

# 실험적 IgA 신병증에 관한 초미형태학적 연구

제명대학교 의과대학 병리학교실, 내과학교실\*

박관규 · 최정규\* · 김현철\*

## 서 론

IgA 신병증은 현재 원발성 사구체 질환증 전세계적으로 가장 빈도가 높은 신질환의 하나로서<sup>1-3)</sup> 임상적으로 반복되는 혈뇨를 특징으로 하며 면역형광검사상 사구체간질(mesangium)에 IgA의 침착을 특징으로 하는 질환이다. 1968년에 Berger 등<sup>4)</sup>이 이 질환을 처음 보고한 이래 많은 임상적 및 병리학적 연구가 진행되어 왔으나 아직도 이 질환의 발생기전에 관하여서는 정확히 밝혀져 있지 않으며 단지 혈액중에 IgA 면역복합체의 상승<sup>5)</sup>, IgA 생성 립포구 수의 증가<sup>6)</sup>, IgA 특이성 억제 T-세포의 활성도 감소<sup>7)</sup>, IgA 중합체의 증가<sup>8)</sup>, 다형핵백혈구의 탐식능저하<sup>9, 10)</sup>, 그리고 세망내 피계의 이상 기능<sup>11)</sup> 등 여러 가설들이 보고되고 있다. 그러나 면역형광검사와 최근 면역전자현미경적 기법을 이용한 IgA 침착의 확인<sup>12-14)</sup> 등은 비록 이러한 물질의 침착기전 및 진행 과정에 대한 상세한 기전은 아직 잘 밝혀져 있지 않더라도 이 질환이 면역복합체에 의해 매개되는 질환이라는 사실을 시사하고 있다.

최근에는 이 질환의 전자현미경적 소견들에 관하여 여러 각도에서 많은 연구가 이루어져 왔다. 이들 연구 중 중요한 소견으로는 면역복합체의 내피하 및 상피하 침착<sup>15-19)</sup>, 기저막의 변화<sup>20-24)</sup>, 사구체간질의 용해<sup>25)</sup> 및 사구체간질의 삽입(mesangial interposition)<sup>20, 26)</sup> 등이며 국내에서는 Lee 등<sup>27)</sup>에 의해 1989년에 보고된 바가 있다. 또한 IgA 신병증의 중요한 특징 중의 하나인 육안 및 현미경적 혈뇨는 사구체 기저막의 부분적인 파괴나 불연속성<sup>28, 29)</sup>, 혹은 기저막에서의 음이온 부위의 소실<sup>30)</sup>과 관련이 있다는 보고가 있으며, 또 한편으로는 사구체간질의 보체침착이 혈뇨의 원인이 된다는 보고도 있다<sup>31)</sup>.

사구체에서의 음이온 부위는 기저막에 존재하는 heparan sulfate가 풍부한 proteoglycan과 상피세포

표면에 존재하는 sialoprotein으로 구성되어 있으며<sup>32, 33)</sup> 이들 음이온 부위는 혈장단백질 분자의 사구체여과에 대해 선택적인 전하장벽으로 작용한다<sup>34, 35)</sup>. 음이온 부위의 소실은 인체에서 미소변화형 신증후군 및 선천성 신증후군에서 보고되고 있으며<sup>36-39)</sup>, 최근 특발성 막 성사구체 신염<sup>40)</sup> 및 IgA 신병증<sup>30)</sup>에서도 보고되고 있다.

IgA 신병증을 유발시키는 동물실험에 관해서는 앞에서 언급한 IgA 신병증의 발생기전에 관한 가설들에 기초를 둔 여러 보고들<sup>7, 41, 42)</sup>이 있지만 아직 만족스런 실험적 모형이 제시되고 있지 않은 실정이다.

이에 저자는 상기한 문헌적 지견을 기초로 하여 생쥐에서 IgA 신병증을 유발시킨 뒤, 그 조직학적 변화를 관찰하고 면역형광 및 투과전자현미경검사를 통한 IgA의 침착을 확인하며 사구체간질 및 기저막의 초미형태학적 소견과 음이온 부위의 변화를 관찰해 보고자 본 실험을 계획하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 동물

생후 6주된 체중 약 20~30g되는 ICR 생쥐 72마리를 대조군 및 실험군의 재료로 사용하였다.

대조군 : 정상식이만을 투여한 군(12마리)

실험군 I : Bovine gamma globulin(BGG)을 경구 투여 한 군(30마리)

실험군 II : 소아마비 생백신을 경구 투여 한 군(30마리)

BGG는 식수 1ml 당 1mg 농도로 섞어 매일 섭취시켰으며, 소아마비 생백신(Polyoral, 동신제약, 서울)은 일회 0.2ml씩 실험 제 1일에 경구 투여한 후 제 41 및 71일에 추가로 경구 투여하였다.

BGG 투여군 및 소아마비 생백신 투여군 모두 제 40, 70 및 100일째에 에테르 마취하에 복부를 절개한 다음 신장을 적출하였다.

BGG 투여군 및 소아마비 생백신 투여군 모두 제40, 70 및 100일째에 에테르마취하에 복부를 절개한 다음 신장을 적출하였다.

1) 광학현미경적 관찰: 적출된 신장조직을 10% 중성 포르말린에 고정하고 탈수한 후 침투과정을 거쳐 파라핀 포매를 실시한 후 2~4 μm의 박절편을 만들어 hematoxylin & eosin과 필요에 따라 Masson trichrome, periodic acid-Schiff 및 silver염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 면역형광현미경적 관찰: 면역형광조직 검사를 위하여 신장조직을 즉시 동결하여 동결절편기로 2~3 μm 두께로 박절하여 공기중에 건조시키고 인산완충액(phosphate buffered saline, PBS, pH 7.4)으로 세척한 후 신장은 fluorescein isothiocyanate (FITC) goat anti-mouse IgA(Biodesign, U.S.A.)를 사용하여 사구체내의 IgA 침착을 Leitz-Diplan (Leitz, Germany) 면역형광현미경으로 관찰하였다.

3) 투과전자현미경적 관찰: 투과전자현미경용으로 제공된 신장조직 절편을 1mm<sup>3</sup>의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 1~4°C에서 2시간 전 고정을 하고 0.1 M PBS로 세척한 후 1% OsO<sub>4</sub>용액에 2시간 후 고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척하여 계열에탄올로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 후 Luft방법<sup>43)</sup>에 의한 epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μm 두께로 박절하여 toluidine blue염색을 하여 관찰 부위를 결정한 다음 초박절은 Sorvall MT 5000형 초박절기에 Dupont 다이아몬드 칼을 부착하여 회백색(40~60 nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻어서 grid에 부착하여 Watson<sup>44)</sup> 및 Reynolds방법<sup>45)</sup>에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-600 투과전자현미경으로 관찰하였다.

4) 음이온 부위관찰: Okada 등<sup>40)</sup>의 방법에 따라 0.5mm<sup>3</sup>로 세절된 신장조직을 1~4°C에서 8.5% sucrose를 포함하는 0.5% polyethyleneimine(PEI) 용액(Sigma, U.S.A., pH 7.4)에 30분간 담근 후 역시 8.5% sucrose를 함유하는 0.1 M cacodylate 완충용액(pH 7.4)에 10분간격으로 3회 세척하고 8.5% sucrose를 함유하는 2% phosphotungstic acid-

0.1% glutaraldehyde 혼합액(pH 7.4)에 1시간 동안 담근 다음 다시 0.1 M cacodylate 완충용액에 10분 간격 3회 세척하였다. 다음에 실온에서 0.1M cacodylate 완충용액으로 만든 2% OsO<sub>4</sub> 용액에 2시간 후 고정시킨 후 계열에탄올로 탈수시키고 epon 혼합물에 포매한 후 투과전자현미경적 관찰을 위한 통상적인 과정을 거쳐 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시한 후 Hitachi H-600 투과전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 광학현미경적 소견

면역형광현미경상에서 IgA가 침착된 생쥐의 사구체를 대상으로 한 광학현미경적 소견은 대체로 사구체 간질 및 혈관간세포의 수가 증가되어 있었으며(Fig. 1, 2), IgA 신병증 때 흔히 관찰되는 crescent 형성이나 사구체 경화등은 관찰되지 않았다.

### 2. 면역형광현미경적 소견

IgA에 대한 면역형광검사상에서 BGG 투여 후 40일 군에서는 10마리 중 8마리, 70일 군에서는 10마리 중 8마리, 100일 군에서는 10마리 모두에서 IgA의 침착이 관찰되어 전체 30마리 중 26마리(86.7%)에서 IgA의 침착이 확인되었으며, 소아마비 생백신 투여 후 40일 군에서는 8마리 중 6마리, 70일 군에서는 10마리 중 9마리, 100일 군에서는 6마리 모두에서 IgA 침착이 관찰되어 전체 24마리 중 21마리(87.5%)에서 IgA 침착이 확인되었고 6마리는 실험중 사망하였다 (Table 1). IgA의 침착 양상은 주로 사구체간질을 중

Table 1. Glomerular IgA Deposits in Experimental IgA Nephropathy Model of Mice

	40d n/N(%)	70d n/N(%)	100d n/N(%)	Total n/N(%)
Group I	8/10(80)	8/10(80)	10/10(100)	26/30(86.7)
Group II	6/ 8(75)	9/10(90)	6/ 6( 90)	21/24(87.5)

d: days,

n: number of positivity,

N: number of examination,

Group I: bovine gamma globulin,

Group II: polio vaccine

심으로 관찰되었으며(Fig. 3) 일부에서는 모세혈관 기저막으로 확장되는 양상을 나타내었다(Fig. 4).

### 3. 투과전자현미경적 소견

대부분의 예에서 면역복합체는 사구체간질 또는 부사구체간질(paramesangium)에 침착되었고(Fig. 5), 그중에서도 사구체간질의 기저막에 면역복합체의 침착이 관찰되었다(Fig. 6). 모세혈관 기저막에서의 면역복합체는 내피하(Fig. 7) 및 기저막내(Fig. 8)에 침착되었다. 내피세포는 주로 사구체간질을 덮고 있는 부위를 중심으로 변화가 일어나서 부종으로 인해 창구조(fenestration)가 격자 모양을 취하거나(Fig. 9), 소실되면서 사구체간질로 부터의 박리가 일어나기도 하였다(Fig. 10). 사구체간질의 변화는 혈관간세포와 기질의 변화로 구분되어 혈관 간세포의 비가역적 변화인 핵의 위축이 초래되기도 하였고(Fig. 11), 기질의 용해로 인해 심한 경우 인접한 두개의 모세혈관이 서로 융합되어 하나로 합쳐지는 소견까지 관찰되었다(Fig. 12). 기저막은 분열되거나, 기저막 사이에 사구체간질의 삽입이 관찰되기도 하였으며(Fig. 13, 14), 심한 경우 기저막을 덮고 있는 죽세포의 부종과 함께 이들 죽세포가 기저막에서 박리되며, 기저막은 얇아지고 심한 경우 파열되기도 하였다(Fig. 15, 16).

### 4. 음이온 부위의 전자현미경적 소견

대조군에서의 음이온 부위는 기저막을 따라 분포되는데(Fig. 17), 기저막 중에서도 기저막외측판(lamina rara externa)에는 PEI 입자의 크기가 비교적 크며 규칙적으로 분포되었고, 기저막내측판(lamina rara interna)에는 입자의 크기는 기저막외측판의 그것과 비슷하나 불규칙적으로 분포하였으며, 치밀판(lamina densa)에는 PEI 입자의 크기가 매우 작게 산재되어 있었다(Fig. 18). 사구체간질에의 음이온 부위는 매우 불규칙적으로 기저막위에 분포해 있었다. 실험군에서의 음이온 부위의 분포는 면역복합체가 침착되지 않은 부위의 PEI 입자는 대조군과 유사하게 관찰되나 면역복합체가 침착된 부위에서의 PEI 입자는 기저막 및 사구체간질 모두에서 현저한 소실이 관찰되었다(Fig. 19, 20).

## 고 칠

IgA 신병증은 현재 원발성 사구체질환 가운데 단일 신질환으로는 전세계적으로 가장 빈도가 높은 질환의 하나로서 말기 신부전증의 중요한 원인이 되고 있다<sup>46-48)</sup>. 이 질환의 빈도는 지역, 인종에 따라 또는 보고자에 따라 1.5%에서 43%까지<sup>1, 49)</sup> 매우 다양하게 나타나며 그 이유는 신생검 환자의 선택에서의 차이점이든지<sup>48, 50, 51)</sup> 또는 인종간의 유전적인 차이점에서 연유되는 것으로 생각된다. 후자의 경우 혼인에서는 발생빈도가 낮으며<sup>52)</sup>, 미국의 인디언이나<sup>53)</sup> 아시아계 인종에서는 매우 높은 것으로<sup>27, 49, 54)</sup> 알려져 있다. 국내의 보고로는 7.2%에서 27.8%까지 보고되고 있다<sup>2, 3)</sup>.

실험적 IgA 신병증에 관해서는 Rifai 등<sup>61)</sup>이 IgA가 사구체간질에 침착되는 것을 처음 확인하였으며, 그후 Isaacs 등<sup>62)</sup>이 텍스트란 황산염(dextran sulfate)을 복강내 주사하여 사구체간질내의 IgA 침착을 확인하였다. 그러나 이러한 초기의 실험적 연구에서는 극히 일부에서만 IgA 침착을 확인하였을 뿐 진정한 의미의 IgA 신병증으로 보기에는 좋은 방법이 아닌 것 같다. 그후 Emancipator 등<sup>41)</sup>이 난알부민(ovalbumin), bovine-γ-globulin, horse spleen ferritin 등의 항원을 경구투여하는 방법으로 전자현미경상 소량의 사구체간질내 면역침착을 확인하는 등 비교적 우수한 성적을 얻었다. 그리고 실험적 간경화증이나 담관결찰 등<sup>63, 64)</sup>의 방법도 시도되고 있다. 이러한 다양한 시도들은 IgA 신병증의 원인이나 기전과 관련된 혈액증의 면역복합체의 상승<sup>5)</sup>, IgA 생성 림프구 수의 증가<sup>6)</sup>, IgA 특이성 억제 T세포의 활성도 감소<sup>7)</sup>, IgA 중합체의 증가<sup>8)</sup>, 다형핵백혈구의 탐식능 저하<sup>9, 10)</sup>, 그리고 세망내피계의 이상기능<sup>11)</sup> 등의 가설들에 그 기초를 두고 있다. Imai 등<sup>65)</sup>은 ddY 생쥐에서 연령이 증가될수록 특발성 사구체 IgA 침착이 빈번함을 보고하면서 이 생쥐는 선천적으로 retrovirus에 감염되어 유방암 및 림프종양이 발생되고 이로 인해 이차적으로 사구체에 IgA가 침착되었다고 하였다. 이러한 면역침착의 원인은 다크론 B 세포의 활성화, 부적절한 면역조절 기능 또는 바이러스나 종양관련항원으로 구성된 면역복합체에 의해 초래된다고 하나 아직 정확한 원인은 규명되지 않은 상태이다. 인체의 IgA 신병증의 추적

신 생검에서 극히 일부를 제외한 거의 전예에서 지속적인 사구체간질의 IgA 침착이 보고되고 있다<sup>54)</sup>. 이러한 현상들은 항원의 흡입에 의한 위장관 점막의 감작에 의해 유발되는 것으로 생각되어 진다. 즉 IgA 신병증의 발병은 유전적 요인의 동반과 함께 IgA의 지속적이고 과잉적인 생산과 세망내피계 기능의 감소가 수반되어야 한다는 것을 의미한다.

IgA 신병증의 전자현미경적 소견에 대해서는 이미 많은 문헌보고가 되어있다<sup>15, 20, 21, 23, 66, 67)</sup>. 이들 보고에 의하면 사구체간질 및 부사구체간질에 면역복합체 침착이 90% 정도에서 관찰되고 있으며 사구체간질의 기질 또한 증가된 경우가 보통이다. 20~30% 정도에서는 상피하 면역침착이 관찰되었으며 약 10% 정도에서는 내피하 면역침착이 관찰되고 그 보다 빈도는 적지만 기저막내 침착이 관찰되기도 한다. 보고자에 따라서는 모세혈관벽에는 면역침착이 없다고도 하나<sup>25)</sup> 본 실험에서는 내피하 침착 및 기저막내 침착이 관찰되었으며 hump와 같은 상피하 침착은 관찰되지 않았다. 사구체간질은 흔히 회박해지거나 기질의 용해, 교원질 원섬유의 축적등이 동반되기도 하며 혈관간세포의 수는 증가되지만 경화에 의해 위축이 초래되는 것이 보통이다<sup>21, 25)</sup>. 본 실험에서도 사구체간질에서의 변화는 면역복합체의 침착은 물론이고 기질의 용해와 더불어 혈관간세포의 위축등 비가역적 변화가 발생되었으며 심한 경우 완전한 사구체간질의 용해로 인해 주위의 모세혈관들이 서로 융합되는 경우까지 관찰되었다. 따라서 이러한 사구체간질의 변화는 다른 메산지움 사구체신염과의 감별을 어렵게 하거나 또는 아예 메산지움 증식성 사구체신염이라고 분류되기도 하는 이유이다. 사구체 모세혈관벽의 변화, 특히 치밀판의 변화는 그것들이 Alport 신염으로 대표하는 유전성 혈뇨의 그 것과 매우 유사하다고 보고되기도 하였다<sup>21)</sup>. 따라서 IgA 신병증에서의 혈뇨 또한 이와 동일한 맥락에서 이해될 수 있을 것이다.

혈뇨는 IgA 신병증의 가장 흔한 임상적 소견이지만 그 원인은 아직 밝혀져 있지 않다. 사구체간질에 침착된 보체가 혈뇨의 발생과 관계가 있다는 보고가 있으며<sup>31)</sup>, 특히 IgA 신병증에 사구체간질에 C3 침착이 있는 경우의 90%에서 혈뇨가 발생됨이 보고되기도 하나<sup>66)</sup> 그 정확한 기전은 아직도 잘 알려져 있지 않다. 그러나 사구체간질에 면역복합체의 침착이 있을

때 혈뇨가 잘 동반되듯이 혈관간세포는 사구체신염의 발생에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고<sup>68)</sup>, 최근의 연구에 의하면 보체와 혈관간세포의 상호 작용에 의해 초래되는 국소매개체들인 반응기 산소, eicosanoids, interleukin-1들이 사구체 기능에 영향을 주어 적혈구들의 누출을 초래한다고도 하나<sup>31)</sup>, 여기에 관한 상세한 기전이나 또는 IgA 신병증때의 보체와의 상관관계등은 추후 더 연구되어야 할 과제로 생각된다. 많은 연구에서 적혈구가 기저막의 틈(gap)을 통해 통과되는 소견이 기술되어 있고 삼출성 변화를 동반한 기저막의 틈이 IgA 신병증에서 보고되기도 하여 기저막의 틈이 혈뇨의 가장 가능성 있는 원인으로 생각되고 있다<sup>69-72)</sup>. 기저막의 틈이 초래되는 원인에 대해서는 기저막이 얇아지거나 분열에 의해서 또는 모세혈관벽에 면역복합체의 침착이 거론되기도 한다<sup>69)</sup>. 이러한 기저막의 틈은 상피세포 혹은 내피세포에 의해 복구되거나<sup>69)</sup> 본 실험의 경우처럼 모세혈관벽의 파열이 초래되기도 한다. 한편 이 틈에 의해 사구체 기저막의 파열이 초래되어 이 파열된 기저막을 통해 섬유소 혹은 섬유소원이 Bowmann씨 공간으로 빠져나와 crescent 형성이 된다는 보고도 있으며<sup>73, 74)</sup> 따라서 혈뇨가 있는 환자에서 crescent 형성이 더 흔하다고도 한다<sup>60)</sup>. 본 실험에서 사구체 기저막의 틈은 관찰되지 않았으나 죽세포의 박리와 기저막의 파열이 관찰되어 이로 인해 혈뇨가 초래되었을 가능성이 있다.

이 질환에서 면역물질의 침착은 주로 사구체간질에서 관찰되나 간혹 모세혈관벽을 따라 확장되기도 하며 이 경우 단백뇨 유발 및 이 질환의 진행과 관련성이 있는 것으로 알려져 있다<sup>54-56)</sup>. IgA 신병증에서 단백뇨의 원인으로는 상피세포의 장애를 포함한 사구체 기저막의 변화, 즉 기저막이 부분적으로 얇아지거나, 분열 혹은 용해 등은 흔히 거론되지만<sup>23)</sup> 주된 원인은 상피세포의 장애중에서도 죽세포의 박리라고 주장되기도 한다<sup>57)</sup>. 본 실험에서도 전자현미경상에서 사구체 기저막의 일부가 매우 얇아져서 파열되기 직전의 기저막이 관찰됨과 동시에 그 부위의 죽세포는 기저막으로부터 박리되어 그러한 가능성을 시사해 주고 있다.

Okada 등<sup>30)</sup>은 면역복합체가 침착된 부위와 사구체 음이온 부위의 변화와의 상관관계, 기저막의 형태학적 변화 및 단백뇨와의 관계를 기술하였다. 심한 단백뇨

를 가진 환자에서 흔히 관찰되는 면역복합체의 상피하 침착은 기저막외측판과 상피표면외막(epithelial surface coat)의 음이온 부위의 소실과 밀접한 관계가 있다고 하였고, 내피하 면역침착은 사구체 기저막의 음이온 부위와 큰 관련성은 없다고 하였으나, 모세혈관벽에의 면역침착은 IgA 신병증에서 단백뇨 유발에 중요한 인자가 된다고 하였다. 이와 관련하여서는 여러 초미형태학적 연구<sup>58, 59)</sup>에서 상피하 면역침착이 있는 IgA 신병증의 경우 알부민, catalase와 ferritin등의 음전하된 단백질들은 사구체 기저막을 통과하여 투과된다고 하였다. 모세혈관 기저막의 형태학적 변화, 즉 분열되어 있거나 부분적으로 얇아진 경우에 대해서도 보고가 있어왔지만<sup>21, 23, 60)</sup> 그 병인론적 역할에 대해서는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다.

Okada 등<sup>30)</sup>은 사구체 기저막이 얇아지는 것은 기저막외측판과 상피표면외벽에서 음이온 부위의 소실과 관계가 있지만 분열의 경우에는 음이온 부위의 소실이 인지되지 않는다고 하였다. Okada 등<sup>30)</sup>의 신 생검을 대상으로 한 연구에 의하면 음이온 부위는 정상인에서 상피표면외벽, 기저막의 외측판 및 내측판 모두에 분포하나 ICR 생쥐를 대상으로 한 본 실험에서는 PEI 입자가 대조군의 기저막외측판에는 비교적 깊고 규칙적으로 분포해 있었으며, 기저막내측판에는 PEI 입자의 크기는 비슷하나 덜 규칙적이며, 치밀판에는 작은 크기의 PEI 입자가 산재해서 분포해 있었고, 사구체 간질에서의 PEI 입자는 매우 불규칙하게 분포해 있었다.

대조군에서의 이러한 소견들은 Vernier 등<sup>29)</sup>의 결과와 일치하였다. 실험군에서는 전자현미경상에서 면역침착이 있는 부위에서의 음이온 부위는 소실되어 있었으나 그렇지 않은 기저막에서는 음이온 부위의 변화는 관찰되지 않았다. 따라서 IgA 신병증에서 단백뇨의 원인은 아마도 또 다른 기전이 관여될 것으로 생각되며 이부분에서의 추후 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 본 실험에서 음이온 부위의 감소는 내피하 면역침착이 있는 부위나 기저막이 얇아져 있는 부위에서 관찰되었으며, 이로 인하여 모세혈관벽의 음전하를 소실시켜 단백뇨의 배설을 증가시키거나 진행시키는데 관여할 것으로 생각된다.

본 실험에서 내피세포 특히 사구체간질 부위의 내피세포 손상이 현저히 나타났는데 사구체간질은 내피

세포의 창구조를 통해 말초혈액으로부터 특수한 물질이나 체액을 받아들이는 것으로 알려져 있어서<sup>75-58)</sup> 손상된 이 부위를 통해 IgA가 사구체간질에 침착되었을 가능성이 크고 또한 사구체간질은 기저막보다 가수분해에 더욱 민감하다고 알려져 있어서<sup>79)</sup> 본 실험에서의 사구체간질의 변화들을 뒷받침한다.

이상의 성적으로 보아 실험적으로 유발된 생쥐의 IgA 신병증에서 면역복합체는 사구체간질에 주로 침착이 되고 기저막에도 일부 침착되었다. 사구체간질에의 면역침착은 손상된 내피세포를 통해 이루어지는 것으로 보여지고, 기저막의 변화는 면역침착과 함께 얇아지거나, 분열, 사구체간질의 삽입 그리고 심한 경우 파열까지 초래되어 이로 인해 혈뇨가 발생되는 것으로 생각된다. 단백뇨의 원인과 관계있을 것으로 생각되는 음이온 부위의 소실은 기저막의 면역침착에 의해 이차적으로 초래되는 것으로 사료된다.

#### = Abstract =

#### An Ultrastructural Study on the Experimental IgA Nephropathy in Mice

Kwan Kyu Park, M.D., Jung Kyu Choi, M.D.\*  
and Hyun Chul Kim, M.D.\*

Department of Pathology and Internal Medicine\*  
Keimyung University School of Medicine,  
Taegu, Korea

IgA nephropathy was induced in a group of ICR mice by oral administration of bovine gamma globulin(BGG) and polio vaccine to clarify the mechanism of immune complex deposits and hematuria morphologically.

The removed kidneys were investigated by light microscopy, immunofluorescent microscopy and electron microscopy.

By direct immunofluorescence, IgA was detected in 26 out of total 30(86.7%) in BGG group, and 21 out of 24(87.5%) in polio vaccine group. Ultrastructurally, electron dense deposits were noted in mesangium, paramesangium, subendothelium and intramembranous region. Extracellular destruction was expressed as splitting, thinning, eventual rupture of the basement membrane and mesangiolysis. It is assumed that this ruptured basement membrane may result in hematuria due to leakage of red blood cells. The ultrastructural changes of endothelial cells are edema, destruction of the fenestrated structure and

detachment from the mesangial region. Therefore it can be postulated that IgA immune complexes may enter directly into mesangial matrix from capillary lumina through these destructed endothelial cells.

The ultrastructural alterations of glomerular anionic sites were studied using polyethyleneimine (PEI). Prominent common findings in the glomeruli were few PEI particles in electron dense deposits in the mesangial and subendothelial area and marked reduction in glomerular anionic sites covered with deposits. The absence of PEI particle means loss of anionic sites. So it is suggested that the loss of PEI particle is closely related with change of permeability of capillary basement membrane and cause proteinuria.

**Key Words :** IgA nephropathy, Experimental IgA nephropathy, Ultrastructural findings, Anionic sites

### 참 고 문 헌

- 1) Lee SMK, Rao VM, Franklin WA, Schiffer MS, Aronson AJ, Spargo BH, Katz AI: *IgA nephropathy: Morphologic predictors of progressive renal disease*. *Human Pathol* 13:314-322, 1982
- 2) 이영혁, 이재승, 심호식, 김병길, 정현주, 최인준: 소아 IgA 신병증에 관한 임상적 및 조직학적 고찰. *대한신장학회잡지* 5:37-44, 1986
- 3) Lee HS, Koh HI, Park HC: *IgA nephropathy: Analysis of 94 cases emphasizing clinicopathologic correlation*. *Seoul J Med* 23:424-435, 1982
- 4) Berger J, Hinglais N: *Les dépôts intercapillaires d'IgA-IgG*. *J Urol Nephrol* 74:694-695, 1968
- 5) Sancho J, Egido J, Rivera F, Hernando L: *Immune complexes in IgA nephropathy: Presence of antibodies against diet antigens and delayed clearance of specific polymeric IgA immune complexes*. *Clin Exp Immunol* 54: 194-202, 1983
- 6) Nomoto Y, Sakai H, Arimori S: *Increase of IgA-bearing lymphocytes in peripheral blood from patients with IgA nephropathy*. *Am J Clin Pathol* 71:158-160, 1979
- 7) Sato M, Ideura T, Koshikawa S: *Experimental IgA nephropathy in mice*. *Lab Invest* 54:377-384, 1986
- 8) Egido J, Blasco R, Sancho J, Lozano L, Sanchez-Crespo M, Hernando L: *Increased rates of polymeric IgA synthesis by circulating lymphoid cells in IgA mesangial glomerulonephritis*. *Clin Exp Immunol* 47:309-316, 1982
- 9) Sato M, Kinugasa E, Ideura T, Koshikawa S: *Phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes in patients with IgA nephropathy*. *Clin Nephrol* 19:166-171, 1983
- 10) Sato M, Morikawa K, Koshikawa S: *Attachment of polymorphonuclear leukocytes to glomeruli in IgA nephropathy*. *Clin Immunol Immunopathol* 29:111-118, 1983
- 11) Lawrence S, Pussell BA, Charlesworth JA: *Mesangial IgA nephropathy: Detection of defective reticulophagocytic function in vivo*. *Clin Nephrol* 19:280-283, 1983
- 12) Yoshiara S, Yoshikawa N, Matsuo T: *Immunoelectron microscopic study of childhood IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis*. *Virchows Arch [A]* 412:95-102, 1987
- 13) Woodrow DF, Shore I, Moss JILL, Gower P, Phillips M: *Immunoelectron microscopic studies of immune complex deposits and basement membrane components in IgA nephropathy*. *J Pathol* 157:47-57, 1989
- 14) Mathews DC, Bell JA, Dowling JP, Kincaid-Smith PS: *Immunoelectron microscopic localization of glomerular IgA deposits using a protein A-colloidal gold probe*. *Ultrastruct Pathol* 8:43-48, 1985
- 15) Hara M, Endo Y, Nihei H, Hara S, Fukushima O, Mimura N: *IgA nephropathy with subendothelial deposits*. *Virchows Arch [A]* 386:249-263, 1980
- 16) Hattori S, Karashima S, Furuse A, Terashima T, Hiramatsu M, Murakami M, Matsuda I: *Clinicopathological correlation of IgA nephropathy in children*. *Am J Nephrol* 5:182-189, 1985
- 17) Mustonen J, Pasternack A, Helin H, Nikkila M: *Clinicopathologic correlations in a series of 143 patients with IgA glomerulonephritis*. *Am J Nephrol* 5:150-157, 1985
- 18) Yoshikawa N, Ito H, Nakahara C, Yoshiara S, Yoshiya K, Matsuo T, Hasegawa O, Hazikano H, Okada S: *Glomerular electron-dense deposits in childhood IgA nephropathy*. *Virchows Arch [A]* 406:33-43, 1985
- 19) Yoshimura M, Kida H, Abe T, Takeda S, Katagiri M, Hattori N: *Significance of IgA deposits on the glomerular capillary walls in IgA nephropathy*. *Am J Kidney Dis* 9:404-409, 1987
- 20) Clarkson AR, Seymour AE, Thompson AJ, Haynes WDG, Chan Y-L, Jackson B: *IgA*

- nephropathy: A syndrome of uniform morphology, diverse clinical features and uncertain prognosis. *Clin Nephrol* 8:459-471, 1977
- 21) Navas-Palacios JJ, Gutierrez-Millet LV, Usera-Sarraga G, Garzon-Martin A: IgA-nephropathy: An ultrastructural study. *Ultrastruct Pathol* 2: 151-161, 1980
- 22) Southwest Pediatric Nephrology Study Group: A multicenter study of IgA nephropathy in children. A report of the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *Kidney Int* 22:643-652, 1982
- 23) Shigematsu H, Kobayashi Y, Tateno S, Hiki Y, Kuwao S: Ultrastructural glomerular loop abnormalities in IgA nephritis. *Nephron* 30:1-7, 1982
- 24) Yoshikawa N, Yoshiara S, Yoshiya K, Matsuo T: Lysis of the glomerular basement membrane in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis. *J Pathol* 150:119-126, 1986
- 25) Sinniah R, Churg J: Effect of IgA deposits on the glomerular mesangium in Berger's disease. *Ultrastruct Pathol* 4:9-22, 1983
- 26) Sinniah R, Javier AR, Ku G: The pathology of mesangial IgA nephritis with clinical correlation. *Histopathology* 5:469-490, 1981
- 27) Lee HS, Choi Y, Lee JS, Yu BH, Koh HI: Ultrastructural changes in IgA nephropathy in relation to histologic and clinical data. *Kidney Int* 35:880-886, 1989
- 28) Bennet WM, Kincaid-Smith P: Macroscopic hematuria in mesangial IgA nephropathy: Correlation with glomerular crescents and renal dysfunction. *Kidney Int* 23:393-400, 1983
- 29) Kincaid-Smith P, Bennet WM, Dowling JP, Ryan GB: Acute renal failure and tubular necrosis associated with hematuria due to glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 19:206-210, 1983
- 30) Okada K, Kawakami K, Yano I, Funai M, Kagami S, Kuroda Y, Oite T: Ultrastructural alterations of glomerular anionic sites in IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 31:96-102, 1989
- 31) Emancipator SN, Ovary Z, Lamm ME: The role of mesangial complement in the hematuria of experimental IgA nephropathy. *Lab Invest* 57:269-276, 1987
- 32) Kanwar YS, Linker YS, Farquhar MG: Increased permeability of the glomerular basement membrane to ferritin after removal of glycosaminoglycans(heparan sulfate) by enzyme digestion. *J Cell Biol* 86:688-693, 1980
- 33) Michael AF, Blau E, Vernier RL: Glomerular polyanion: Alteration in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 23:649-657, 1970
- 34) Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD: The molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *N Engl J Med* 298:826-833, 1978
- 35) Rennke HG, Patel Y, Venkatachalam MA: Glomerular filtration of proteins: Clearance of anionic, neutral and cationic horseradish peroxidase in the rat. *Kidney Int* 13:278-288, 1978
- 36) Blau EB, Haas JE: Glomerular sialic acid and proteinuria in human renal diseases. *Lab Invest* 28:477-481, 1973
- 37) Carrie BJ, Sayler WR, Myer BD: Minimal change nephropathy: An electro-chemical disorder of the glomerular membrane. *Am J Med* 70:262-268, 1981
- 38) Faraggiana T, Grishman E, Churg J: Cell coat of podocyte in patients with nephrotic syndrome. *Histopathology* 6:299-307, 1982
- 39) Vernier RL, Klein DJ, Sisson SP, Mahan JD, Oegema TR, Brown DM: Heparan sulfate-rich anionic sites in the human glomerular basement membrane: Decreased concentration in congenital nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 309:1001-1009, 1983
- 40) Okada K, Kawakami K, Miyao M, Oite T: Ultrastructural alterations of glomerular anionic sites in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 26:7-14, 1986
- 41) Emancipator SN, Gallo GR, Lamm ME: Experimental IgA nephropathy induced by oral immunization. *J Exp Med* 157:572-582, 1983
- 42) Emancipator SN: Immunopathogenesis of IgA nephropathy: Experimental models of IgA nephropathy. *Am J Kid Dis* 12:415-419, 1988
- 43) Luft JH: Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophys Biochem Cytol* 9:409-417, 1961
- 44) Watson ML: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol* 6:475-479, 1958
- 45) Reynolds ES: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 17:208-212, 1963
- 46) D'Amico G, Ferrario F, Colasanti G, Ragni A, Bosisio B: IgA-mesangial nephropathy(Berger's disease)with rapid decline in renal function. *Clin Nephrol* 16:251-257, 1981
- 47) Hood SA, Velosa JA, Holley KE, Donadio JV: IgA-IgG-nephropathy: predictive indices of progressive disease. *Clin Nephrol* 16:55-62,

1981

- 48) Schmekel B, Soalade C, Bacht H, Westberg NG: *Mesangial IgA glomerulonephritis in adults. Acta Med Scand* 210:363-372, 1981
- 49) Lee HS, Koh HI, Lee HB, Park HC: *IgA nephropathy in Korea: A morphological and clinical study. Clin Nephrol* 27:131-140, 1987
- 50) Hogg RJ, Silva FG: *IgA nephropathy(Berger's disease) found in 50% of renal biopsies performed in teenagers presenting with gross hematuria. Report of the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. (abstract) Kidney Int* 29:191, 1986
- 51) Woo KT, Edmondson RPS, Wu AYT, Chiang GSC, Pwee HS, Lim CH: *The natural history of IgA nephritis in Singapore. Clin Nephrol* 25:15-21, 1986
- 52) Jennette JC, Wall SD, Wilkman AS: *Low incidence of IgA nephropathy in blacks. Kidney Int* 28:944-950, 1985
- 53) Smith SM, Tung KSK: *Incidence of IgA-related nephritides in American Indians in New Mexico. Human Pathol* 16:181-184, 1984
- 54) Kobayashi Y, Tateno S, Hiki Y, Shigematsu H: *IgA nephropathy: Prognostic significance of proteinuria and histological alterations. Nephron* 34:146-153, 1983
- 55) Hyman LR, Wagnild JP, Beirne GJ, Burkholder PM: *Immunoglobulin A distribution in glomerular disease: Analysis of immunofluorescence localization and pathogenic significance. Kidney Int* 3:397-408, 1973
- 56) Syre G: *IgA mesangial glomerulonephritis: Significance and pathogenesis of segmental-focal glomerular lesions. Virchows Arch [A]* 402: 11-24, 1983
- 57) Moriya T, Nakazawa K, Itoh N, Shigematsu H, Higuchi M, Miyasaka M, Oguchi H: *A case of IgA nephritis showing diffuse podocytic detachment from the glomerular basement membrane. Jpn J Nephrol* 34:423-430, 1992
- 58) Kelley VE, Cavallo T: *Glomerular permeability: Ultrastructural studies in New Zealand blackwhite mice using polyanionic ferritin as a molecular probe. Lab Invest* 37:265-275, 1977
- 59) Schneeberger EE, O'Brien A, Gruppe WE: *Altered glomerular permeability in Munich-Wistar rats with autologous immune complex nephritis. Lab invest* 40:227-235, 1979
- 60) Gärtnner HV, Honlein F, Traub U, Bohle A: *IgA-nephropathy(IgA-IgG-nephropathy/IgA-nephropathy)-a disease entity? Virchows Arch [A]* 385:1-27, 1979
- 61) Rifai A, Small Jr PA, Teague PO, Ayoub EM: *Experimental IgA nephropathy. J Exp Med* 150:1161-1173, 1979
- 62) Isaacs K, Miller F, Lane B: *Experimental model of IgA nephropathy. Clin Immunol Immunopathol* 20:419-426, 1981
- 63) Gormly AA, Smith PS, Seymour AE, Clarkson AR, Woodroffe AJ: *IgA glomerular deposits in experimental cirrhosis. Am J Pathol* 104:50-54, 1981
- 64) Emancipator SN, Gallo GR, Razaboni R, Lamm ME: *Experimental cholestasis promotes the deposition of glomerular IgA immune complexes. Am J Pathol* 113:19-26, 1983
- 65) Imai H, Nakamoto Y, Asakura K, Miki K, Yasuda T, Miura AB: *Spontaneous glomerular IgA deposition in ddY mice: An animal model of IgA nephritis. Kidney Int* 27:756-761, 1985
- 66) Emancipator SN, Gallo GR, Lamm ME: *IgA nephropathy: Perspectives on pathogenesis and classification. Clin Nephrol* 24:161-179, 1985
- 67) Zimmerman SW, Burkholder PM: *Immunoglobulin A nephropathy. Arch Int Med* 135: 1217-1223, 1975
- 68) Van de Putte LBA, de la Riviere BG, van Breda Vriesman PJC: *Recurrent or persistent hematuria: Sign of mesangial immune-complex deposition. N Engl J Med* 290:1165-1170, 1974
- 69) Terasaki T, Sano M, Narita M, Tojo S: *Ultrastructural study of gaps of the glomerular basement membrane in IgA nephropathy: Am J Nephrol* 6:443-449, 1986
- 70) Mouradian JA, Sherman RL: *Passage of an erythrocyte through a glomerular basement membrane gap. New Engl J Med* 293:940-941, 1975
- 71) Lin JT, Wada H, Maeda H, Hattori M, Tanaka H, Uenoyama F, Suehiro A, Noguchi K, Nagai K: *mechanism of hematuria in glomerular disease: An electron microscopic study in a case of diffuse membranous glomerulonephritis. Nephron* 35:68-72, 1983
- 72) Shigematsu H, Kobayashi Y, Tateno S, Tsukada M: *Ultrastructure of acute glomerular injury in IgA nephritis. Archs Pathol Lab Med* 104: 303-307, 1980
- 73) Morita T, Suzuki Y, Churg J: *Structure and development of the glomerular crescent. Am J Path* 72:349-368, 1973
- 74) Stejskal J, Pirani CL, Okada M, Mandalenakis N, Pollak VE: *Discontinuities(gaps) of the glomeru-*

- lar capillary wall and basement membrane in renal diseases. Lab Invest 28:149-169, 1973*
- 75) Leiper JM, Thomson D, MacDonald MK: *Uptake and transport of imposil by the glomerular mesangium in the mouse. Lab Invest 37:526-533, 1977*
- 76) Michael AF, Keane FK: *The glomerular mesangium. Kidney Int 17:141-154, 1980*
- 77) Burkholder PM: *Functions and pathophysiology of the glomerular mesangium. Lab Invest 46:239-241, 1982*
- 78) Latta H, Fligiel S: *Mesangial fenestrations, sieving, filtration and flow. Lab Invest 52: 591-598, 1985*
- 79) Krakower CA: *The susceptibility of the mesangial matrix of isolated cell-free glomeruli to limited proteolysis. Renal Physiol 6:250-256, 1983*

- Fig. 1.** Experimental mouse. The glomerulus shows the diffuse mesangial enlargement by an increase of cells and matrix(H&E,  $\times 200$ ).
- Fig. 2.** Experimental mouse. The mesangial matrix is enlarged with mild increased cellularity(PAS  $\times 200$ ).
- Fig. 3.** Experimental mouse of immunofluorescence. IgA deposits are mainly in the mesangial and paramesangial region(FITC anti-mouse IgA,  $\times 200$ ).
- Fig. 4.** Experimental mouse of immunofluorescence. The mesangial deposits of IgA are extending to peripheral capillary wall(FITC anti-mouse IgA,  $\times 200$ ).
- Fig. 5.** Deposition of electron dense material is seen in mesangium and parmesangium(TEM,  $\times 8,500$ ).
- Fig. 6.** The deposits lie beneath the lamina densa of the glomerular basement membrane(GBM) of the parmesangium and mesangium(TEM,  $\times 20,400$ ).
- Fig. 7.** Small amount of electron dense deposits is seen in the subendothelial region of the capillary wall(TEM,  $\times 20,400$ ).
- Fig. 8.** Electron dense material is deposited in the middle of the basement membrane(TEM,  $\times 13,600$ ).
- Fig. 9.** Degeneration of endothelial cell results in lattice-like cytoplasmic folds near the mesangium. Electron dense deposits are also seen in the mesangium(TEM,  $\times 17,000$ ).
- Fig. 10.** Endothelial cell is edematous and shows destruction of fenestration and detachment from the mesangium(TEM,  $\times 20,400$ ).
- Fig. 11.** Electron dense deposits are seen in the mesangium and parmesangium. The nucleus of the mesangial cell is pyknotic(TEM,  $\times 8,500$ ).
- Fig. 12.** The complete mesangiolysis is resulting in fusion of two separate capillary lumens(TEM,  $\times 5,100$ ).
- Fig. 13.** The basement membrane of the capillary shows splitting and fusion of the foot processes of the podocytes(TEM,  $\times 20,400$ ).
- Fig. 14.** Mesangial interposition in the peripheral capillary wall(TEM,  $\times 10,200$ ).
- Fig. 15.** The basement membrane shows thinning and impending rupture. The podocyte shows swelling and detachment from the basement membrane(TEM,  $\times 13,600$ ).
- Fig. 16.** The basement membrane is ruptured and the foot processes of the podocyte are completely detached(arrows) from the basement membrane(TEM,  $\times 20,400$ ).
- Fig. 17.** Control kidney incubated in polyethyleneimine(PEI). A regular array of electron-dense sites(arrows) is seen in the lamina rara externa(LRE) of the GBM(TEM,  $\times 28,900$ ).
- Fig. 18.** Control kidney incubated in PEI. The LRE of the peripheral GBM has a regular array of electron-dense anionic sites(arrows). Less regularly distributed sites(double arrow) are present within the lamina rara interna(LRI), and smaller sites are distributed randomly over the lamina densa of the GBM(TEM,  $\times 25,500$ ).
- Fig. 19.** Experimental group incubated in PEI. Alterations of the anions of the anionic sites are seen in association with subendothelial deposits(asterisk). The number of anionic sites is markedly reduced in regions of subendothelial deposits(TEM,  $\times 25,500$ ).
- Fig. 20.** Experimental group incubated in PEI. Anionic sites are also reduced in regions of mesangial deposits(asterisk)(TEM,  $\times 28,900$ ).

〈박관규 외 2인 : 사 진 부 도〉

〈박관규 외 2인 : 사 진 부 도〉

〈 박관규 외 2인 : 사 전 부 도 〉

〈 박관규 외 2인 : 사 진 부 도 〉

〈박관규 외 2인 : 사 진 부 도〉

〈 박관규 외 2인 : 사 진 부 도 〉

〈 박관규 외 2인 : 사 진 부 도 〉

〈 박관규 외 2인 : 사 진 부 도 〉

〈박관규 외 2인 : 사 진 부 도〉