 1990 for evaluation of edema and proteinuria of 4 months duration. Seven years earlier, at the age of 19, he was transiently treated under the clinical impression of rheumatoid arthritis at the private clinic. Renal biopsy was performed after admission.

The light microscopic finding showed hyaline deposits extending from the mesangium to the capillary wall in the hematoxylin and eosin stain. Congo red stain in polarized light showed orange-green birefringence of amyloid. Using the PAP method, nodular deposits of amyloid in the mesangium and hilar arteriole are stained positively with anti-AA serum. Electron microscopic finding showed randomly arranged and nonbranching fibrillary rods in the mesangium and basement membrane.

REFERENCES

- 1) Linke RP, Huhn D, Casanova S, Donini U: *Methods in laboratory investigation: Immunoelectron microscopic identification of human AA-type amyloid: Exploration of various monoclonal AA-antibodies, methods of fixation, embedding and of other parameters for the protein-A gold method. Lab Invest* 61:691, 1989
- 2) Donini U, Casanova S, Zucchelli P, Linke RP: *Immunoelectron microscopic classification of amyloid in renal biopsies. J Histochem Cytochem* 37:1101, 1989
- 3) Shiiki H, Shimokama T, Yoshikawa Y, et al:

- Perimembranous-type renal amyloidosis: A peculiar form of AL amyloidosis. Nephron* 53:27, 1989
- 4) Noel LH, Droz D, Ganeval D: *Immunohistochemical characterization of renal amyloidosis. J Clin Pathol* 87:756, 1987
- 5) Watanabe T, Saniter T: *Morphological and clinical features of renal amyloidosis. Virchows Arch[A]* 366:125, 1975
- 6) Dikman SH, Churg J, Kahn T: *Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. Hum Pathol* 12:160, 1981
- 7) Nakamoto Y, Hamanaka S, Akihama T, et al: *Renal involvement patterns of amyloid nephropathy: A comparison with diabetic nephropathy. Clin Nephrol* 22:188, 1984
- 8) Nolting SF, Campbell WG Jr: *Subepithelial argyrophilic spicular structures in renal amyloidosis-an aid in diagnosis. Hum pathol* 12:724, 1981
- 9) 고행일, 김명진, 강영석, 김철수, 이현순: 원발성 유전분증 (I예보고). *대한신장학회잡지* 1:61, 1982
- 10) 노임환 외 8인: 신증후군을 동반한 유전분증. *대한신장학회잡지* 6:167, 1987
- 11) 오하영 외 7인: 신유전분증. *대한내과학회잡지* 26:530, 1983
- 12) 이인규, 박성배, 정명천, 김현철: 원발성 유전분증 1예. *제명의대논문집* 3:125, 1984
- 13) Kitamoto T, Tashima T, Tateishi J: *Novel histochemical approaches to the prealbumin-related senile and familial forms of systemic amyloidosis. Am J pathol* 123:407, 1986
- 14) Kitamoto T, Ogomori K, Tateishi J, Prusiner SB: *Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. Lab Invest* 57:230, 1987
- 15) Fujiwara S, Balow JE, Costa JC, Glenner GG: *Identification and classification of amyloid in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections by the unlabeled immunoperoxidase method. Lab Invest* 43:358, 1980
- 16) Luft JH: *Improvement in epoxy resin embedding method. J Biophysic Biochem Cytol* 9:409, 1961
- 17) Watson ML: *Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J Biophysic Biochem Cytol* 226:475, 1958
- 18) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol* 17:208, 1963
- 19) Brandt K, Cathcart ES, Cohen AS: *A clinical analy-*

- sis of the course and prognosis of forty-two patients with amyloidosis. *Am J Med* 44:955, 1968
- 20) Cohen AS: Amyloidosis. *N Engl J Med* 277:522, 628, 1967
- 21) Dikman SH, Churg J, Kahn T: Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. *Hum Pathol* 12:160, 1981
- 22) Ansell ID, Jockes AM: Spicular arrangement of amyloid renal biopsy. *J Clin Pathol* 25:1056, 1972
- 23) Moorthy AV, Burkholder PM: Unusual appearance of amyloid in renal biopsy specimen. *Arch Pathol Lab Med* 101:664, 1977
- 24) Falck HM, Törnroth T, Wegelius O: Predominantly vascular amyloid deposition in the kidney in patients with minimal or no proteinuria. *Clin Nephrol* 19:137, 1983
- 25) Shiiki H, Shimokama T, Yoshikawa Y, et al: Renal amyloidosis; Correlations between morphology, chemical types of amyloid protein and clinical features. *Virchows Arch [A]* 412:197, 1988
- 26) Hill GS: Multiple myeloma, amyloidosis, Waldenström's macroglobulinemia, and benign monoclonal gammopathies. In: Heptinstall RH (ed). *Pathology of the kidney*. Third edition, Little, Brown and Co, Boston/Tronto P993, 1983
- 27) Shirahama T, Cohen AS: Fine structure of the glomerulus in human and experimental renal amyloidosis. *Am J Pathol* 51:869, 1967
- 28) Gise HV, Christ H, Bohle A: Early glomerular lesions in amyloidosis. Electronmicroscopic findings. *Virchows Arch [A]* 390:259, 1981
- 29) Katafuchi R, Taguchi T, Takebayashi S, Harada T: Proteinuria in amyloidosis correlates with epithelial detachment and distortion of amyloid fibrils. *Clin Nephrol* 22:1, 1984
- 30) Gise HV, Mikeler E, Gruber M, Christ H, Bohle A: Investigations on the cause of the nephrotic syndrome in renal amyloidosis. A discussion of electron microscopic findings. *Virchows Arch [A]* 379:131, 1978
- 31) Mackensen S, Grund KE, Bade R, Bohle A: The influence of glomerular and interstitial factors on the serum creatinine concentration in renal amyloidosis. *Virchows Arch [A]* 375:159, 1977
- 32) Brandt K, Cathcart ES, Cohen AS: A clinical analysis of the course and prognosis of forty-two patients with amyloidosis. *Am J Med* 44:955, 1968
- 33) Iwata T, Ishihara T: Pathological observation of AA and AL amyloidosis. *Pathol and Clin Med* 3:141, 1985