

실험적 IgA 신병증에서의 사구체 기저막 음이온 부위의 전자현미경적 미세변화

계명대학교 의과대학 내과학교실, 소아과학교실¹, 병리학교실²

박 성 배 · 김 준 식¹ · 박 관 규²

서 론

IgA 신병증은 1968년 Berger와 Hinglais¹⁾에 의해 처음 기술된 이래, 세계에서 가장 흔한 형태의 사구체신염으로 알려져 있다^{2,3)}. 주로 10~20세 사이의 젊은 연령층에서 상기도 감염후에 육안적 혈뇨가 나타나고, 대부분 정상 신기능을 유지하며, 질환의 경과는 비교적 양호하다. 그러나 장기간 임상관찰 결과 15~20%의 환자에서 10년 이내에 말기신부전으로 진행됨이 최근에 알려졌다^{4,5)}. 병리조직학적 소견은 면역형광현미경상에서 사구체간질내 IgA 침착과 광학현미경상에서 사구체간질의 확장과 증식을 특징으로 한다⁶⁾.

최근에 IgA 신병증의 병인에 대한 연구가 많이 진행되고 있으며, 이중에서 대량의 단백뇨와 현미경적 혈뇨가 이 질환의 진행과 예후에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다^{6~8)}. 사구체간질내 면역침착과 함께 사구체 모세관벽에도 부분적 침착이 일어나며, 이는 질환의 진행과 단백뇨 발생에 중대한 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다^{9~12)}. 사구체 음이온 부위는 기저막에 있는 heparan sulfate가 풍부한 proteoglycan과 상피세포 표면에 있는 sialoprotein으로 구성되고, 혈장 단백질 분자의 사구체 여과에 대해 선택적인 전하 장벽으로 역할을 한다^{13~16)}. IgA 신병증 환자의 사구체기저막에 면역침착이 동반된 부분에서 음이온부위의 소실이 발견되며, 단백뇨의 발생이 사구체 음이온부위의 변화와 관련된 것으로 알려져 있다⁸⁾.

이에 저자들은 IgA 신병증에서 사구체 기저막과 면역침착 부위에서 음이온 부위의 변화를 알기 위해서 IgA 신병증을 유발시킨 동물실험 모델에서 polyethylenei-

mine (PEI)을 cationic probe로 사용하여 사구체음이온 부위의 형태학적 변화를 전자현미경적 방법으로 관찰한 결과를 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

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

대조군 : 정상식이만 투여한 군 (12마리)

실험군 I : Bovine gamma globulin 경구 투여군 (30마리)

실험군 II : 소아마비 생백신 경구 투여군 (30마리)

2. 실험방법

Bovine gamma globulin은 식수 1ml당 1mg 농도로 섞어 매일 섭취시켰으며, 소아마비 생백신 (Polyovaral, 동신제약, 서울)은 일회 0.2ml씩 실험 제 1일에 경구 투여한 후 제41 및 71일에 추가로 경구 투여하였다.

Bovine gamma globulin 투여군 및 소아마비 백신군 모두 제40, 70 및 100일에 에테르 마취하여 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 & eosin 염색과 함께 필요에 따라 trichrome, PAS 및 silver 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 면역형광현미경적 관찰

면역형광조직 검사를 위하여 신장조직을 즉시 동결하여 동결절편기로 2~3 μm 두께로 박절하여 공기중에 건조시키고 인산완충액 (phosphate buffered saline, pH

*이 논문은 1993년도 계명대학교 특수과제연구비로 이루어 졌음.

7.4)으로 세척한 후, fluorescein isothiocyanate goat anti-mouse IgA (Biodesign, U.S.A)를 사용하여 사구체내의 IgA 침착을 면역형 광현미경(Litz, Diaplan, Germany)으로 관찰하였다.

3) 움이온 부위의 투과전자현미경적 관찰

Okada 등⁸⁾의 방법에 따라 0.5 mm³로 세절된 신장조직을 1~4°C에서 8.5% sucrose를 포함하는 0.5% PEI 용액(MW 50,000, Sigma, St. Louis)을 pH 7.4로 조정하여 30분간 담근 후 역시 8.5% sucrose를 함유하는 0.1 M cacodylate 완충용액(pH 7.4)에 10분 간격으로 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 10분간씩 3회 세척하였다. 다음에 실온에서 0.1 M cadiodylate 완충용액으로 만든 2% osmium에 2시간 후고정시킨 후 계열에탄올로 탈수시키고 epon 혼합물에 포매한 후 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열증합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μm 두께로 박절하여 toluidine blue 염색을 하여 관찰부위를 결정한 다음 초박절은 Sorvall MT 5000형 초박절기에 Dupont 다이아몬드 칼을 부착하여 회백색(40~60 nm)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻어서 grid에 부착하여 Watson¹⁷⁾ 및 Reynolds 방법¹⁸⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 Hitachi H-600 투과전자 현미경으로 관찰하였다.

성 적

1. 광학현미경적 소견

면역형 광현미경상에서 IgA의 침착이 확인된 ICR 생쥐의 사구체를 대상으로 하여 조사한 광학현미경적 소견은 대부분이 사구체간질의 확장과 혈관간세포수가 증가됨이 관찰되었으며, IgA 신병증때 볼 수 있는 소견들중에서 crescent 형성이거나 사구체 경화등은 관찰되지 않았다.

2. 면역형광현미경적 소견

IgA의 침착에 대한 면역형 광현미경 검사상에서 bovine gamma globulin 투여후 40일 군에서는 10마리 중 8마리, 70일 군에서는 10마리중 8마리, 100일 군에서는 10마리 모두에서 IgA의 침착이 관찰되어 전체 30

마리중 26마리(86.7%)에서 IgA의 침착이 확인되었다. 소아마비 생백신 투여후 40일 군에서는 8마리중 6마리, 70일 군에서는 10마리중 9마리, 100일 군에서는 6마리 모두에서 IgA 침착이 관찰되어 전체 24마리중 21마리(87.5%)에서 IgA 침착이 확인되었고 6마리는 실험중 사망하였다. IgA의 침착 양상은 주로 사구체간질을 중심으로 침착됨이 관찰되었으며, 일부에서는 사구체모세혈관 기저막으로 확장되어 IgA가 침착되는 양상을 나타

Fig. 1. Experimental mouse of immunofluorescence. The mesangial deposits of IgA extending to peripheral capillary wall (FITC anti-mouse IgA, $\times 200$).

Fig. 2. Control kidney incubated in PEI. The lamina rara externa of the GBM has a regular array of electron-dense anionic sites (double arrow) less regularly distributed sites are present within the lamina rara interna (arrow), and smaller sites are distributed randomly over the lamina densa of GBM ($\times 25,500$).

Fig. 3. Control kidney incubated in PEI. The mesangial matrix has randomly distributed anionic sites ($\times 28,900$).

Fig. 5. Experimental group incubated in PEI. Anionic sites are also reduced in regions of mesangial deposits ($\times 28,900$).

Fig. 4. Experimental group incubated in PEI. Alterations of the anionic sites are seen in association with subendothelial deposits (arrow). The number of anionic sites is markedly reduced in regions of subendothelial deposits ($\times 25,500$).

내었다(Fig. 1).

3. 음이온 부위의 전자현미경적 소견

대조군에서의 음이온 부위는 사구체 기저막을 따라 분포되는데, 기저막 중에서도 기저막외측판(lamina rara externa)에는 비교적 PEI 입자의 크기가 크며 규칙적으로 분포되었고, 기저막내측판(lamina rara interna)에는 입자의 크기는 기저막외측판의 그것과 비슷하나 불규

칙적으로 분포하였으며, 치밀판(lamina densa)에는 PEI 입자의 크기가 매우 작게 산재되어 있었다(Fig. 2). 사구체간질에서 음이온 부위는 매우 불규칙적으로 기저막주위에 분포해 있었다(Fig. 3). 실험군에서 사구체기저막 음이온 부위의 분포는 면역복합체가 침착되지 않은 부위의 PEI 입자는 대조군과 유사하게 비교적 규칙적으로 분포되어 있었다. 그러나 면역복합체가 침착된 부위에서는 PEI 입자가 사구체기저막 및 사구체간질 모두에서 대조군에 비해서 현저한 감소가 관찰되었다. 사구체 내피세포에 면역침착이 있는 부위에서는 인접 사구체기저막 내측판과 치밀판에서 음이온부위의 부분적인 결손을 볼 수 있었다(Fig. 4, 5).

고 찰

IgA 신병증은 원발성 사구체신염증에서 가장 흔한 사구체질환으로 알려져 있으며, 비교적 양성의 경과를 나타내는 사구체질환이나, 최근에 상당수의 환자에서 말기 신부전으로 진행되는 질환으로 알려져 있다. 심한 백뇨와 지속적인 혈미경적 혈뇨는 진행적인 경과와 불량한 예후를 시사하는 임상적 증상으로 받아 들여지고 있다^{19,20)}. IgA 신병증은 대부분이 사구체간질내에서 면역침착이 발견되어지고 있으나, 드물게 사구체모세관벽의 말초부위에 면역침착이 동반되는 경우가 있으며, 이는 여러 연구자들의 조사에서 사구체모세관벽의 면역침착

이 IgA 신병증의 진행 및 단백뇨의 발생에 관련이 있음을 제시하고 있다^{11,12,21)}.

IgA 신병증의 실험적 모델은 1979년 Rifai 등²²⁾이 면역복합체를 이용하여 IgA의 사구체침착을 일으켜 이 질환의 수동적 모델로 사용하였다. 그 이후 Isaacs 등²³⁾이 dextran을 경정액투여 면역법으로 사용하여 처음으로 생쥐에서 IgA의 신장내 침착을 능동적으로 유발시켰다. 그외 Emancipator 등²⁴⁾이 단백항원을 점막을 통해서 면역화한 동물에서 신장내에 IgA 면역복합체 침착됨을 기술하였다. 한편 Imai 등²⁵⁾이 실험적 IgA 신병증을 연구하는 과정에서 경구감작된 실험적 모델을 만들기 위해서 C3H 생쥐에게 폐리턴을 투여하고 대조군으로 ddY 생쥐를 선택하여 조사한 결과, 대조군으로 선택한 ddY 생쥐에서 오히려 IgA가 사구체내에 대량으로 침착되는 것을 관찰하여 ddY 생쥐를 자연발생성 IgA 신병증의 실험적 모델로 보고하였다. 저자들은 IgA 신병증의 실험적 모델을 만들기 위해서 ICR 생쥐에서 bovine gamma globulin과 소아마비 생배신을 경구투여한 각각의 실험군 모두에서 사구체간질을 중심으로 하여 IgA 가 침착되는 것을 면역형광현미경상에서 관찰할 수 있었고, 광학현미경상에서도 사구체간질 증가 및 혈관간질 세포의 증식을 볼 수 있었다.

신장에서 음이온부위를 염색하기 위해서 PEI, Ruthenium red, Alucian blue, Safranin-O, Cuprolinic blue 등이 cationic probe로 사용되어지고 있으며 이들은 각각의 염색부위와 염색된 음이온 부위의 형태가 방법에 따라서 다르게 나타난다. 이 연구에서는 음이온 부위 염색을 위해서 cationic probe로 PEI를 선택하여 사용하였다²⁶⁾. 사구체기저막의 고정 음이온 전하는 heparan sulfate proteoglycan으로 구성되어지며, 이것은 음이온을 지닌 혈청단백에 대한 중요한 사구체의 선택적 전하장벽으로 생각된다^{16,27)}. 최근에 Hiramatsu 등²⁸⁾이 생쥐의 사구체기저막에서의 heparan sulfate proteoglycan의 위치가 PEI 염색방법으로 확인된 고정된 음이온 부위와 매우 일치한다고 보고하였다. 그래서 저자들은 PEI를 cationic probe로 사용하는 것이 사구체기저막에서 고정 음이온 부위 관찰을 하기 위해서 적절하다고 생각하였다.

사구체기저막내에 음이온 부위는 많은 연구자들에 의해서 여러가지의 cationic probe를 사용해 쥐 혹은 개의 신장에서 관류시험을 통해 사구체기저막의 기저막 내측

판과 치밀판에도 기저막 외측판과 마찬가지로 음이온 부위가 존재함이 알려졌다^{29~32)}. Vernier 등²⁷⁾은 분자량이 1,200 dalton인 PEI-1200을 사용해 시험관내 방법으로 조사한 결과 인간의 기저막 내측판과 치밀판에서는 기저막 외측판보다는 음이온 부위의 숫자가 적고, 덜 규칙적으로 분포됨을 확인하였다. 분자량이 40,000~60,000 dalton에 해당하는 PEI 40~60을 사용하여 생체밖의 관류를 했을때는 PEI-1200을 사용한 시험관내 방법과는 달리 기저막 내측판과 치밀판에서 보다 많은 음이온 부위가 관찰된다. 저자들은 분자량 50,000 dalton의 PEI를 사용하여 정상 ICR 생쥐를 대상으로 한 실험대조군에서 PEI 입자가 기저막 외측판에는 비교적 굵고 규칙적으로 분포해 있었고, 기저막 내측판에서는 PEI 입자의 크기는 비슷하나 덜 규칙적인 분포를 하였다. 치밀판에는 비교적 작은 크기의 PEI 입자가 산재해서 분포해 있었고, 사구체 간질에서는 PEI 입자가 매우 불규칙하게 산재하였다.

Okada 등⁸⁾은 분자량 1,800 dalton인 PEI를 사용하여 IgA 신병증 환자의 신생검 조직에서 사구체간질과 상피세포하의 침착부위에서 음이온 부위의 현저한 감소를 관찰하였다. 또한 혈뇨 혹은 경한 단백뇨만 있는 경우에 사구체 기저막 외측판에서 음이온 부위가 국소적으로 단절되어 완전히 소실된 부분이 보이고 상피세포 표면층의 음이온 부위의 숫자가 감소됨이 관찰되었다. 상피세포하의 면역침착이 있는 부위의 기저막 외측판의 음이온 부위가 국소적 소실이 관찰되었으나 반면에 내피세포하의 침착은 인근 사구체 기저막의 음이온 부위에 거의 영향을 미치지 않았다. 상피세포하 침착부위와 관련되어 음이온 부위의 변화는 특발성 막성신염에서도 매우 흡사한 현상이 관찰되어지고 있다³³⁾. 면역복합체 사구체신염의 실험적 모델을 이용한 초미세구조 추적연구에서 음전하를 띠 단백질들이 상피세포하 면역침착이 있는 사구체 기저막 부위를 가로 질러 투과되는 것이 관찰되었다^{34,35)}. 사구체 기저막의 전하 장벽 기능 관점에서 사구체 모세관벽의 말초부위에 면역침착이 IgA 신병증에서의 단백뇨 배설증가의 중요한 요소로 생각되어진다⁸⁾. 이러한 현상은 Tochimaru 등³⁶⁾이 낭창성 신염 환자에서 Cuprolinic blue를 cationic probe로 사용한 반정량적 분석에서도 대량의 단백뇨를 지닌 낭창성 신염 class IV와 V 환자에서 국소적인 면역 침착부위에서 음이온 부위의 소실된 부분을 관찰할 수 있었다. 저자들의 실험

에서는 IgA 신병증을 유발시킨 ICR 생쥐 실험군에서 음이온 부위 분포는 면역 복합체의 침착이 없는 부위에서는 PEI 입자가 대조군과 유사하게 기저막 외측판에서 비교적 규칙적으로 분포되어 있었다. 그러나 면역복합체가 침착된 부위에서는 PEI 입자가 사구체 기저막 및 사구체 간질 모두에서 대조군에 비해서 현저하게 소실된 것을 관찰할 수 있었다.

Furness 등³⁷⁾은 사구체질환이 지속되는 현상에 적합한 만성 혈청병 실험적 모델에서 2주와 4주에 기저막외측판의 전하층이 상피세포하 면역침착과 동반되어 음이온 전하층의 결손을 보이다가, 8주에 면역침착주위를 둘러싸는 새로운 전하층이 형성되는 것을 관찰하였다. 현재는 PEI 염색, 사구체전하 및 단백뇨와의 관계가 명확치 않으나 전자현미경으로 찾아내기 어려운 전하층의 작은 결손들이 지속적인 대량의 단백뇨를 발생시키는 것이 가능한 것으로 추정된다. 또한 새로운 전하층이 복구되어도 비정상적인 위치이고, 기능적으로 효과적이지 못한 것으로 생각된다³⁷⁾. PEI 염색에 의한 전하결손이 단백뇨와 관련에 대해서는 많은 논란이 있다. 사구체기저막의 음이온 전하분포가 정상적인 경우에도 단백뇨가 발생하며, 반면에 puromycin 신증의 경우에 초기단계에 현저한 음이온 전하의 감소가 관찰된다^{38,39)}. 그래서 단백뇨 발생은 다양한 병리학적 진행의 결과이고, 이 진행에 사구체기저막 전하의 변화가 어떠한 역할을 하는지는 아직도 분명치가 않다. 저자들은 ICR 생쥐에 유발시킨 IgA 신병증의 실험적모델에서 면역복합체가 사구체간질에 주로 침착되고 사구체기저막에도 일부가 침착되었으며, 사구체기저막 음이온 부위의 소실은 사구체기저막에서 면역침착에 동반되어 이차적으로 발생된 것으로 추정되어지며, IgA 신병증에서 사구체모세관벽의 말초부위에 면역침착에 의한 사구체기저막 음이온부위의 소실이 단백뇨 발생의 원인과 연관이 있을 것으로 생각되어진다.

요 약

ICR 생쥐 72마리를 대상으로 Bovine gamma globulin 및 소아마비 생백신을 경구투여하여 IgA 신병증의 실험적 모델을 만든뒤에 Polyethyleneimine(PEI)를 cationic probe로 사용하여 사구체 기저막의 음이온 부위의 형태학적 변화를 투과전자현미경을 이용하여 관

찰한 결과 음이온부위의 분포는 면역침착이 없는 부위에서는 정상대조군과 유사하게 사구체기저막 외측판에는 PEI 입자가 크고 규칙적으로 분포되고, 기저막내측판과 치밀판에서는 불규칙적으로 분포되었다. 반면에 면역침착이 있는 사구체기저막에서는 음이온부위의 현저한 소실이 관찰되었다. IgA 신병증에서 사구체기저막 음이온 부위의 부분적 소실은 면역복합체의 침착에 의해 이차적으로 초래되며, 이는 IgA 신병증에서 단백뇨 발생의 원인과 사구체질환 진행에 관련되어지는 것으로 생각되어진다.

= Abstract =

Ultrastructural Alterations of Glomerular Anionic Sites in Experimental IgA Nephropathy

Sung Bae Park, M.D., Joon Sik Kim, M.D.¹
and Kwan Kyu Park, M.D.²

Department of Internal Medicine, Pediatrics¹, Pathology²
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

We studied the ultrastructural alteration of glomerular anionic sites in experimental model of IgA nephropathy, using polyethyleneimine (PEI) as a cationic probe. IgA nephropathy was induced in a group of ICR mice by oral administration of bovine gamma globulin and polio vaccine. The presence of anionic sites in the lamina rara interna and lamina densa, as well as in the lamina rara externa, of the normal glomerular basement membrane. The anionic sites in the lamina rara interna and lamina densa of normal glomerular basement membrane were always less numerous and less regularly distributed than anionic sites in the lamina rara externa. Ultrastructurally, electron dense deposits were noted in mesangium, paramesangium, subendothelium and intramembranous region. Prominent common findings in the glomeruli were few PEI particles in the mesangial and subendothelial areas where were densely electron deposited and marked reduction in glomerular anionic sites in the regions with deposits. Mesangial deposits did not alter the anionic sites of glomerular basement membrane, however some deposits had a faint and incomplete layer of anionic site around them. Subendothelial electron dense deposits were associated with defects in the anionic sites of the lamina rara interna, but the subendothelial deposits had little influence on the anionic

sites in neighboring lamina rara externa. These results suggest that structural alteration of glomerular anionic sites in experimental IgA nephropathy was associated with immune deposition of the glomerular basement membrane and mesangial area.

Key Words: IgA nephropathy, Anionic site, Polyethylenemine

REFERENCES

- 1) Berger J, Hinglais N: *Les dépôts intercapillaires d'IgA-IgG*. *J Urol Néphrol* **1**:939, 1969
- 2) D'Amico G: *The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy*. *Q J Med* **64**:709, 1987
- 3) Glasscock RJ: *IgA nephropathy: 25 years of progress*. *Contrib Nephrol* **104**:212, 1993
- 4) D'Amico G, Ragni A, Gandini F, Fellin G: *Typical and atypical history of IgA nephropathy in adults patients*. *Contrib Nephrol* **104**:6, 1993
- 5) Clarkson AR, Woodroffe AJ, Aarons I: *IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura*. In: Schrier RW, Gottschalk CW, eds. *Diseases of the Kidney*. 5th. p 1839, Boston Little Brown 1993
- 6) Bennet WM, Kincaid-Smith P: *Macroscopic hematuria in mesangial IgA nephropathy: Correlation with glomerular crescents and renal dysfunction*. *Kidney Int* **23**:393, 1983
- 7) Emancipator SN, Ovary Z, Lamm ME: *The role of mesangial complement in the hematuria of experimental IgA nephropathy*. *Lab Invest* **57**:269, 1987
- 8) 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, 1989
- 9) Clarkson AR, Seymour AE, Thompson AJ, Haynes WDG, Chan YL, Jackson B: *IgA nephropathy: A syndrome of uniform morphology, diverse clinical features and uncertain prognosis*. *Clin Nephrol* **8**:459, 1977
- 10) Droz D: *Natural history of primary glomerulonephritis with mesangial deposits of IgA*. *Contr Nephrol* **2**:150, 1976
- 11) 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, 1973
- 12) Kobayashi Y, Tateno S, Hiki Y, Shigmenatsu H: *IgA nephropathy: Prognostic significance of proteinuria and histological alterations*. *Nephron* **34**:146, 1983
- 13) Michael AF, Blau E, Vernier RL: *Glomerular polyanion: Alteration in aminonucleoside nephrosis*. *Lab Invest* **23**:649, 1970
- 14) Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD: *The molecular basis of proteinuria of glomerular origin*. *N Engl J Med* **298**:826, 1978
- 15) 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, 1978
- 16) Kanwar YS, Linker YS, Fargubar MG: *Increased permeability of the glomerular basement membrane to ferritin after removal of glycosaminoglycans (heparan sulfate) by enzyme digestion*. *J Cell Biol* **86**:688, 1980
- 17) Watson ML: *Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals*. *J Biophys Biochem Cytol* **6**:b475, 1958
- 18) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy*. *J Cell Biol* **17**:208, 1963
- 19) 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, 1981
- 20) Hood SA, Velosa JA, Holley KE, Donadio JV: *IgA-IgG nephropathy. Predictive indices of progressive disease*. *Clin Nephrol* **16**:55, 1981
- 21) Syre G: *IgA mesangial glomerulonephritis: Significance and pathogenesis of segmental-focal glomerular lesions*. *Virchow's Archive A* **402**:11, 1983
- 22) Rifai A, small PA Jr, Teague PO, Ayoub EM: *Experimental IgA nephropathy*. *J Exp Med* **150**:1161, 1979
- 23) Isaacs K, Miller F, lane B: *Experimental model for IgA nephropathy*. *Clin Immunol Immunopathol* **20**:419, 1981
- 24) Emancipator SN, Gallo GR, Lamm ME: *Experimental IgA nephropathy induced by oral immunization*. *J Exp Med* **157**:572, 1983
- 25) 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, 1985
- 26) Schurer JW, Kalicharan D, Hoedemaeker PHJ, Molenaar I: *The use of polyethylenimine for demon-*

- stration of anionic sites in basement membrane and collagen fibrils. *J Histochem Cytochem* **26**:688, 1978
- 27) 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**:1101, 1983
- 28) Hiramatsu T, Matsuo S, Okura T, Yoshida F, Watanabe Y, Sakamoto N: *Heparan sulfate proteoglycan of murine glomerular basement membrane: Relationship between localization of core protein and localization of fixed negative charges.* *Jpn J Nephrol* **31**:125, 1989
- 29) Kanwar YS, Farquhar MG: *Anionic sites in the glomerular basement membrane: In vivo and in vitro localization to the lamina rarae by cationic probes.* *J Cell Biol* **81**:137, 1979
- 30) Schurer JW, Hoedmaeker PHJ, Molenaar I: *Polyethylenimine as tracer particle for (immuno) electron microscopy.* *J Histochem Cytochem* **25**:384, 1977
- 31) Hunsicker LG, Shearer TP, Schaffer SJ: *Acute reversible proteinuria induced by infusion of the polycation hexadimethrine.* *Kidney Int* **20**:7, 1981
- 32) Linker A, Hovingh P, Kanwar YS, Farquhar MG: *Characterization of heparin sulfate isolated from dog glomerular basement membranes.* *Lab Invest* **44**: 560, 1981
- 33) Okada K, Kawakami K, Miyao M, Oite T: *Ultrastructural alterations of glomerular anionic sites in idiopathic membranous glomerulonephritis.* *Clin Nephrol* **26**:7, 1984
- 34) Kelley VE, Cavallo T: *Glomerular permeability: Ultrastructural studies in New Zealand black/white mice using polyanionic ferritin as a molecular probe.* *Lab Invest* **37**:265, 1977
- 35) Schneeberger EE, O'Brien A, Gruppe WE: *Altered glomerular permeability in Munich-Wistar rats with autologous immune complex nephritis.* *Lab Invest* **40**:227, 1979
- 36) Tochimaru H: *Electron microscopic study of the glomerular basement membrane charge barrier and the charge of immune deposits in lupus nephritis.* *Hokkaido Med J* **66**:830, 1991
- 37) Furness PN, Turner DR: *Immune complex-induced defects in glomerular basement membrane charge can be "repaired" despite continuing glomerular disease.* *J Pathol* **153**:189, 1987
- 38) Furness PN, Turner DR, Cotton RE: *Basement membrane charge in human glomerular disease.* *J Pathol* **150**:267, 1986
- 39) Mahan JD, Sission-Ross S, Vernier RL: *Glomerular basement membrane anionic charge site changes early in aminonucleoside nephrosis.* *Am J Pathol* **125**:393, 1986