

낭창성 신염 환자에서 혈중 및 요중 Endothelin-1의 의의

이화여자대학교 의과대학 내과학교실

윤 건 일

= Abstract =

Endothelin-1 In Patients With Lupus Nephritis

Kyun Ill Yoon

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ewha Womans University

Endothelin is a 21-residue peptide vasoconstrictor produced by endothelium. The exact role of endothelin in the pathophysiology of renal disease has not yet been extensively demonstrated. Thus, to elucidate the pathophysiological significance of plasma and urinary endothelin-1(ET-1) in patients with lupus nephritis, we studied 7 patients diagnosed as lupus nephritis by kidney biopsy and 7 healthy volunteers. Serum and urinary biochemical studies including creatinine and ET-1 were done, and urinary excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG) was also measured.

The results were as follows ;

1) Patient group and control group showed no significant differences in their clinical characteristics, basic biochemical studies, serum creatinine, plasma ET-1, urinary excretion of protein, NAG and creatinine and ET-1 clearance. Of 7 lupus nephritis patients, only 2 patients showed abnormal serum complement and anti-dsDNA.

2) In lupus nephritis patients, plasma ET-1 level showed no correlation with serum creatinine, complement and anti-dsDNA($p>0.05$).

3) ET-1 clearance showed no significant correlation with creatinine clearance rate, complement, anti-dsDNA and urinary NAG excretion.

Plasma ET-1 level and its clearance rate could not reflect the lupus nephritis activity. But our study included small number of patients and only 2 patients of pathologically proven lupus nephritis showed active disease, biochemically and clinically, and the majority of patients has already been in remission state after treatment. Above factors probably acted as a bias against the results, leading to statistical limitations. In further studies, we should broaden our subject group in number and to other renal diseases than limiting to lupus nephritis and prospective long term follow up study is indicated to further investigate the role of urinary excretion of ET-1 and their mechanism of action on renal disease.

본 논문의 요지는 1993년도 대한신장학회 춘계학술대회에서 발표되었음.

서 론

1958년에 Rosalski와 Wilkinson이¹⁾ 다양한 신질환이 있는 환자에서 요중의 LDH가 증가되어 있음을 보고한 이래로, 요중으로 배설되는 효소 및 다른 화학 물질들의 양이나 그 화학적 구성 성분을 분석함으로써 신질환의 정도 및 활성도를 예측하여 임상에 응용하고자 하는 많은 시도가 있어 왔으며, 이것은 또한 신질환에 있어서의 진단적인 지표로 이용되어 왔다.

Yanagisawa등이²⁾ 1988년에 배양된 돼지의 대동맥 내피 세포 배지에서 21개의 아미노산 펩타이드로 구성되고 2개의 disulfide bond를 가진 endothelin이란 물질을 분리하였다. 최근의 연구에 의하면 사람 및 다른 포유류에서 서로 다른 유전자 부위에서 유래되는 3가지의 endothelin isopeptide가 발견되었는데³⁾ endothelin-2(ET-2)는 신장에서, endothelin-3(ET-3)는 신경 조직과 관련되어 일종의 신경전달물질로서 작용하리라 추측되나 아직 확실히 규명되지는 않고 있다⁴⁾. 사구체 질환이 있을 때에 endothelin의 작용은 mesangial cell에서 일어나는 형태학적 변화에 있어서 여러 수용체와 결합하여 phosphoinositide의 대사와 platelet-derived growth factor(PDGF)의 mRNA자극에 관여하여 mesangial cell의 증식과 비대에 한 역할을 할 것으로 생각되고 있다⁵⁾.

전신성 홍반성 낭창의 병인은 메산지움에의 면역 복합체 침착, 보체 활성화 및 혈관내 응고과정의 활성화와 그로 인한 혈전 형성이 주로 관계하는 것으로 알려져 있으며⁶⁾ 이러한 면역 복합체는 질병이 진행함에 따라 결국에는 혈관 내피세포에까지 침착되어 미만성 증식성 사구체 신염을 형성하게 한다. 또한 신기능이 손상된 환자에서 endothelin의 혈중 농도 및 요중으로의 배설이 증가되어 있다는 보고가 있으므로⁷⁾⁸⁾ 낭창성 신염의 활성도와 이때의 사구체 증식 및 병변의 정도에 따르는 요중 endothelin의 변화를 관찰하고 그 임상적 의미를 밝힐 필요가 있다.

그 외에 신사구체나 세뇨관에 병변이 있는 환자에서 요중의 N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG)나 β -2-microglobulin, albumin등의 측정이 신질환의

예민한 표지자가 됨은 이미 여러 연구에서 입증되었다⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾.

본 연구는 정상대조군과 전신성 홍반성 낭창 환자중 신침범이 있는 환자에서의 ET-1의 요중배설치를 측정하고, 이 때에 질병의 활성도를 나타내는 다른 혈청학적 지표들과 요중 NAG, 단백질등을 함께 측정하여, ET-1이 낭창성 신염의 활성도 및 신병변의 정도를 예측하는 임상적 표지자로 이용될 수 있는지를 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

이화여자대학교 부속병원 내과에서 전신성 홍반성 낭창을 진단받은 환자 중 신조직생검에 의해 신장 침범이 확인되었던 환자들 중에서 평가 가능한 여자 환자 7명과 환자군과 성별이 같으면서 연령 분포가 유사한 정상 대조군 7명을 대상으로 하였다. 대상을 선정함에 있어서 본태성 고혈압이나 관상동맥 질환, 심부전증, 인슐린 비의존형 당뇨병이 있는 환자 및 신독성 약물을 투여받은 환자나 요로계 감염증, 요로 폐쇄, 기타 다른 원인에 의한 급성 신부전증이 합병된 경우는 제외하였다.

2. 방 법

실험 방법으로는 환자군과 정상 대조군 모두에서 혈액과 24시간 동안의 소변을 수집하였다. 혈액 채취는 상기 대상군 모두 요 수집을 시작하는 날 아침에 공복시 안정된 상태의 와위에서 혈액을 채취하였다. ET-1을 위한 혈액 표본은 혈중 protease억제제인 atropinin 400KIU/ml를 첨가시켜 heparin으로 처리한 전용 용기에 혈액 6ml를 채혈한 후에 즉시 실온에서 2000c.p.m.으로 15분간 원심 분리하여 혈장만을 취하고, -20°C 에서 동결 보존하였다. 24시간 요의 수집에 있어서는 요를 수집하는 동안에 소요되는 시간 경과 및 산도(pH), 온도 변화에 따르는 ET-1의 파괴를 최소화하고 안정된 상태를 유지하기 위해 수집중 계속 4°C 에서 냉장 보관하였다. 수집된 요는 균등히 혼합한 후에 25 cc를 취하여 -20°C 에서 동결 보존하였다가 방사면역측정법으로 측정하였다. 그 실험 순서를 보면

분리된 혈장에서 2ml를 채취하여 0.09% TFA와 60% acetonitrile로 세척한 후 nitrogen하에서 건조시켜 pH7.4의 0.01M EDTA, 0.01M EACA, 0.02M glycerine, 0.001M NaN₃, 0.1% Triton X-100, 0.1% heat inactivated HSA를 포함한 0.01M phosphate의 분석 완충액에서 표본을 재조정하였다. 방사면역측정에 있어서는 0.1ml의 혈장 추출액과 0.1ml의 분석 완충액, 0.1ml의 ET-1 항혈청을 24시간동안 4°C에서 배양한 후에 [¹²⁵I] ET-1 0.05ml를 첨가하여 4°C에서 다시 48시간 더 배양하고, 0.5ml의 second antibody-polyethylene glycol을 첨가한 후 4°C에서 15분간 배양하여 방사면역측정 kit(Amersham Co, UK)를 사용하여 분석하였다.

그 외에 혈청 요소, 크레아티닌, 총단백질, 알부민, 전해질 등의 생화학적 검사와 IgG, 혈장 보체(C3, C4) 및 anti-dsDNA를 함께 측정하였고, 요에서는 N-acetyl-β-D-glucosaminidase(NAG), 총 단백질, 전해질을 측정하였다. 요중 NAG의 측정은 특히 단회뇨에서 측정하는 것도 타당성이 있으나, 그 flow rate에 따르는 오차를 줄이기 위하여 24시간 수집뇨를 잘 섞어서 그 중의 5ml를 취하여 형광계측 방법에 의해 측정하였다.

자료의 검정에 있어서는 Mann-Whitney검정과 상관분석을 사용하여 결과를 검정하였다.

결 과

1. 대상의 분포

실험 대상은 모두 여자로서, 낭창성 신염 환자

군의 연령은 33.6±4.1세, 대조군은 30.6±7.5세였다. 낭창성 신염 환자 7명 중에서 신조직 생검 결과는 5명이 미만성증식성 사구체신염(WHO분류 IV) 소견을 보였으며, 2명은 폐산지음증식성 사구체신염(WHO 분류 II)의 소견을 보였다. 환자군과 대조군 간에 있어서 연령 분포나 수축기 및 확장기 혈압, 체중에는 차이가 없었다.

2. 혈액 및 요 생화학 검사 소견

혈청 요소는 환자군에서 27.00±10.4mg/dl, 대조군에서 11.10±1.52mg/dl이었다. 혈청 크레아티닌은 환자군에서 1.20±0.35mg/dl, 대조군에서는 0.76±0.03mg/dl였으며, 낭창성 신염의 WHO분류 II에 속하는 환자 2명에서는 크레아티닌의 평균치가 0.65±0.71mg/dl이었으며, WHO분류 IV에 속하는 5명에서는 1.42±0.48mg/dl이었다. 혈청 총단백질은 환자군에서 6.99±1.06mg/dl, 대조군에 7.11±0.38mg/dl이었으며, 알부민은 3.91±0.66mg/dl과 4.26±0.34mg/dl로서 이들은 모두 두 군 사이에 유의한 차이가 없었다. 이 외에 혈중 전해질 등도 양군 사이에서 유의한 차이가 없었다(Table 1).

24시간 요중으로 배설되는 물질들의 값에 있어서는 낭창성 신염 환자군과 대조군을 비교해 볼 때, sodium배설량은 환자군에서 173.66±37.38 mEq/d와 정상 대조군에서 128.63±17.71mEq/d였다. 요중 sodium배설 분율은 각각 4.56±1.96과 1.10±0.25였다. 24시간 요중 단백질 배설량은 환자군에서 1613.8±1040.3mg/d로서 WHO분류 II군의 평균치는 613±287.0mg/d였고, 분류 IV군에서는 20

Table 1. Summary of data obtained from blood in whole subjects.

Case	Age (years)	Renal path. (WHO class)	ET-1 (pg/ml)	anti-dsDNA (U/ml)	Creatinine (mg/dl)	C3/C4 (mg/dl)
1	34	II	2.6	4.25	0.7	89.0/27.5
2	32	II	6.8(4.7)*	28.70(16.47)*	0.6(0.65)*	109.0/10.6(99.0/19.1)*
3	29	IV	8.6	100.00	3.2	21.8/ 6.0
4	32	IV	2.3	1.14	0.6	115.0/32.0
5	38	IV	10.7	11.30	1.1	107.0/32.0
6	30	IV	5.1	17.86	0.9	52.6/12.2
7	40	IV	6.8(6.7)*	4.70(27.00)**	1.3(1.42)**	63.1/24.4(71.9/21.32)**
Mean±SE	33.6±4.1		6.13±1.16	23.99±13.17	1.20±0.35	79.64±13.18/20.58±4.13
Normal(N=7)	30.6±7.5		3.56±0.74	0.49±0.11	0.76±0.03	107.11±21.23/40.41±5.01

* : Mean of group 1(WHO class II)

** : Mean of group 2(WHO class IV)

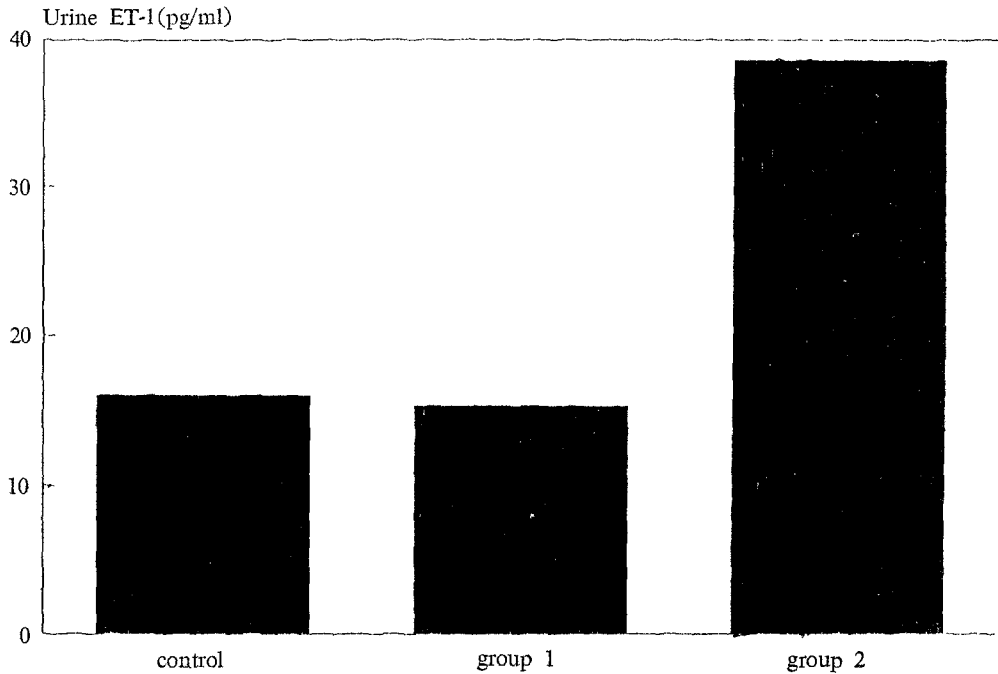


Fig. 1. Urinary ET-1 in control and patients.

*group 1. WHO class II ; group 2. WHO class IV in lupus nephritis

57.4 ± 1444.5 mg/d였으며, 대조군에서는 247.2 ± 131.2 mg/d로서 이 각각의 결과는 양 군 간에서 유의한 차이는 보이지 않았다. 요중 NAG의 배설량은 환자군에서 6.9 ± 2.8 U/l로서 WHO분류 II군과 IV군에 있어서 각각의 평균치는 0.9 ± 0.2 U/l와 9.3 ± 3.8 U/l였고, 대조군에서 5.6 ± 2.4 U/l였다. 요중 ET-1치는 환자군에서 31.88 ± 9.75 pg/ml와 대조군에서 16.01 ± 3.67 pg/ml였으며, WHO분류에 따르는 각군의 평균치는 15.3 ± 9.75 pg/ml와 38.54 ± 10.47 pg/ml로서 이들도 양 군 간에 유의적 차이는 없었다. 크레아티닌 청소율은 환자군에서 71.64 ± 11.84 l/min와 대조군에서는 93.74 ± 4.60 ml/min로서 유의적 차이가 없었다(Table 1, Fig. 1).

3. 보체, anti-dsDNA, ET-1

전신성 홍반성 낭창의 활성도를 예측할 수 있는 혈중 보체와 anti-dsDNA치에 있어서 7명의 환자 중 2명에서만 질병의 활동기에 기대될 만한 C3, C4의 감소 및 anti-dsDNA의 증가가 있었고, 그 외 다른 1명에서의 C4의 값이 정상보다 감소되어 있었다. 이들의 값은 혈중 보체치는 환자군에서 C3치는 79.64 ± 13.18 mg/dl, 대조군에서 107.11 ± 21.23

mg/dl였고 C4치는 각각 20.58 ± 4.13 mg/dl과 40.41 ± 5.01 mg/dl였다. 또한 anti-dsDNA역가는 환자군과 대조군에서 각각 23.99 ± 4.13 mg/dl과 40.41 ± 5.01 mg/dl였다. 또한 anti-dsDNA역가는 환자군과 대조군에서 각각 23.99 ± 13.17 U/ml와 0.49 ± 0.11 U/ml로서 차이가 있는 듯이 보였으나 통계적 의의는 없었다. 혈장 ET-1치는 환자군에서 6.13 ± 1.16 pg/ml로서 WHO분류 II군에서는 4.7 ± 2.1 pg/ml, IV군에서는 6.7 ± 1.62 pg/ml였으며, 대조군에서 3.56 ± 0.74 pg/ml였다. ET-1 청소율은 환자군에서 121.49 ± 48.28 ml/min로서 WHO분류 II군에서는 51.62 ± 10.18 ml/min, IV군에서는 149.44 ± 44.78 ml/min와 대조군에서 78.64 ± 14.58 ml/min로서 이들 간에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(Table 1, 2, Fig. 2, 3).

4. 각 변수 간의 상관 관계

낭창성 신염 환자군과 정상 대조군에 있어서 각 변수들 간의 상관 관계를 보면, 혈장 ET-1치는 혈청 크레아티닌치 및 전신성 홍반성 낭창의 활동도의 지표가 되는 혈중 보체가, anti-dsDNA치와 상관 관계가 없었고($p > 0.05$), 24시간 요중의 단백질과

Table 2. Summary of data obtained from urine in whole subjects

Case	Protein (mg/d)	NAG (U/l)	ET-1 (pg/ml)	FENA (%)	Ccr (ml/min)	C _{ET-1} (ml/min)
1	900	1.1	5.5	7.07	98.3	44.42
2	326(613)*	0.7(0.9)*	25.0(15.3)*	0.89(3.98)*	110.5(104.4)*	58.82(51.62)*
3	7800	21.3	33.0	14.75	22.5	76.74
4	900	4.3	66.0	0.18	92.5	267.30
5	1000	10.9	28.0	5.45	60.2	41.87
6	347	8.5	65.0	1.06	72.1	340.29
7	240(2057.4)**	1.5(9.3)**	0.7(38.54)**	2.25(4.74)**	45.4(58.54)**	20.00(149.44)**
Mean±SE	1613±1040.3	6.9±2.8	31.88±9.95	4.56±1.96	71.64±11.84	121.49±48.28
Normal(n=7)	247.2±131.2	5.6±2.4	16.01±3.67	1.10±0.25	93.74±4.60	78.64±14.58

* : Mean of group 1 (WHO class II)

** : Mean of group 2 (WHO class IV)

Abbreviations are ; NAG, N-acetyl-β-D-glucosaminidase ; FENA, fractional excretion of Sodium ; C_{cr}, creatinine clearance ; C_{ET-1}, ET-1 clearance.

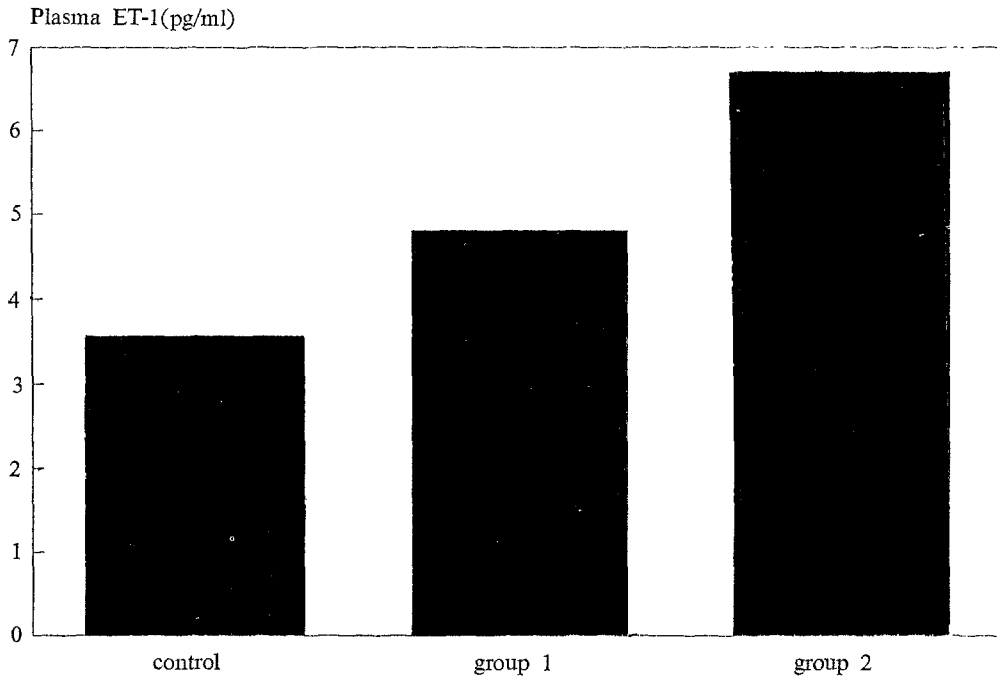


Fig. 2. Plasma ET-1 in control and patients.

*group 1. WHO classII ; group 2. WHO classIV in lupus nephritis

NAG간에 뚜렷한 상관관계가 없었다($p>0.05$).

24시간 요중의 ET-1배설량과 ET-1의 청소율은 혈중 보체가, anti-dsDNA치, 24시간 요중의 단백질 배설량이나 요중 NAG와 유의적 상관관계가 없었고, 크레아티닌 청소율과도 뚜렷한 상관관계를 밝힐 수 없었다($p>0.05$, Fig. 4, 5, 6).

Anti-dsDNA치는 혈청 요소, 크레아티닌, 24시간 요중의 단백질 배설량과 요중 NAG양, sodium의 배설 분율간에 서로 비례적 상관관계를 보였으며 ($p<0.05$), 크레아티닌 청소율과도 의미있게 역비례하는 관계를 나타내었다($p<0.05$).

이러한 각 변수 간의 상관 관계는 낭창성 신염

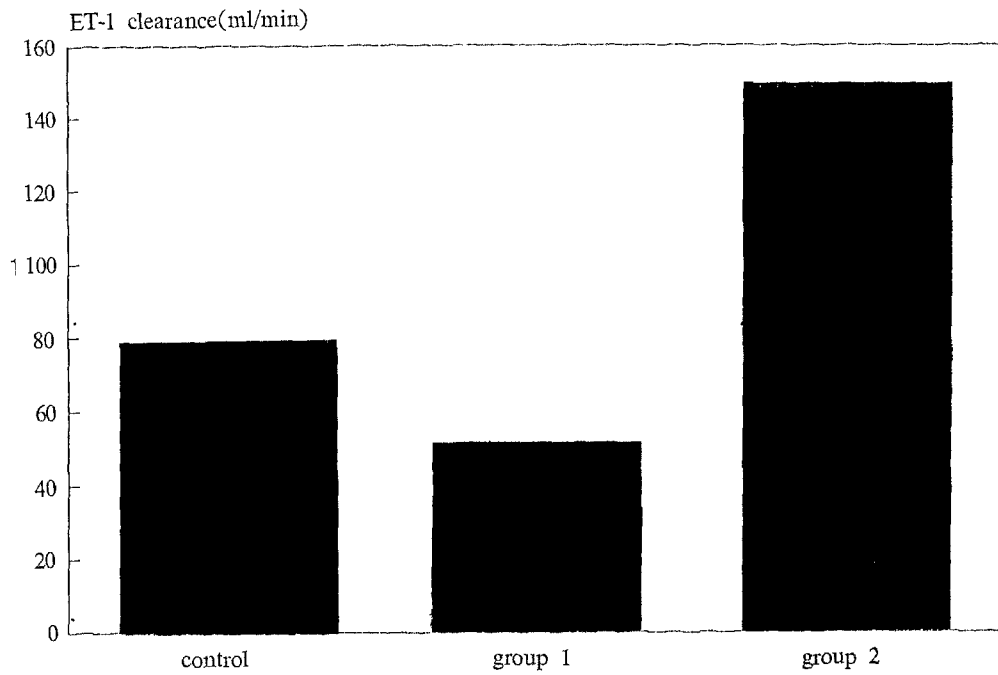


Fig. 3. ET-1 clearance in control and patients.

*group 1. WHO class II ; group 2. WHO class IV in lupus nephritis

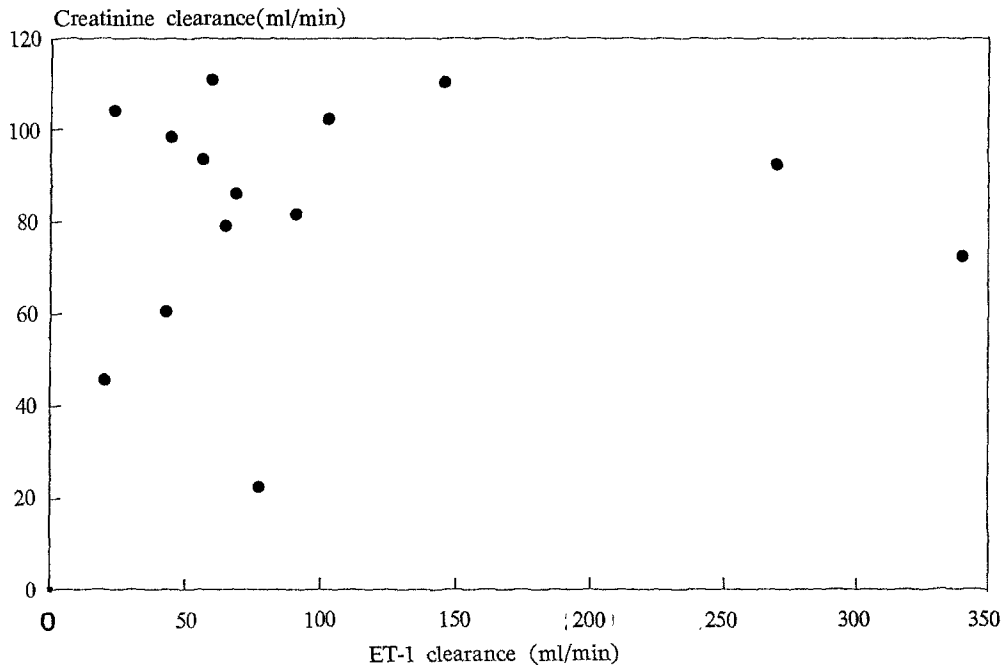


Fig. 4. Correlation between C_{ET-1} and Ccr.

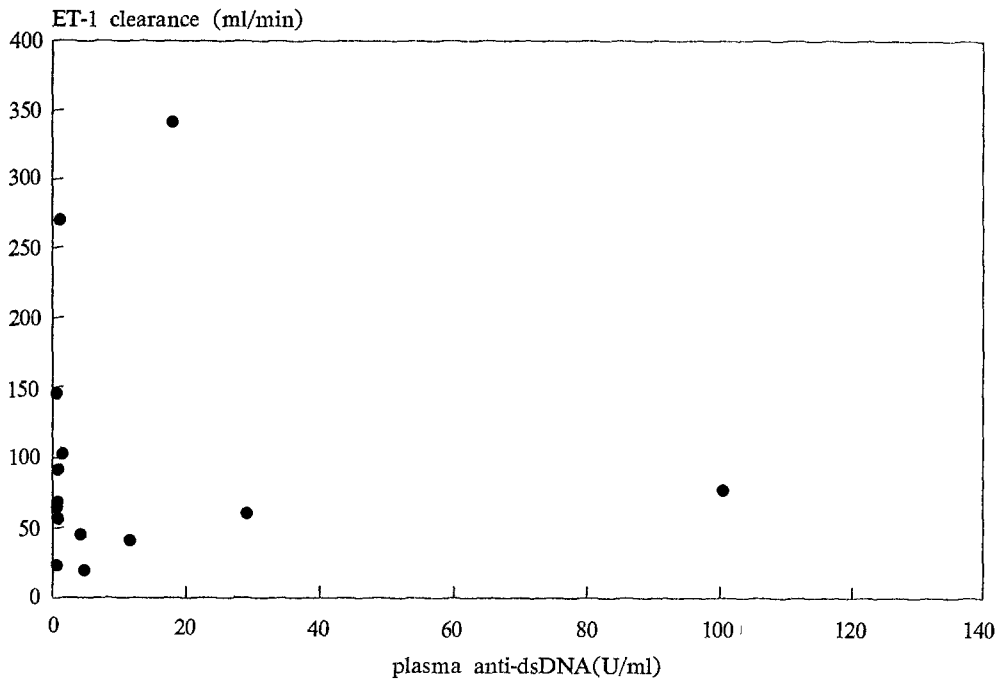


Fig. 5. Correlation between C_{ET-1} and anti-dsDNA.

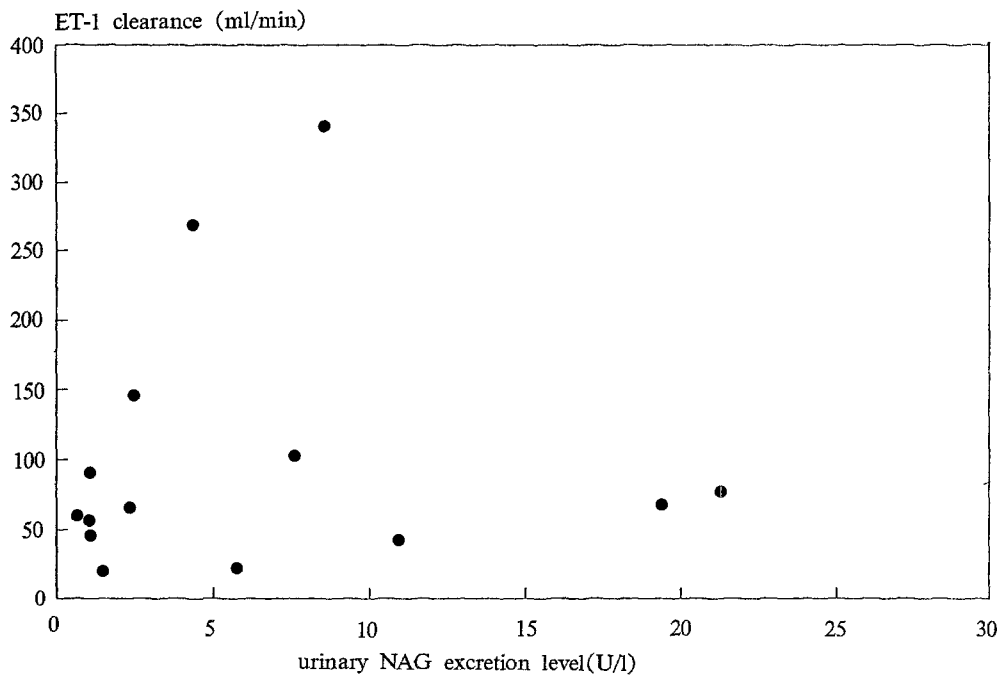


Fig. 6. Correlation between C_{ET-1} and urinary NAG.

환자중 WHO분류 II에 속하는 환자 2명을 제외하고 난 후의 WHO분류 IV에 속하는 환자 5명과 정상 대조군 간에 있어서도 동일한 결과를 보였다.

고 안

Yanasigawa등이²⁾ 돼지의 대동맥 내피 세포 배양 상층액에서 강력한 혈관수축작용을 가진 endothelin이란 물질을 분리해낸 이래로, 체내에서의 endothelin의 생리적 작용 및 병적 상태에서의 역할에 대한 많은 연구가 있어 왔다.

체내에서 prepro-ET-1으로부터 일련의 전이 및 분열에 의해 ET-1의 전구체로 되었다가, 혈관내에 존재하는 ET-1-converting enzyme에 의해 생성되는 endothelin은 그 분자내에 2개의 disulfide bond를 가지며, 8~10개의 아미노산으로 구성된 펩타이드로서 긴 소수성 탄화기를 포함하여 그 말단에 위치하고 있는 tryptophan에 의해 생리적 작용을 나타내리라고 생각되어진다. 그 수용체는 혈관평활근세포나 부신세포, 신사구체, 세뇨관 및 신수질의 수집관세포, 그외 폐혈관이나 기관평활근세포, 신경조직 등에서 다양하게 발견되고, 이 각 수용체들은 동일한 막단백질이 아닌 여러 아형이 존재하여 각 종 및 각 기관에서 조금씩 다른 기능을 나타내게 된다¹²⁾. 방사면역분석법에 의하여 사람의 적출된 신장에서 endothelin을 조사해 본 결과, 신소체의 각 부위에서의 endothelin생성능은 각각 차이가 있으며 신수질의 세뇨관세포에서 endothelin이 가장 높은 농도로 발견되었고, 또한 그 기능에 있어서도 면역 활성화도가 가장 높은 것으로 나타났다¹³⁾¹⁴⁾.

Ohta등은⁸⁾ 신질환이 있는 환자에서 endothelin과 크레아티닌간의 청소율을 비교하여 본 결과, 질병군에서의 요중 endothelin배설 및 청소율의 비가 정상 대조군에서 보다 유의적으로 증가되어 있음을 보고하여 세뇨관에서 분비 및 재흡수 과정을 통해 endothelin의 대사가 이루어진다고 주장하였다. 또한 요중으로 배설되는 endothelin의 양은 혈중의 endothelin의 농도 및 크레아티닌 청소율 등 일련의 신기능의 지표가 되는 자료들과 상호 관련이 있으며 따라서 전체적인 신기능 및 세뇨관의 기능 평가의 예민한 척도가 될 것으로 기대할 수 있다¹⁵⁾.

사구체 질환이 있을때 mesangial cell에서 일어

나는 형태학적 변화는 세포 기질의 생성 및 재배열, protease분비, 면역복합체등과 같은 고분자의 절단, 세포 증식등으로 대표될 수 있는데¹⁶⁾ 이 때에 일어나는 세포의 표현체계에 endothelin이 중요한 역할을 한다고 생각되고 있다¹⁷⁾. 즉 endothelin의 수용체는 여러 아형이 있어서, 각기 다른 종류의 수용체와의 결합에 따라 phospholipase C를 활성화시켜 inositol triphosphate의 생성을 증가시키고⁵⁾ Ca^{++} 통로의 개폐에 작용하여 세포내의 Ca^{++} 분비를 자극한다¹⁹⁾²⁰⁾. 또한 endothelin에 의한 Na^+/H^+ 교환펌프의 활성화에 속발되어 일어나는 세포내의 알칼리화는 mesangial cell이 휴지기에서 분열기로 접어들며 유사분열이 일어나기에 적합한 환경을 조성해준다.

사구체 병변등의 환경적 요인이 있을 때에 특히 endothelin은 안정 상태의 mRNA를 자극하여 세포의 유사분열 과정에서 RNA polymerase II의 작용을 조정하는 activator protein-1(AP-1) 복합체의 형성을 유도하며²¹⁾, 이 때 그 생화학적 신호 체계가 유사한 c-fos군의 유전자의 전사를 자극하여 세포의 증식에 관여함은 이미 앞서의 연구에서 밝혀진 바와 같다⁵⁾¹⁹⁾. 이와 같은 사실들로 미루어 사구체 신염에서 사구체 염증 반응을 유발하는 protease 분비에 있어 이 AP-1복합체가 protease 분비를 증대하고, 세포의 유사분열, 분화, 성장에 관여하며²²⁾ fos 군의 참여로 mesangial cell의 증식에도 한 역할을 할 것으로 생각된다. 즉, endothelin은 이 일련의 과정에 참여하여 mRNA와 AP-1의 증대에 의해 platelet-derived growth factor(PDGF) A와 B의 발현 및 PDGF의 분비를 자극하고 그 이외의 DNA합성과 관련된 몇몇 펩타이드 성장요소와 endothelin간의 협조작용에 의한 반응의 결과로²³⁾²⁴⁾ mesangial cell의 증식이 일어나게 된다. 또한 mesangial cell의 증식은 ET-1에 의해 활성화된 protein kinase C와 서로 양성 자극성 신호 체계로 작용하여 ET-1의 생성이 증가된다²⁵⁾. 이러한 보고들을 연관 지어 생각해 볼 때에 endothelin이 사구체 신염등 병적상태에서 mesangial cell의 분열 및 증식, 비대를 유발하는 유사분열원으로서의 역할을 하며, 신세뇨관 세포에 대해서도 유사분열원으로서의 작용이 있다고 가정할 때⁸⁾ 손상된 세포의 회복 과정에 한 역할을 할 것이라는 결론이 유추된다. 따라서 낭

창성 신염의 활동기에 일어나는 mesangial cell의 증식과 분화 및 그와 동시에 일어나는 회복 과정에도 요증 endothelin의 배설 및 청소율이 증가하리라고 추측할 수 있다. 그러나 실제로 본 연구에서 신장 침범이 있는 낭창성 신염 환자에서 요증 endothelin치의 증가는 관찰할 수 없었는데, 이는 대상 환자 수가 적음으로 인해 질병의 활동기와 급성 회복기에 해당하는 환자에서의 통계적 유의성을 추출해 내기 어려웠고, 또한 7명의 대상 환자중 5명이 치료에 의한 질병의 관해가 온 상태였으며 활동기에 있는 환자에서는 환자 3에서만만 명백한 활동성 질병의 양상을 보였으나 이 환자에서도 뚜렷한 요증 ET-1의 배설증가가 관찰되지는 않았다.

낭창성 신염을 포함하는 다양한 사구체 질환의 활동기에 있어서 ET-1의 요증 배설량이 증가되리라는 것은 사구체 내의 국소적 염증 반응과 혈관내용고 이상과 관련지어서도 추측할 수 있다. Ohta 등은²⁶⁾ 폐지에서 신피질에 있는 상피 세포에 존재하는 ET-1의 전구체의 유전자 발현 및 그에 속 발되는 혈관 내피세포로부터의 ET-1의 분비는 thrombin, transforming growth factor- β 등의 platelet-derived substances나, epinephrine, phorbol ester, Interleukin-1 등의 몇 가지 물질에 의해 증폭된다고 보고하였다. Benigni 등의 보고에서는²⁷⁾ 쥐에서 발견된 사구체의 혈액학적 변화 및 미세혈관의 혈전증에 의해 일어나는 진행성 신질환에서 신조직을 일부 제거한 후에 신피질의 endothelin생성이 증가되고 이것은 혈중의 endothelin농도와는 무관하며 다만 요증의 endothelin배설의 증가를 가져온다고 하였는데 이는 thrombin증가에 의해 자극되는 endothelin의 분비 증가에 의한 것으로 생각된다. 이러한 platelet-derived factors(PDF)나 cytokine 등은 또한 국소염증반응 및 혈관내의 응고작용에 중요한 역할을 한다²⁸⁾. 즉, 사구체신염이나 간질성 신질환과 같은 병적인 상태의 신조직에서 일어나는 국소염증반응이나 사구체내의 응고 이상 등에 의해 cytokine과 PDF 등이 유리되어 이로 인해 endothelin의 분비가 증가하리라고 추측할 수 있다.

사구체질환이나 신세뇨관의 병변이 있을 때의 요증으로 배설되는 lysosome내의 효소치의 측정으로 병변을 조기에 발견해 내는 것이 가능하다.⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾

²⁹⁾ 특히 N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG)는 조기에 신세뇨관 병변의 척도로서 이용될 수 있으며, 질병의 회복기나 재발시에 그 요증 배설량의 차이를 보이고 있어⁹⁾¹¹⁾ 신질환 자체의 활성도를 알아보기 위한 지표로도 임상적으로 이용되고 있다.

진신성 홍반성 낭창에서 낭창성 신염의 병변의 정도는 그 증식 양상의 형태학적 소견에 따라 분류되며, 이것으로 미루어 신질환의 활성도와 침범된 사구체에서의 질병의 정도 및 특성을 어느 정도 예측할 수 있다⁶⁾. 본 연구에서는 이미 조직학적으로 신장침범이 확인되었던 진신성 홍반성 낭창 환자에 있어서 anti-dsDNA의 증가로 추측할 수 있는 낭창성 신염의 활동기에 있는 환자의 경우 혈중 endothelin치 및 endothelin청소율의 비율이 정상 대조군 및 안정기의 낭창성 신염 환자에 비해 증가되어 있는 듯이 보였으나, 통계학적 유의성을 찾을 수 없었고 이것은 혈중의 크레아티닌 농도 및 요증의 단백질 배설량과도 무관하였다. 또한 활동성 신염이나 신세뇨관 손상시에 요증 NAG의 농도가 증가한다는 것은 이미 여러 연구에서 입증되었는데⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾, 본 연구에서도 마찬가지로 활동성 질병의 경우에 요증의 NAG농도의 증가를 보였으나 endothelin청소율과의 상관관계를 밝힐 수는 없었다. 낭창성 신염의 조직학적 소견에 따라 환자군을 구분하여 각각의 군에서 얻어진 결과를 비교해볼 때 WHO분류 II에 해당하는 매산지음증식성 사구체신염에 속하는 환자군과 분류 IV에 해당하는 미만성증식성 사구체신염환자군에 있어서도 그 결과는 동일한 양상을 보여, 이것만으로는 미만성증식성 사구체신염에서 사구체 병변의 진행과 그 손상의 정도가 매산지음증식성 사구체신염보다 더 심하고 그에 따라 요증 측정 물질의 배설량이 증가할 것이라는 가정에 일치되는 결과를 보이지는 않았다. 그러나 본 연구에서 anti-dsDNA 및 혈중 보체치에 의해 추정 가능한 낭창성 신염의 활동기에 있는 환자가 대조군을 제외한 대상 환자 7명 중 두 명에 불과하였고, 낭창성 신염의 조직 소견에 따르는 환자의 분류에 있어서도 각 군의 크기가 2명과 5명으로서 이 결과로만 통계학적 의의를 찾는 데에는 무리가 있었지만, 일견해서는 WHO분류 IV에 속하는 환자군에서는 WHO분류 II의 환자들보다 혈중의 endothelin 및 endothelin청소율과 요증

NAG가 증가된 듯이 보여 더 많은 표본에서의 통계자료에 의한 상관 관계를 찾아야 할 것이다.

요중 ET-1의 배설량과 청소율은 또한 24시간 요중의 단백질이나 요중 NAG와도 의미있는 상관 관계를 밝힐 수 없어, 요중 ET-1이 신세뇨관에서 기원한 것인지 혹은 사구체에서 기원한 것인지는 알 수 없었고, 또한 본 실험의 대상 환자들 대부분에서 낭창성신염이 존재한다 해도 혈중 크레아티닌이나 크레아티닌 청소율로 미루어 볼 때 신기능 자체의 손상은 심하지 않기 때문에 그 결과가 명확하지 않을 수 있다.

Endothelin은 그 이외에도 체내에서 여러 생리적 작용을 나타냄이 보고되고 있는데, 신장에서의 그 작용을 보면 endothelin을 정맥내로 주입했을 때에 신혈류량 및 사구체 여과율이 감소하여 수분 배설율은 오히려 증가한다³⁰⁻³³). 또한 신혈관의 강력한 혈관수축물질로서 사구체전 미세혈관이나 사구체후 미세혈관 모두에서 혈관수축을 유발하고 세뇨관의 재흡수를 감소시킨다³⁴). Endothelin은 또한 쥐의 신수질의 수집관에 있는 Na^+/K^+ ATPase의 활성을 억제하며¹⁴)³⁵), arginine vasopressin(AVP)에 의한 cAMP의 축적을 방해하고 동시에 쥐의 심방에서 ANP분비를 자극하여 혈중 ANP농도를 증가시킨다. 신수집관에서 AVP는 cAMP의 생성에 의해 수분의 투과성을 증가시키므로, endothelin에 의한 cAMP생성의 감소는 사구체 여과율이나 신혈류량의 감소에도 불구하고 수분 배설량이 증가되는 기전을 설명해준다. 또한 ANP는 사구체여과율과 sodium배설을 증가시키는 작용을 가지나, endothelin에 의한 혈관평활근세포의 수축은 ANP에 의해 상쇄되는 점등으로 미루어 볼때³⁶)³⁷) 혈중의 ANP 증가는 endothelin의 수분 및 전해질균형에 대한 작용에는 중요한 역할을 미치지 못하며, 혈관수축 작용에 있어서는 endothelin과 상반된 피이드백으로서의 역할이 있을 것으로 생각된다¹²)³⁴). 본 연구에서도 요중의 염분 배설 분율과 혈중 및 요중의 ET-1의 상관관계를 밝히고자 하였으나, 이미 질병의 안정 상태에서 혈중 ET-1의 농도 역시 의미있는 증가를 보이지 않았으므로 염분 배설 분율에도 큰 영향을 미치지 않았을 것으로 추측할 수 있다.

저자는 낭창성 신염 환자에서 혈중 및 요중의 ET-1의 양과 청소율을 측정하고, 일반적인 사구체

여과율을 반영하는 크레아티닌 농도와 청소율, 그리고 세뇨관 병변의 표지자로 널리 이용되는 NAG의 요중 배설량을 함께 측정하여 그 결과를 비교 분석하고, 낭창성 신염에서의 혈중 및 요중 ET-1의 임상적 의의에 대해 밝히고자 하였다. 그러나 본 연구에서는 그 증례수가 적을 뿐 아니라, 낭창성 신염 환자군에서도 그 질병자체가 치료에 의해 관해가 유지된 비활동성인 경우가 다수였기 때문에 여러 요중 배설물질들과 질병의 활동도 사이에서의 다각적인 상관관계를 구하기는 어려웠고, 그 조직학적 차이로 미루어 예측할 수 있는 병변의 정도에 따른 여러 요중 물질들의 배설량의 차이에 의한 임상적 의의를 밝히는 데에도 한계가 있었다. 앞으로 요중으로 배설되는 ET-1이 낭창성 신염의 활동도 및 신손상 정도를 반영할 수 있는지에 대한 전향적인 연구와 함께, 다양한 신질환에서의 임상적인 표지자로서 ET-1이 이용될 수 있는지에 대한 지속적인 추사가 이루어져야 할 것이다.

결 론

Endothelin은 혈관 내피 세포에서 생성되는 21개의 아미노산 펩타이드로 구성된 물질로서 그 체내에서의 작용은 아직 확실히 밝혀지지는 않았으나 강력한 혈관수축작용과 호르몬 유사 작용 및 세포의 유사 분열 과정에서도 한 역할을 할 것으로 추측되며, 신질환이 있는 환자에서 혈중 endothelin-1(ET-1)의 혈중농도와 그 청소율이 증가되어 있다는 보고가 있다. 이것을 낭창성 신염의 병인과 관련지어 저자들은 낭창성 신염에서 이 물질이 신질환의 정도 및 활동도를 나타내는 임상적 표지자로 이용가능한지 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

그 방법으로는 조직학적으로 낭창성 신염을 확인받은 환자 7명과 정상대조군 7명을 대상으로 혈중 크레아티닌, ET-1과 신세뇨관 손상의 정도를 나타내는 지표로 이용되는 N-acetyl-β-D-glucosaminidase(NAG)를 측정하고 크레아티닌과 ET-1의 청소율을 구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 환자군과 대조군간에 연령, 수축기 및 확장기혈압, 생화학검사에는 차이가 없었으며, 환자군

에서 혈중 보체가와 anti-dsDNA는 대상환자 7명중 2명에서만 비정상 소견을 보였다.

2) 환자군과 대조군간에 혈청 크레아티닌, 혈장 ET-1의 값은 유의한 차이가 없었으며, 환자군에서 혈중 보체가와 anti-dsDNA는 대상환자 7명중 2명에서만 비정상 소견을 보였다.

3) 환자군에서 혈장 ET-1의 농도는 혈청 크레아티닌 농도, 보체가, anti-dsDNA농도 및 요중 알부민, NAG배설량과 유의적 상관관계를 밝힐 수 없었다($p > 0.05$).

4) 환자군에서 ET-1의 청소율과 크레아티닌 청소율, 혈중 보체가, anti-dsDNA와 요중 NAG배설량간에는 유의적 상관 관계를 찾을 수 없었다.

이상의 결과로 혈중 ET-1의 농도나 그 청소율로서 낭창성의 활동도를 예측할 수는 없었다. 그러나, 본 연구에서는 환자군의 대부분이 치료에 의해 질병의 관해가 온 상태로서 활동성 신염과 ET-1의 상관관계를 정확히 예측할 수 없었고, 그 증례수가 적어 통계 처리에 한계가 있었다. 앞으로 낭창성신염의 병태생리와 ET-1의 관련성, 낭창성신염이 활동기에 있어서의 ET-1의 역할에 대한 전향적 연구와 함께 활동성 신염에서 신기능 손상 정도에 따르는 요중 ET-1의 변화에 대한 다각적인 추사가 필요하다.

References

- 1) Rosalski SB, Wilkinson JH : *Preliminary communication-Urinary lactic dehydrogenase in renal disease. Lancet* 1958 ; 2 : 327-328
- 2) Yanasigawa M, Kurihara H, Kimura S : *A novel vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature* 1988 ; 332 : 411-415
- 3) Itoh Y, Yanasigawa M, Ohkubo S, Kimura C, Kosak T, Inoue A, Ishida N, Mitsui Y, Onda H, Fujino M, Masaki T : *Cloning and sequence analysis of cDNA encoding the precursor of a human endothelium-derived vasoconstrictive peptide, endothelin : Identify of human and porcine endothelin. FEBS Lett* 1988 ; 231 : 440-444
- 4) Inoue A, Yanasigawa M, Kimura S : *The human endothelin family : three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 2863-2868
- 5) Simonson MS, Wann S, Mene P, Dubyak GR, Kester M, Nakazator Y, Sedor JR, Dunn MJ : *Endothelin stimulates phospholipase C, Na^+/H^+ exchange, c-fos expression, and mitogenesis in rat mesangial cells. J Clin Invest* 1989 ; 83 : 708-712
- 6) Lahita RG : *Systemic lupus erythematosus, 2nd ed, Churchill Livingstone Inc, New York, 1992 : p683*
- 7) Warrens AN, Cascidy MJD, Takahashi K, Gbatei MA, Bloom SR : *Endothelin in renal failure. Nephrol Dial Transplant* 1990 ; 5 : 418-422
- 8) Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F : *Urinary excretion of endothelin-1 in normal subjects and renal disease. Kidney Int* 1991 ; 39:307-311
- 9) Kalvin MK, Russell WC, William AC, Albert CE, Catherine D : *Enzymuria as a marker of renal injury and disease : studies of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. Pediatrics* 1978 ; 62 : 751-760
- 10) Wellwood JM, Ellis BG, Price RK, Hammond K, Thompson AE, Jones NF : *Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. Br Med J* 1975 ; 16 : 408-411
- 11) Price RG : *The role of NAG(N-acetyl- β -D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity. Clin Nephrol* 1992 ; 38 Suppl No 1 : S14
- 12) Brenner BM, Rector FC : *The kidney, 4th ed, p.223, Philadelphia, Saunders, 1991*
- 13) Morita S, Kitamura K, Yamamoto Y, Eto T, Osada Y, Sumiyoshi A, Kono M, Tanaka K : *Immunoreactive endothelin in human kidney. Ann Clin Biochem* 1991 ; 28 : 267-271
- 14) Kohan DE : *Endothelin synthesis by rabbit renal tubule cells. Am J Physiol* 1991 ; 261 : 221-226
- 15) Kojima Y, Hiramatsu Y, Hioki K, Yamamoto M : *Diagnostic significance of urinary endothelin concentration. Nippon-Geka-Gakkai-Zasshi* 1991 ; 92 : 496
- 16) Sterzel RB, Kobett DH : *Interactions of inflammatory and glomerular cells in the response to glomerular injury. Nephrology* 1988 ; 18 : 137-145
- 17) Simonson MS, Dunn MJ : *Endothelin : Pathways of transmembrane signaling. Hypertension* 1990 ; 15(S 1) : 111-152
- 18) Simonson MS, Dunn MJ : *Endothelin stimulates contraction of rat glomerular mesangial cells and potentiates β -adrenergic mediated cyclic adenosine mono-*

- phosphate accumulation. J Clin Invest* 1990 : 85 : 787-797
- 19) Simonson MS, Jones JM, Dunn MJ : *Cytosolic and nuclear signaling by endothelin peptides : Mesangial response to glomerular injury. Kidney Int* 1992 : 41 : 542-545
 - 20) Mene P, Abboud HE, Dubyak GR, Scarpa A, Dunn MJ : *Effect of PDGF on inositol phosphates, Ca⁺⁺, and contraction of mesangial cells. Am J Physiol* 1987 : 253 : F458-F463
 - 21) Vogt PK, Bos TJ : *Jun : oncogene and transcription factor. Adv Cancer Res* 1991 : 55 : 1-35
 - 22) Curran T, Franza BR : *Fos and Jun : The activator-protein-1 connection. Cell* 1988 : 55 : 395-397
 - 23) Jaffer FE, Knauss TC, Poptic E, Abboud HE : *Endothelin stimulates PDGF secretion in cultured human mesangial cell. Kidney Int* 1990 : 38 : 1193-1198
 - 24) Silver BJ, Jaffer FE, Abboud HE : *PDGF synthesis in human mesangial cells : induction by multiple peptide mitogens. Proc Natl Acad Sci USA* 1989 : 86 : 1056-1060
 - 25) Sakamoto H, Sasaki S, Nakamura Y, Fusimi K, Marumo F : *Regulation of endothelin-1 production in cultured rat mesangial cells. Kidney Int* 1992 : 41 : 350-354
 - 26) Ohta K, Hirata Y, Imai T, Kanno K, Emori T, Shichiri M, Marumo F : *Cytokine induced release of endothelin-1 from porcine renal epithelial cell line. Biochem Biophys Research Comm* 1990 : 169 : 578-584
 - 27) Benigni A, Perico N, Gaspari F, Zoja C, Bellizzi L, Gabanelli M, Remuzzi G : *Increased renal endothelin production in rats with reduced renal mass. Am J Physiol* 1991 : 260 : 331-339
 - 28) Guyton AC : *Textbook of medical physiology, 7th ed, Philadelphia, Saunders, 1986 : p877*
 - 29) John PH, Pasquale EP, Stuart CF : *Urinary nuremidase and renal disease. N Engl J Med* 1968 : 279 : 506-518
 - 30) Badr KF, Murray JJ, Breyer MD, Takahashi K, Inagami T, Harris RC : *Mesangial cell, glomerular and renal vascular responses to endothelin in the rat kidney. J Clin Invest* 1989 : 83 : 336-342
 - 31) Goetz KL, Wang BC, Madwed JS, Jhu JL, Leadly RJ : *Cardiovascular, renal and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs. Am J Physiol* 1988 : 255 : R1064-R1068
 - 32) Tomita K, Nonoguchi h, Marumo F : *Effects of endothelin in peptide-dependent adenosine monophosphate accumulation along the nephron segments of the rat. J Clin Invest* 1990 : 85 : 2014-2018
 - 33) Miller WL, Redfield MM, Burnett JC : *Integrated cardiac, renal and endocrine actions of endothelin. J Clin Invest* 1989 : 83 : 317-320
 - 34) Takabatake R, Ise T, Ohta K, Kobayashi K : *Endothelin effects on renal function and tubuloglomerular feedback. Kidney Int* 1991 : Suppl 32 : S122-S124
 - 35) Garvin J, Sanders K : *Endothelin inhibits fluid and bicarbonate transport in part by reducing Na⁺/K⁺ ATPase activity in the rat proximal straight tubule. J Am Soc Nephrol* 1991 : 2 : 976-982
 - 36) Maack T, Camargo MJF, Kleinert HD, Laragh JH, Atlas HA : *Atrial natriuretic factor : structure and functional properties. Kidney Int* 1985 : 27 : 607-615
 - 37) Nonoguch H, Sands JM, Knepper MA : *Atrial natriuretic factor inhibits NaCl and fluid absorption in cortical collecting duct of rat kidney. Am J Physiol* 1989 : 256 : F179-F186