

# 일측성 완전 요관폐색 가토 모델에서 분리 신기능에 따른 조직변화 및 Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ 와 Vascular Endothelial Growth Factor 발현에 관한 연구

The Histological Changes and Expression of Hypoxia Inducible Factor-1  $\alpha$  and Vascular Endothelial Growth Factor according to the Differential Renal Function during Total Ureteral Obstruction in the Rabbit Model

Ki Sik Shim<sup>1</sup>, Kyung Mi Lee<sup>2,5</sup>, Sang Don Lee<sup>2,5</sup>, In Joo Kim<sup>3,5</sup>, Ji Yeon Kim<sup>4,5</sup>

From the Department of Urology, <sup>1</sup>Veterans Hospital, Departments of <sup>2</sup>Urology, <sup>3</sup>Nuclear Medicine, <sup>4</sup>Pathology and <sup>5</sup>Medical Research Institute, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

**Purpose:** The renal histological and hemodynamic changes and the expressions of hypoxia inducible factor-1  $\alpha$  (HIF-1  $\alpha$ ) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were evaluated according to the differential renal function (DRF) during total ureteral obstruction (TUO) in a rabbit model.

**Materials and Methods:** In forty-nine control (5) and 16 experimental rabbits (16 in TUO 3 days, 13 in TUO 7 days and 15 in TUO 14 days), the renal blood flow (RBF) and 99mTc-DTPA renal scan were measured both before and after TUO. The cut-off of the DRF group was 40%. The histological changes and expressions of HIF-1  $\alpha$  and VEGF were evaluated using H&E and immunohistochemical stain, respectively.

**Results:** The entire control group demonstrated more than 40% DRF. Contrary to the control group, the DRF was less than 40% in 4 (25%), 7 (53%) and 6 rabbits (40%) in TUO 3, 7 and 14 day groups, respectively. The postobstructive compared to preobstructive RBF was decreased in each group. The RBF was more decreased in the lower than the higher DRF group (more than 40%) in all of the experimental groups. Abnormal histological changes were more prominent in the experimental groups, and increased with the obstruction time. However, there was no difference in relation to the DRF. The expressions of HIF-1  $\alpha$  and VEGF were more prominent in the experimental and lower DRF groups.

**Conclusions:** During acute TUO, the decreased RBF and hypoxia may play a role in preservation of the DRF. (Korean J Urol 2007;48:444-451)

**Key Words:** Ureteral obstruction, Kidney function, Hypoxia-inducible factor 1, Vascular endothelial growth factor, Histology

대한비뇨기과학회지  
제 48 권 제 4 호 2007

<sup>1</sup>부산보훈병원 비뇨기과  
부산대학교 의과대학  
<sup>2</sup>비뇨기과학교실, <sup>3</sup>핵의학교실,  
<sup>4</sup>병리학교실, <sup>5</sup>의학연구소

심기식<sup>1</sup> · 이경미<sup>2,5</sup> · 이상돈<sup>2,5</sup>  
김인주<sup>3,5</sup> · 김지연<sup>4,5</sup>

접수일자 : 2006년 10월 11일  
채택일자 : 2007년 3월 6일

교신저자 : 이상돈  
부산대학교병원 비뇨기과  
부산광역시 서구 아미동 1가  
10번지  
☎ 602-730  
TEL : 051-240-7348  
FAX : 051-247-5443  
E-mail : lsd@pusan.ac.kr

## 서 론

일측성 요관폐색은 요로폐색에 대한 신장의 반응을 연구하는 유용한 모델이다. 일측성 요관폐색 동안 전체 신혈류

가 변동하면 신장 내의 심한 국소적 혈역동학적 변화도 함께 일어나며 이러한 변화는 신장의 혈관확장이나 혈관수축에 관여하는 여러 가지 물질들 사이의 복잡한 상호작용에 의해서 일어난다.<sup>1,2</sup> 일반적으로 일측성 요관폐색이 일어나면 환측 신장, 특히 신수질의 혈류가 더욱 감소하여 저산소

증을 유발시키며 이로 인하여 저산소증에 민감한 유전인자들의 전사를 야기한다. 최근 수 년 동안 세포 저산소증에 대한 분자생물학적 연구가 활발히 이루어지고 있다. 당운송, 당분해작용, 혈관형성, 조혈작용 등에 관여하는 여러 가지 유전자들이 저산소증에 대한 적응반응으로서 조절되고 있다.<sup>3</sup> 이들 유전자들로는 erythropoietin, transferrin, endothelin-1, inducible nitric oxide synthase (iNOS), heme oxygenase 1, vascular endothelial growth factor (VEGF), IGF-binding protein-2 및 3, 13, 당분해 효소 등이 포함된다.<sup>4,5</sup>

저산소증과 관련된 반응의 선행조건으로 basic helix-loop-helix-PAS (Per-ARNT-Sim) family를 구성하는 전사인자들이 필요하며 hypoxic inducible factor-1 (HIF-1)이 대표적 전사인자 중 하나이다.<sup>3,5</sup> 최근 많은 연구자들이 배아형성, 종양의 혈관형성 및 진행, 허혈성 과정 동안 HIF-1의 분자생물학적 역할에 대하여 연구하고 있다. 저산소 상태에서 전사인자인 HIF-1의 활성이 촉진되면 혈관생성인자인 VEGF와 그 수용체의 발현이 일어난다. 또한 HIF-1 $\alpha$ 의 활성도의 증가는 VEGF mRNA를 증가시키며, 이로 인하여 미세혈관 신생이 발생한다. 그러나 요관폐색 후 환측 신장에서의 HIF-1 $\alpha$ 와 VEGF의 발현에 대한 연구는 미비한 실정이며 특히 99mTc-DTPA 신주사검사를 통해 측정된 분리 신기능과 비교하여 연구된 결과는 저자의 문헌조사에 의하면 현재까지 없는 실정이다.

저자는 일측성 완전 요관폐색 후 분리신기능의 차이를 유발하는 원인으로서는 혈류량의 변화와 HIF-1 $\alpha$  및 VEGF의 발현, 그리고 조직학적 변화의 역할에 대해 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 대상

대한실험동물센터로부터 뉴질랜드 화이트가토(평균 1.85kg, 10-12주령) 49마리를 공급받았다. 가토들은 1-2주간의 실험실 적응기간을 가지면서 물과 먹이를 자유롭게 먹게 하였으며 specific pathogen free (SPF) 상태를 유지하면서 사육하였다. 가토들은 각각 대조군(정상 5마리) 및 실험군(일측성 완전 요관폐색 후 3일군 16마리, 7일군 13마리, 14일군 15마리)으로 분류하였다.

실험군은 99mTc-DTPA 신주사 결과에 따라 환측(완전 요관폐색 부위)의 분리 신기능이 40% 이상군과 40% 미만군으로 구분하여, 각 군 간의 조직변화, 혈류량 변화, HIF-1 $\alpha$  및 VEGF의 발현을 조사하였다.

### 2. 실험방법

**1) 신혈류 측정과 99mTc-DTPA 신주사 시행 및 조직적출:** Ketamine 근육주사(2mg/kg)를 이용하여 가토를 마취시킨 상태에서 수술을 시행하였다. 가토를 수술대 위에서 양와위로 고정시킨 다음, 복부중앙부의 털을 깨끗이 깎은 후 배타단 및 알코올로 소독하였다. 복부를 중앙에서 종으로 절개, 박리한 후 노출된 내장을 생리식염수로 적신 거즈로 덮어 상방으로 젖혔다. 그런 다음 좌측 신동맥을 노출시킨 후 신혈류를 레이저 혈류 측정기(Omega Flow FLO-C1, Omegawave Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 측정 시 측정자의 오차를 최대한 줄이기 위하여 신동맥의 정중앙 부위를 한 마리당 5회씩 측정하여 평균값을 사용하였다. 완전 요관폐색은 좌측 신우요관이행부와 신장을 노출시킨 후 신우요관이행부를 실크로 묶어 완전 폐색시켰다. 술 후 각 군별(3일군, 7일군, 14일군)로 해당 날짜에 99mTc-DTPA 신주사 검사를 시행하였으며, 신주사 검사 직후 다시 개복하여 신동맥의 정중앙 부위에서 신혈류를 측정한 후 미세수술 기구를 이용하여 신장을 적출하였다. 대조군의 경우 99mTc-DTPA 신주사 검사를 시행한 직후 개복하여 신혈류를 측정한 후 신장을 적출하였다. 적출된 신장은 종으로 절개하였으며 절개된 반쪽의 신장조직은 면역조직화학 염색을 위하여 검체를 적출 즉시 포르말린 용액에 담가 24시간 동안 고정시킨 후 파라핀 블록을 만들어 보관하였고, 나머지 반은 조직학적 변화를 관찰하기 위해 포르말린에 고정시켰다.

**2) 면역조직화학염색 방법:** 5 $\mu$ m 두께의 파라핀 포매된 조직편을 xylene을 이용해 파라핀을 제거한 후 에틸 알코올로 4분씩 4회 순차적으로 수화시킨 다음 증류수로 3분 동안 세척하였다. Citric acid 완충액에 슬라이드를 넣어 5-6분 동안 극초단파 처리한 후, 끓는 시점부터 10-15분 정도 조절하면서 끓인 다음, 1시간 정도 실온에서 식혔다. 이후 내인성 과산화효소활성을 억제하기 위해서 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 15분 정도 두었다가, 흐르는 물에 넣어 세척 후 다시 인산 완충액(phosphate-buffered saline; PBS)에서 10분 정도 두었다. 방어 혈청을 조직에 떨어뜨리고 5분간 반응시킨 다음, 방어 혈청을 털어 내고 1:50으로 희석한 HIF-1 $\alpha$  1차 항체(Santa Cruz Biotechnology, USA)를 조직에 떨어뜨리고 4°C에서 하룻밤 두었다. 그후 인산 완충액으로 5분씩 3번 씻어냈다.

이차 항체인 LINK 항체(DAKO Co., Germany)를 슬라이드 위에 떨어뜨리고 15분간 반응시킨 후 다시 인산 완충액에 5분씩 3번 씻어냈다. Streptavidin-biotin 복합체를 슬라이드 위에 충분히 떨어뜨리고 15분간 반응시킨 후 인산 완충액에 5분씩 3번 씻어냈다. 다시 증폭시약을 슬라이드 위에

떨어뜨려 15분 경과 후 인산 완충액에 5분씩 3번 씻어냈다. Streptavidin-peroxidase로 15분 정도 충분히 반응시키고 다시 인산 완충액에 5분씩 3번 씻어낸 후 substrate-chromogen 용액을 슬라이드 위에 떨어뜨려 발색시켰다. 발색이 된 다음 증류수로 씻어내고 3분 정도 대조염색을 시행하였다. 다시 증류수로 세척 후 마지막 알코올로 탈수 처리한 후 xylene으로 세척하고 고정액을 뿌린 후 커버 슬라이드로 덮어 봉입하였다.

VEGF 면역조직화학염색은 HIF-1 $\alpha$ 와 동일한 방법으로 시행하였으며, VEGF 1차 항체 (Santa Cruz Biotechnology, USA)는 1:100으로 희석하여 사용하였다.

3) 면역조직화학염색 발현의 분석: HIF-1 $\alpha$  및 VEGF 발현 양상은 한명의 비뇨병리의사가 면역조직화학적으로 염색된 조직 절편을 200배 확대 시야에서 신수질을 중심으로 분석하였다. HIF-1 $\alpha$  및 VEGF 발현의 분류는 정확한 기준이 확립되어 있지 않으나 200배 확대 시야에서 염색강도를 기준으로 세포막과 세포질 염색이 안 되는 경우를 음성으로 (-), 세포막과 세포질 염색이 25% 이내로 염색될 때 약양

성 (1+), 25-75%로 염색될 때 중등도 양성 (2+), 75% 이상 염색될 때 강양성 (3+)으로 분류하였다. 염색 결과의 분석은 음성 및 약한 양성, 중등도 양성 그리고 강한 양성의 네 군으로 나누어 비교하였다 (Fig. 1, 2).

4) H&E 염색 검사: 적출된 조직을 포르말린에 고정하고 H&E 염색을 하여 한 명의 비뇨병리의사가 분석하였다. 이뇨성 99mTc-DTPA 신주사검사에서 40% 이상 및 이하의 분리신기능에 따른 조직변화의 차이를 알아보기 위하여 적출한 신조직에서 사구체의 수, 사구체 경화, Bowman's space 확장, 집합관 확장, 근위세뇨관 확장, 간질 섬유화 및 염증을 조사하여 변화의 정도에 따라 네 단계로 분류하였다. 정상을 0점, 경도 변화를 1점, 중등도 변화를 2점, 그리고 고도 변화를 3점으로 하여 각 군 간 평균 점수로 비교하였다.

### 3. 통계처리

통계처리는 Mann-Whitney 검정, Kruskal-Wallis 검정, Wilcoxon 부호 순위 검정 및 Fisher's exact test를 이용하였으며

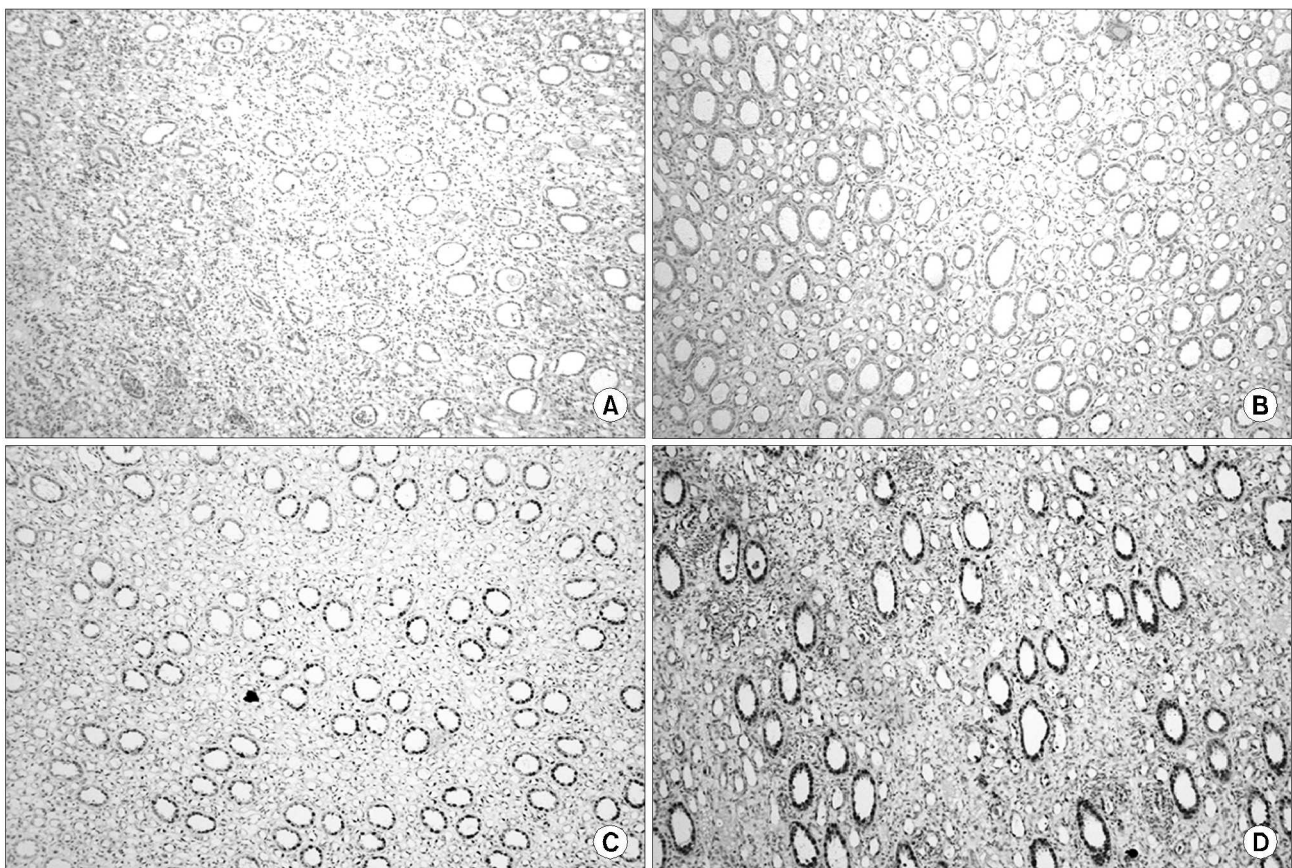
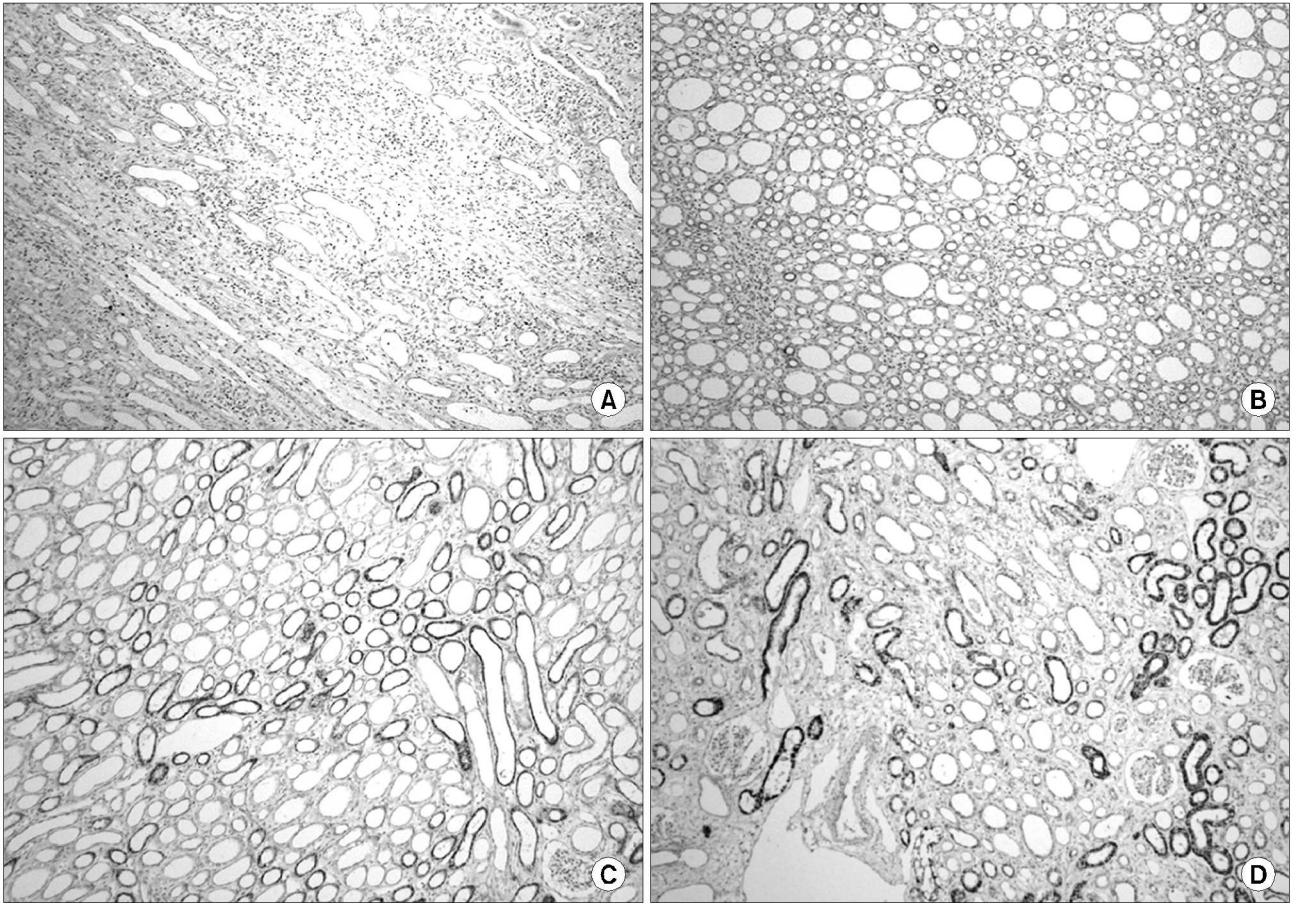


Fig. 1. Classification of the immunohistochemical staining for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ . (A) Negative (-), (B) weak positive (1+), (C) moderate positive (2+), (D) strong positive (3+) (x200).



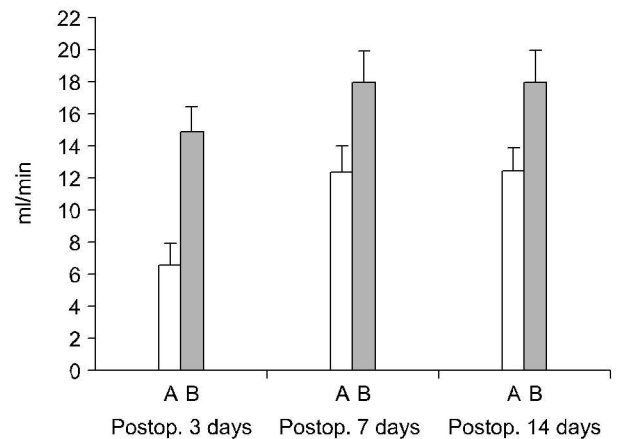
**Fig. 2.** Classification of immunohistochemical staining for vascular endothelial growth factor. (A) Negative (-), (B) weak positive (1+), (C) moderate positive (2+), (D) strong positive (3+) (x200).

p값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 분리신기능

가토 대조군 5마리 모두 좌신의 분리신기능이 40% 이상 ( $51.7 \pm 4.22\%$ )이었다. 좌측 완전 요관폐색 3일군 16례 중 4례 (25%)에서 좌측 분리신기능이 40% 미만 (평균  $35.1 \pm 2.05\%$ )이었고 나머지 12례 (75%)는 40% 이상 (평균  $46.1 \pm 3.47\%$ )이었다. 폐색 7일군 13례 중 7례 (53.8%)에서 40% 미만 (평균  $33.5 \pm 3.08\%$ )이었고 나머지 6례 (46.2%)는 40% 이상 (평균  $51.1 \pm 7.62\%$ )이었다. 폐색 14일군 15례 중 6례 (40%)에서 40% 미만 ( $35.4 \pm 3.68\%$ )이었고 나머지 9례 (60%)에서 40% 이상 ( $49.3 \pm 6.62\%$ )이었다. 분리신기능이 40% 미만으로 되는 경우는 폐색 3일경보다 7일 및 14일경에 더 많이 발생하나, 평균 분리신기능은 세 군 간에 차이가 없었다 (Kruskal Wallis test;  $p < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Change in the ipsilateral renal blood flow according to the differential renal function with respect to the duration of the total ureteral obstruction. (A) Differential renal function  $\geq 40\%$ , (B) differential renal function  $< 40\%$  (Mann-Whitney test and Wilcoxon signed rank test;  $p > 0.05$ ). Bar graphs indicate the blood flow of post-obstruction minus that pre-obstruction.

## 2. 신혈류변화

폐색 3일 후 분리신기능 40% 이상군에서 혈류량 변화는 술 전  $46.7 \pm 6.43 \text{ ml/min}$ , 술 후  $40.3 \pm 5.64 \text{ ml/min}$ 였으며, 40% 미만인 군에서는 술 전  $49.1 \pm 7.34 \text{ ml/min}$ , 술 후  $34.7 \pm 6.93 \text{ ml/min}$ 였다. 폐색 7일 후 분리신기능이 40% 이상군에서 혈류량 변화는 술 전  $52.9 \pm 6.54 \text{ ml/min}$ , 술 후  $40.1 \pm 7.91 \text{ ml/min}$ 였으며, 40% 미만군에서는 술 전  $48.3 \pm 4.39 \text{ ml/min}$ , 술 후  $30.1 \pm 6.82 \text{ ml/min}$ 였다. 폐색 14일 후 분리신기능이 40% 이상군에서 혈류량 변화는 술 전  $48.6 \pm 7.43 \text{ ml/min}$ , 술 후  $36.7 \pm 7.13 \text{ ml/min}$ 였으며, 40% 미만군에서는 술 전  $47.3 \pm$

$5.98 \text{ ml/min}$ , 술 후  $28.8 \pm 6.91 \text{ ml/min}$ 였다.

완전 요관폐색 3일, 7일, 14일 모두에서 술 후 신혈류량이 술 전에 비하여 의미있게 감소하였다 (Wilcoxon signed rank test;  $p < 0.05$ ). 그리고 완전 요관폐색 3일, 7일 및 14일 군 각각에서 분리신기능 40% 미만군 및 40% 이상군의 술 전, 후의 신혈류량의 변화 비교에서 분리신기능에 따라 의미있는 차이는 없었으나 더 감소하는 경향을 나타냈다 (Mann Whitney test 및 Kruskal Wallis test;  $p > 0.05$ ) (Fig. 3).

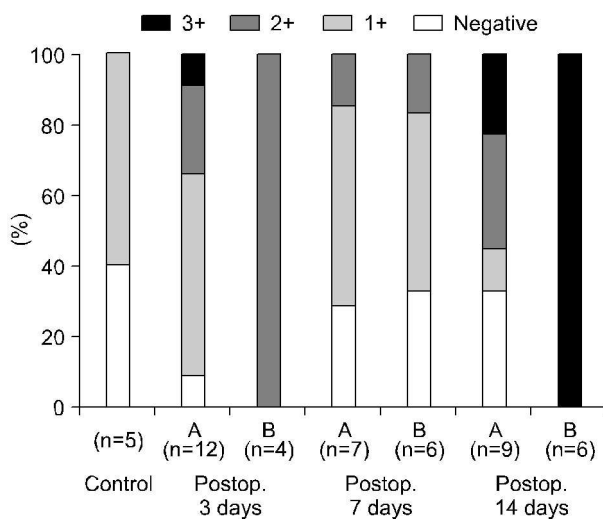
## 3. 신장의 조직학적 변화

신장조직의 H&E 염색 결과 집합세관 확장, 근위세관 확

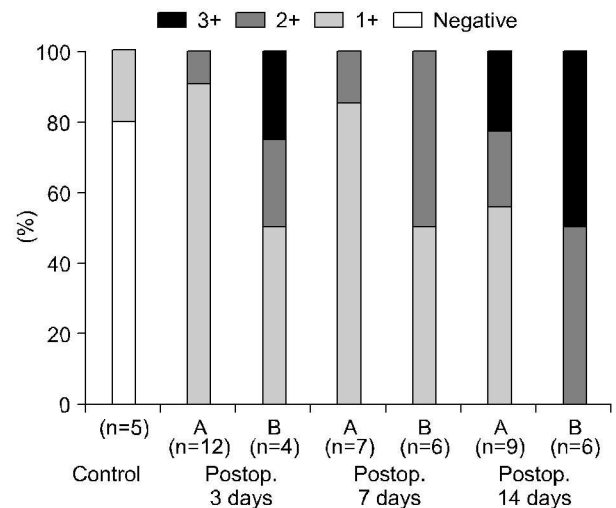
**Table 1.** Microscopic findings of ipsilateral kidneys according to the duration of the total ureteral obstruction and differential renal function

Group	No. of glomerulus	Global sclerosis	FSGS*	Dilatation of Bowman's space	Dilatation of collecting duct <sup>†</sup>	Dilatation of proximal tubule <sup>†</sup>	Interstitial fibrosis <sup>†</sup>	Interstitial inflammation <sup>†</sup>
Control	$58 \pm 13.0$	0	0	0	$0.6 \pm 0.9$	0	0	$0.6 \pm 0.8$
Postop. A	$49.8 \pm 16.4$	0	0	$0.5 \pm 0.5$	$1.1 \pm 0.7$	$0.6 \pm 0.5$	0	$0.3 \pm 0.4$
3 days B	$45.0 \pm 5.7$	0	0	$0.5 \pm 0.5$	$1.25 \pm 0.5$	$0.5 \pm 0.5$	$0.25 \pm 0.5$	$0.25 \pm 0.5$
Postop. A	$46.0 \pm 11.1$	0	0	$0.7 \pm 1.1$	$1.7 \pm 0.7$	$0.9 \pm 0.3$	$0.1 \pm 0.3$	$0.7 \pm 0.7$
7 days B	$52.3 \pm 12.0$	0	0	$0.8 \pm 0.4$	$1.3 \pm 0.8$	$0.8 \pm 0.4$	$0.2 \pm 0.4$	$0.5 \pm 0.5$
Postop. A	$48.3 \pm 11.6$	0	0	$0.3 \pm 0.5$	$1.8 \pm 0.4$	$1.3 \pm 0.5$	$0.7 \pm 0.5$	$1.2 \pm 0.7$
14 days B	$43.0 \pm 10.8$	0	0	$0.2 \pm 0.4$	$1.6 \pm 0.5$	$1.0 \pm 0.6$	$1.2 \pm 0.7$	$1.8 \pm 0.4$

\*: focal segmental glomerular sclerosis. A: differential renal function  $\geq 40\%$ , B: differential renal function  $< 40\%$ . Statistical analysis by Mann Whitney test and Kruskal Wallis test (<sup>†</sup>:  $p < 0.05$ )



**Fig 4.** Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  expressions of ipsilateral kidneys according to the differential renal function with respect to the duration of the total ureteral obstruction. (A) Differential renal function  $\geq 40\%$ , (B) differential renal function  $< 40\%$  (Fisher's exact test:  $p > 0.05$ ).



**Fig 5.** Vascular endothelial growth factor expressions of ipsilateral kidneys according to the differential renal function with respect to the duration of the total ureteral obstruction. (A) Differential renal function  $\geq 40\%$ , (B) differential renal function  $< 40\%$  (Fisher's exact test:  $p > 0.05$ ).

장, 간질조직 섬유화 및 염증소견은 대조군에 비해 실험군에서 증가되었으며, 완전 요관폐색 3일, 7일 및 14일 군에서 시간이 지남에 따라 통계적으로 의미있게 증가하는 양상을 나타냈다 (Mann Whitney test 및 Kruskal Wallis test;  $p < 0.05$ ). 그러나 완전 요관폐색 3일, 7일 및 14일 각 군에서 분리신기능이 40% 미만과 이상인 군 간에 의미있는 차이는 없었다 (Mann Whitney test;  $p > 0.05$ ). Bowman's space 확장 및 신사구체 수는 대조군과 실험군 간에 유의한 차이는 없었으며, 폐색기간 및 분리신기능에 따른 유의한 차이도 없었다 (Mann Whitney test 및 Kruskal Wallis test;  $p > 0.05$ ). 사구체 경화증은 대조군과 실험군 모두에서 관찰되지 않았다 (Table 1).

#### 4. HIF-1 $\alpha$ 및 VEGF의 조직 내 발현

절제된 신장에서의 HIF-1  $\alpha$  및 VEGF 발현은 대조군보다 실험군에서 전체적으로 높게 발현되는 경향을 보였다. 그리고 각 폐색기간에서 분리신기능 40% 미만에서 40% 이상 군에 비하여 HIF-1  $\alpha$  및 VEGF 발현이 더 높게 발현되는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다 (Fisher's exact test;  $p > 0.05$ ) (Fig. 4, 5).

### 고 찰

급성 요관폐색으로 인하여 요관압력, 특히 신우내압이 증가하면 신혈류 장애가 발생하여 신혈류량이 감소하게 되고 최종적으로 신장의 허혈성 손상이 일어난다.<sup>1</sup> 일측성 요관폐색 후 신혈류 변화의 기전에 대해서는 여러 연구자들의 연구 결과가 보고되어 있다. 요관폐색 초기에는 prostaglandin (PG) 특히 PG E<sub>2</sub>의 분비로 인하여 신혈류량이 증가되고 Henles' loops의 medullary thick ascending limbs에서 Na, K-ATPase 활성이 억제되기 때문에 신수질의 산소 항상성에 PG가 중요한 역할을 한다.<sup>2,6</sup> 만일 PG 합성이 억제되면 신수질의 혈류량이 선택적으로 많이 감소하여 국소적 저산소증과 허혈성 손상이 일어난다.<sup>7</sup> 요관폐색 초기 혈류의 증가에는 PG 이외에도 NO, atrial natriuretic peptide가 관여한다.<sup>8</sup> 그러나 요관폐색 초기 혈류 증가는 현재까지의 여러 실험결과 개 실험에서는 대부분 나타나지만 어린 양의 실험에서는 혈류증가가 없었으며 흰쥐 실험에서도 매우 드물게 나타난다고 한다.<sup>9</sup> 요관폐색 초기 이후 신혈류의 감소는 사구체 전 세동맥 (preglomerular arteriole)의 수축에 따른 결과이며, thromboxane A<sub>2</sub>, renin-angiotensin계 및 endothelin이 관여할 것으로 생각한다.<sup>9,10</sup> 폐색 24시간 이후에는 낮은 신피질 관류와 낮은 사구체 모세관압을 보이며 사구체 전, 후혈관들 (pre & postglomerular vessels)의 저항이 증가한다. 그

러나 이런 혈관 수축의 기전에 대해서는 아직 모르고 있다.<sup>11</sup>

본 연구에서 완전 요관폐색 후 3일, 7일 및 14일군 모두 술 전에 비해 술 후 환측 신혈류량이 의미있게 감소하였다. 또한 세 군 모두 분리신기능이 40% 미만군에서 40% 이상 군에 비해 혈류량 감소가 통계적 유의성은 없었으나 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 완전 요관폐색 후 환측 신혈류의 변화가 분리신기능의 변화에 관여할 것으로 생각한다.

포유동물 조직들은 산소 공급에 매우 민감하다. 허혈성 손상으로 인하여 야기되는 불충분한 산소 공급은 세포 손상을 일으키고 심지어 세포사망을 야기할 수 있다. 산소 농도의 감소는 산소 항상성에 관여하는 유전자들의 발현을 유도할 수 있다.<sup>3,5</sup> HIF-1은 포유동물의 세포들에서 저산소증에 대한 반응을 조절하는 주요 전사 조절자이다.<sup>3,5</sup> HIF-1은 basic helix-loop-helix/Per-ARNT-Sim (bHLH-PAS) 상과 (superfamily)에 속하는 전사인자들 중 하나로 많은 조직에서 저산소증과 산소 항상성에 반응하는 중요한 조절인자로 알려져 있다.<sup>3,4</sup> HIF-1은 HIF-1  $\alpha$ 와 HIF-1  $\beta$ 로 구성된 heterodimer로, HIF-1  $\beta$ 는 aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)로 알려져 있으며 다발성 bHLH-PAS 단백질의 공유 아형인 반면 HIF-1  $\alpha$ 는 HIF-1 활성을 결정하는 아형으로서 특징적으로 산소에 의해 조절된다. 그러나 HIF-1  $\alpha$ 는 산소의존성 조절 이외에도 cobalt, nikel 같은 transition metals, NO, ROS, 기계적 자극, 그리고 insulin, insulin-like growth factor, epidermal growth factor, interleukin-1과 같은 성장인자들 등에 의해 산소 비의존성으로도 조절된다.<sup>12</sup>

VEGF는 Ferrara와 Henzel<sup>13</sup>이 처음으로 뇌하수체 소포세포 (follicular cell)에서 분리 정제하였다. VEGF는 분자량이 34-45kDa인 4가지의 다른 분자 구조를 가진 당단백으로 혈관내피세포의 성장을 선택적으로 자극하여 혈관신생을 유도하고, 혈관투과성을 증가시키며, 피브리노겐과 같은 분자량이 큰 물질의 혈관 밖 유출을 조장하여 피브린의 침윤을 유도하고, 세포외 기질을 변환시켜 대식세포, 섬유아세포 및 내피세포의 이동을 증진시킨다.<sup>14,15</sup> 저산소 상태에서 전사인자인 HIF-1의 활성이 촉진되면 혈관생성인자인 VEGF, basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin growth factor-II (IGF-II)와 그 수용체들의 발현이 일어난다.<sup>16</sup> 또한 HIF-1  $\alpha$  활성도의 증가는 VEGF mRNA를 증가시키며, 이로 인하여 미세혈관 신생이 일어난다.<sup>17</sup>

본 연구에서 HIF-1  $\alpha$  및 VEGF 발현은 실험군에서 대조군보다 높게 발현되었고 폐색 후 각 기간 동안 분리신기능이 40% 미만군에서 40% 이상군보다 발현이 증가되는 경향을 나타냈다. 이런 결과로 미루어 일측성 완전 요관폐색 시 환측신의 혈류량 감소로 저산소증이 발생하는 경우, 이를 보

상하기 위한 HIF-1 $\alpha$  및 VEGF 등과 같은 분자생물학적 변화가 일어날 수 있을 것으로 생각한다.

요관 폐색으로 인한 신실질의 조직변화는 초기에는 신실질에 무균성의 염증 침윤이 관찰되고 폐색이 장기간 지속되는 경우에 현저한 신유두 변형, 세뇨관 확장, 신실질 변성 및 염증, 대측의 보상성 신비대를 동반한 실질 위축이 발생된다.<sup>18,19</sup> 또한 일부에서는 사구체 경화와 세뇨관 위축의 소견도 보이고 요관을 완전 폐색시켰을 때 이러한 병변이 심해질 뿐만 아니라 섬유아세포 및 단핵세포의 증식도 나타난다.<sup>20</sup> 임상 연구에서도 경미하게는 국소적인 세뇨관의 확장 또는 위축, Bowman's space 내의 호산성 물질 침착으로부터 간질의 염증 및 섬유화, 사구체 경화, 신수질 이형성증, 사구체의 낭종성 변화 등의 진행성 병변이 보고되었다.<sup>21-26</sup>

본 연구에서 일측성 완전 요관폐색을 동일조건하에서 인위적으로 만들었는데도 불구하고 이노성 99mTc-DTPA 신주사에서 분리신기능이 40% 이상과 미만으로 차이를 보였다. 이러한 이유를 알아보려고 환측 신장의 조직변화를 조사하여 상호연관성을 찾아보고자 하였다. 본 연구에서 집합세관의 확장, 근위세관 확장, 간질조직 섬유화 및 염증소견은 대조군에 비해 실험군에서 증가되었으며 3일, 7일 및 14일군에서 시간이 지남에 따라 증가하는 양상을 나타내었다. 그렇지만 Bowman's space 확장 및 신사구체 수는 대조군과 실험군 간에 유의한 차이는 없었으며, 사구체 경화증은 대조군과 실험군 모두에서 관찰되지 않았다. 폐색 후 경과 기간에 따라 세뇨관-간질 변화는 뚜렷하지만 사구체 변화는 상대적으로 낮았는데 이러한 이유로 저자들은 완전 요관폐색 후 경과 기간에 따라 수신증에 의해 신실질이 압박을 받으며 이러한 압박이 세뇨관-간질에 먼저 변화를 주고 나중에 사구체에 변화를 줄 것으로 생각한다.

## 결 론

본 연구에서 일측성 완전 요관폐색 후 3일, 7일 및 14일군 모두 술 전에 비해 술 후 환측 신혈류량이 의미있게 감소하였고, 세 군 모두 분리신기능이 40% 미만군에서 40% 이상군에 비해 혈류량이 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 HIF-1 $\alpha$  및 VEGF 발현은 실험군에서 대조군보다 높게 발현되었고 폐색 후 각 기간 동안 분리신기능이 40% 미만군에서 40% 이상군보다 발현이 증가되는 경향을 나타냈다. 이러한 사실로 미루어 일측성 완전 요관폐색 후 분리신기능 저하의 한 원인으로서 신혈류량의 감소와 이로 인한 저산소증이 중요한 역할을 할 것으로 생각한다.

## REFERENCES

1. Fitzgerald J, Chou SY, Wahid A, Porush JG. Regional expression of inducible nitric oxide synthase in the kidney in dogs with unilateral ureteral obstruction. *J Urol* 2001;166:1524-9
2. Lanzone JA, Gulmi FA, Chou SY, Mooppan UM, Kim H. Renal hemodynamics in acute unilateral ureteral obstruction: contribution of endothelium-derived relaxing factor. *J Urol* 1995;153:2055-9
3. Wenger RH, Gassmann M. HIF-1 and the molecular response to hypoxia in mammals. In: Storey KB, editor. *Environmental stress and gene regulation*. 1st ed. Oxford: BIOS Scientific Publishers; 1999;25-45
4. Semenza GL. Regulation of mammalian O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999;15:551-78
5. Feldser D, Agani F, Iyer NV, Pak B, Ferreira G, Semenza GL. Reciprocal positive regulation of hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and insulin like growth factor 2. *Cancer Res* 1999;59:3915-8
6. Lear S, Silva P, Kelley VE, Epstein FH. Prostaglandin E2 inhibits oxygen consumption in rabbit medullary thick ascending limb. *Am J Physiol* 1990;258:1372-8
7. Heyman SN, Brezis M, Epstein FH, Spokes K, Silva P, Rosen S. Early renal medullary hypoxic injury from radiocontrast and indomethacin. *Kidney Int* 1991;40:632-42
8. Cadnapaphornchai P, Aisenbrey G, McDonald KM, Burke TJ, Schrier RW. Prostaglandin-mediated hyperemia and renin-mediated hypertension during acute ureteral obstruction. *Prostaglandins* 1978;16:965-71
9. Kim KM, Bogaert GA, Nguyen HT, Borirakchanyavat S, Kogan BA. Hemodynamic changes after complete unilateral ureteral obstruction in the young lamb. *J Urol* 1997;158:1090-3
10. Yarger WE, Schocken DD, Harris RH. Obstructive nephropathy in the rat: possible roles for the renin-angiotensin system, prostaglandins, and thromboxanes in postobstructive renal function. *J Clin Invest* 1980;65:400-12
11. Wahlberg J, Karlberg L, Persson AE. Total and regional renal blood flow during complete unilateral ureteral obstruction. *Acta Physiol Scand* 1984;121:111-8
12. Chun YS, Kim MS, Park JW. Oxygen-dependent and -independent regulation of HIF-1 $\alpha$ . *J Korean Med Sci* 2002;17:581-8
13. Ferrara N, Henzel JW. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-8
14. Jinno K, Tanimizu M, Hyodo I, Nishikawa Y, Hosokawa Y, Doi T, et al. Circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) is a possible tumor marker for metastasis in human hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 1998;33:376-82

15. Yoshiji H, Kuriyama S, Ways DK, Yoshii J, Miyamoto Y, Kuwata M, et al. Protein kinase C lies on the signaling pathway for vascular endothelial growth factor-mediated tumor development and angiogenesis. *Cancer Res* 1999;59:4413-8
16. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1  $\alpha$  in common human cancers and their metastasis. *Cancer Res* 1999;59:5830-5
17. Turner KJ, Moore JW, Jones A, Taylor CF, Cuthbert-Heavens D, Han C, et al. Expression of hypoxia-inducible factors in human renal cancer: relationship to angiogenesis and to the von Hippel-Lindau gene mutation. *Cancer Res* 2002;62:2957-61
18. Josephson S, Robertson B, Claesson G, Wikstad I. Experimental obstructive hydronephrosis in newborn rats. I. Surgical technique and long term morphologic effects. *Invest Urol* 1980;17:478-82
19. Claesson G, Josephson S, Robertson B. Experimental partial ureteric obstruction in newborn rats. IV. Do the morphological effects progress continuously? *J Urol* 1983;130:1217-22
20. Zelman SJ, Zenser TV, Davis BB. Renal growth in response to unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 1983;23:594-8
21. Steinhardt GF, Ramon G, Salinas-Madrigal L. Glomerulosclerosis in obstructive uropathy. *J Urol* 1988;140:1316-8
22. Perlmutter AD, Kroovand RL, Lai YW. Management of ureteropelvic obstruction in the first year of life. *J Urol* 1980;123:535-7
23. Krueger RP, Ash JM, Silver MM, Kass EJ, Gilmour RF, Alton DJ, et al. Primary hydronephrosis. Assessment of diuretic renography, pelvis perfusion pressure, operative findings, and renal and ureteral histology. *Urol Clin North Am* 1980;7:231-42
24. Stock JA, Krous HF, Hefferman J, Parker M, Kaplan GW. Correlation of renal biopsy and radionuclide renal scan differentiation function in patients with unilateral ureteropelvic junction obstruction. *J Urol* 1995;154:716-8
25. Elder JS, Stansbrey R, Dahms BB, Selzman AA. Renal histological changes secondary to ureteropelvic junction obstruction. *J Urol* 1995;154:719-22
26. Pascual L, Oliva J, Vega-P J, Principi I, Valles P. Renal histology in ureteropelvic junction obstruction: are histological changes a consequence of hyperfiltration? *J Urol* 1998;160:976-9