

식이 단백질 수준이 한쪽 신장을 절제한 흰쥐에서  
나이 증가에 따른 신장의 기능 및  
조직 변화에 미치는 영향\*

김화영 · 이현숙 · 정현주\*\*

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과, 연세대학교 의과대학 병리학교실\*\*

Effect of Dietary Protein Level on Renal Functions and  
Structure in Uninephrectomized Aging Model in Rat

Kim, Wha Young · Lee, Hyun Sook · Jeong, Hyeon Joo\*\*

Department of Food & Nutrition, College of Home Science, Ewha Womans University,  
Seoul, Korea

Department of Pathology,\*\* College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dietary protein level on renal senescence. Male rats of  $337.8 \pm 5.7$ g body weight were undergone unilateral nephrectomy or sham-operation. The rats were divided into high protein(40% casein), normal protein(15% casein) and low protein(8% casein) diets and fed experimental diets ad libitum for 24 weeks. The results are summarized as follows. There was a hypertrophy of the remnant kidney of uninephrectomized rats of 40% or 15% protein group, coming up to the comparable weights of both kidneys of sham-operated rats. However, the hypertrophic effect was not seen in uninephrectomized rats of 8% protein group. Serum albumin was lower in uninephrectomized rats. With increasing dietary protein level blood urea nitrogen was increased, whereas, urinary urea nitrogen excretion was decreased. Urinary solute excretion was higher in uninephrectomized group than in sham-operated group. However, effect of dietary protein level on urinary solute excretion varied depending on the solutes tested. GFR and urinary protein excretion, throughout experiment, increased with feeding period and with dietary protein level. Proteinuria was most severe in uninephrectomized rats fed 40% casein diet. Maximum urine concentrating ability measured after dehydration was not different among the experimental groups. Light microscopic examination showed focal segmental glomerulosclerosis and mild increase of glomerular mesangial matrix in uninephrectomized rats fed 40% and 15% protein diet, however, which was not observed in uninephrectomized rats fed 8% protein diet and in sham-operated rats fed 40% diet. Immunofluorescence studies revealed segmental deposits of albumin in the mesangium and capillary loops in high protein and uninephrectomized groups. Minimal granular deposition of IgG was noted in the mesangium of all experimental groups. In conclusion, high protein intake accelerated deterioration of renal function and it was correlated with morphological

채택일 : 1996년 10월 14일

\*이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

changes. Low protein intake was effective in preventing these changes. (*Korean J Nutrition* 29(10) : 1059~1071, 1996)

**KEY WORDS** : protein level · uninephrectomy · GFR · urinary protein · Maximum urine concentrating ability · glomerulosclerosis.

## 서 론

생체의 노화기전은 아직 명확하지 않으나 모든 장기는 노화함에 따라 그 구조가 변하고 기능이 퇴화된다. 이러한 결과로 나이가 증가함에 따라 해부학적, 생화학적, 생리적, 행동적인 면을 포함한 모든 측면에서의 신체 변화가 나타나고 만성퇴행성 질병이 증가하게 된다. 그 중에서도 신장은 연령증가에 따라 퇴행성 변화를 일으키는 대표적인 기관으로써 나이가 증가함에 따라 점진적인 신장기능의 감소가 일어나는데<sup>1)</sup>, 신장무게와 기능하는 신원의 수가 감소하여 80세에는 30세에 비하여 약 30~40%까지 감소하고<sup>2)</sup> 사구체가 경화되는 등의 해부학적 변화가 나타나며, 사구체여과율(glomerular filtration rate, GFR)과 신혈류(renal plasma flow, RPF)가 감소하고 노농축능력이 감소하며 단백뇨 등을 보인다<sup>3,4)</sup>.

신장은 수분, 전해질, 산·염기 및 체내 대사 노폐물 등 여러가지 물질을 적절히 배설시킴으로써 체내물질의 항상성(homeostasis)을 유지하는데 있어 가장 중요한 기관이다. 그러므로 신장의 노화에 따른 사구체의 여과(filtration), 재흡수(reabsorption)와 분비(secretion) 등 신장 기능의 저하는 나이가 증가하면서 나타나는 체내 항상성 조절의 문제를 제기하게 된다. 이와 같이 신장기능 저하로 인한 체내 항상성의 불균형은 고혈압, 동맥경화증, 심장병, 당뇨병 등 노화와 관련된 만성 질병의 직접, 간접적인 원인이 되고 있으며, 따라서 노화 과정을 촉진시키게 된다<sup>5)</sup>. 그러므로 신장의 노화 원인을 규명하고 이를 지연시키기 위한 방안을 연구하는 것은 수명연장과 정상적인 체기능 유지를 위해 매우 중요한 과제라고 생각된다.

신장기능 감소의 원인으로는 당뇨, 고혈압, 동맥경화, 감염 등의 질병과 약물, 식이등이 거론되고 있으며 이러한 원인들은 1차적으로 식이에 의한 영향을 많이 받는 것으로써 식이인자와 신장기능과는 밀접한 관련이 있다고 지적되고 있다<sup>6)</sup>. 특히 식이 성분 중에서도 단백질 섭취량과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고 되고 있다.

서양에서는 이미 오래전부터 고단백식으로 인한 만성 신장질환의 증가가 문제시 되어 왔다. 우리나라에서도 최근 단백질 섭취량이 꾸준히 증가하고 있으며, 1992년

국민영양조사에 따르면 전국 1인 1일의 단백질 섭취량은 74.2g으로, 권장량의 118.8%에 해당하는 양을 섭취하였다. 또한 총단백질 섭취량 중 동물성 단백질의 비율이 연차적으로 증가 추세이다<sup>7)</sup>. 앞으로 경제발전과 생활의 변화로 단백질 섭취량은 더욱 더 늘어날 전망이다. 따라서 노화에 따른 퇴행성 변화를 지연하고 건강한 삶을 유지하기 위하여 식이 단백질에 의한 신장기능의 변화와 그 기전을 규명하는 것이 필요하다.

신장의 노화에 따른 신장기능 및 구조 변화를 연구하기 위한 동물 모델 중의 하나로 신장의 일부를 절제한 동물이 사용되고 있다. 신장절제를 할 경우 감수분열능이 증가되어 RNA 합성을 가속화시키며 신장의 비후를 유도하고, 이런 상태가 지속되면 수개월내에 남은 신장에서 사구체에 경화가 발생하게 되므로 정상적인 노화에 따른 신장기능 및 구조적 퇴화를 빨리 일어나게 하는 효과가 있다고 보고되었다<sup>8)</sup>.

그러므로 본 연구에서는 식이 단백질이 노화에 따른 신장기능의 변화에 미치는 영향을 살펴보기 위해 신장의 노화를 촉진시키기 위한 목적으로 한쪽 신장을 절제한 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 사용하여 주기적으로 사구체여과율과 노단백질 배설량을 측정하였고, 뇨로 배설되는 무기질의 양과 노농축능력을 측정하였으며 신장의 조직학적 변화를 관찰하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 연구의 실험 동물은 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐로 생후 4~6주된 것을 구입(서울대 보건대학원)하여 고형배합사료(삼양사료)로 12주령이 될때까지 사육하여 평균 체중이 338±5.7g 되었을때 130마리는 좌측 신장 절제술(uninephrectomy; N)을 행하고 60마리는 대조군으로써 sham-operation(S)을 실시하였다. 그 후 4주 동안 고형 배합사료를 주면서 회복 시킨 후 살아남은 쥐들을 신장 절제 여부와 실험식에 따라 분류하였는데, 그 분류는 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)을 적용하였다.

실험 식이는 8% casein을 함유한 저단백식이(L)와 15% casein을 함유한 표준단백식이(M), 그리고 40%

casein을 함유한 고단백식이(H)로 나누었다. 그러므로 40% casein 식이-신장절제군(NH, 37마리), 40% casein 식이-대조군(SH, 17마리), 15% casein 식이-신장절제군(NM, 37마리), 15% casein 식이-대조군(SM, 17마리), 8% casein 식이-신장절제군(NL, 37마리), 8% casein 식이-대조군(SL, 17마리)등 6 실험군으로 나누어 24주 동안 사육하였다.

각 식이의 Ca과 P의 함량을 같게 하기 위해 미리 casein을 분석하여 식이의 Ca와 P 함량이 각각 0.4%와 0.6%가 되도록 무기질 구성을 조절하였다. 실험식이의 구성은 American Institute of Nutrition<sup>9)</sup>의 식이 조성을 참고하였다(Table 1). 실험 기간 동안 흰 쥐는 한 마리씩 분리하여 사육하였고 물과 식이는 제한 없이 공급하였다.

2. 시료의 채취 및 생화학적 분석

노, 혈액 및 장기의 채취 : 노는 24주의 사육 기간 동안 각 군에서 무작위로 5마리씩 선택하여 2주마다 24시간 동안의 노를 수집하였다. 이때 식이에 의해 노 성분이 오염되는 것을 막기 위하여 식이 그릇을 대사장에 넣어 두지 않았고 이미 보고된 방법<sup>10)</sup>과 같이 노를 채취하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

	40% casein diet	15% casein diet	8% casein diet
Corn starch	442.3408	696.2773	767.3801
Casein	400.0	150.0	80.0
Corn oil	100.0	100.0	100.0
Salt mixture <sup>1)</sup>	14.72	14.72	14.72
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	10.00	10.0	10.0
CaCO <sub>3</sub>	0.5239	0.336	0.2828
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	22.4153	23.6667	24.0171
Choline chloride	2.0	2.0	2.0
DL-Methionine	8.0	3.0	1.6

1) Salt mixture ingredients(mg/kg mixture) : MgCO<sub>3</sub> 6900, ZnCO<sub>3</sub> 96, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 124, MnSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 150, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 20, KI 1.3, NaCl 2300, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1600, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3530, Na<sub>2</sub> SeO<sub>3</sub> 0.22, Sucrose, finely powdered to make 1000.

2) AIN(American Institute of Nutrition) vitamin mixture ingredients(per kg mixture) : Thiamin.HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxin · HCl 700mg, Nicotinicacid(nicotinamide is equivalent) 3g, D-Calciumpanthothenate 1.6g, Folic acid 200mg, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin(vitaminB<sub>12</sub>) 1mg, Retinylpalmitate(vitaminA)-as stabilized powder to provide 400,000IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- $\alpha$ -Tocopherylacacetate(vitaminE)-as stabilized powder to provide 5,000 IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5mg(100,000 IU. May be in powder form), Menaquinone(vitaminK) 5.0mg, Sucrose, finely powdered to make 1,000g.

실험이 종료되기 1주일 전에 Bouby<sup>11)</sup>의 방법을 사용하여 뇨농축능력(maximum concentrating ability) 측정을 위해 뇨를 수집하였다. 즉 실험 시작 전에 동물의 체중을 재고 대사장에 넣어 24 시간 동안의 식이와 물의 섭취량, 그리고 뇨배설량을 잰다. 그 후 물과 식이를 공급하지 않으면서 18시간 동안 탈수 시킨후 그 다음 6시간 동안의 뇨를 받아 뇨량을 재고 냉동보관하였다. 또한 실험 종료 후 체중을 재어 이 기간 동안의 체중변화량을 측정하였다. 뇨채취시에는 수분 증발을 막기 위해 뇨병에 소량의 mineral oil을 넣어 주었다. 뇨농축능력을 보기 위해 수집한 뇨에서 삼투질농도(osmolality)를 측정하였다.

사구체여과율(GFR)을 측정하기 위한 혈액은 뇨를 수집한 쥐들에서 4주마다 채혈하였는데, 흰 쥐를 체중 100g당 0.1ml의 ketamine(케타라, 유한양행)으로 마취한 후 안정맥에서 채혈하여 혈청을 얻어 분석시까지 냉동보관 하였다.

사육 기간이 끝난 후 흰 쥐를 12시간 동안 굶긴 후 ethyl ether로 마취 한 다음 개복하여 3.8% sodium citrate로 처리한 10ml 주사기로 심장에서 혈액을 채혈하여 원심분리하여 혈청을 얻어 분석시까지 냉동보관하였다.

신장 조직검사 : 심장에서 혈액을 채취한 즉시 신장 조직검사를 위하여 각 실험군에서 무작위로 5 마리씩을 선택해서 이 쥐들에서 오른쪽 신장의 피질층 일부를 떼어냈다. 모든 판독은 같은 병리학자에 의해 blind study로 이루어졌으며 그 결과는 -, ±, +, ++, +++의 순으로 조직의 손상된 정도를 나타내었다.

광학현미경(Light microscopy)적 관찰을 위해서는 떼어낸 신장 조직의 일부를 10% 중성 포르말린에 고정하고 paraffin에 포매하여 microtome으로 4 $\mu$  두께로 연속 절편 한 후 hematoxylin-eosin과 periodic acid-Schiff 염색을 시행하였다. 형광현미경(Immunofluorescence microscopy)적 관찰을 위한 조직은 떼어낸 즉시 액체 질소에 넣어 얼려서, 조직검사에 사용할때까지 -70 $^{\circ}$ C deep freezer에 보관하였다. 신장조직을 cryostat(저온유지장치)내에서 4 $\mu$  두께로 연속 절편하여 PBS 용액으로 함유하였다. IgG에 대한 염색은 fluorescein isocyanate(FITC)-conjugated goat anti-rat IgG(ICN, CA USA)를 1 : 100으로 희석하여 30분간 도포한 후 증류수로 수세하였고, 알부민은 sheep anti-rat albumin(Biodesign, W90341C)을 1 : 100으로 희석하여 1차 도포하고 수세한 뒤 2차 항체인 FITC rabbit anti-sheep IgG(F(ab')(Biodesign, ME USA)를 1 : 50으로 희석하여 도포하고 수세하여 glycerine jelly로

보입하여 형광현미경(Olympus BH-2)하에서 검색하였다.

생화학적 분석 : GFR을 구하기 위하여 크레아티닌 청소율(creatinine clearance)을 측정하였다. 혈액과 뇨의 creatinine은 Jaffe 반응의 변법을 이용한 kit(영동 제약)을 사용하였다. 뇨와 혈액의 urea nitrogen 함량은 urease 효소법<sup>12)</sup>에 의해 urea를 urease로 분해시킨 후, salicylate와 HClO<sub>3</sub>를 가하여 발색시켜서 Spectrometer로 570nm에서 비색 정량 하였다. 혈액과 뇨의 단백질 함량은 Lowry 방법<sup>13)</sup>을 이용하여 분석하였다. 뇨의 Ca과 Mg은 기질의 간섭(matrix interference)을 줄이기 위해 각각 0.5%와 0.1% lanthanum oxide 용액으로, Na와 K은 3차 증류수로 희석하여 Atomic Absorption Spectrometer(Perkin Elmer Co. 2380)로 Ca은 422.7nm(Slit 0.7nm), Mg은 285.2nm(Slit 0.7nm), Na은 589.0nm(Slit 0.7nm), K은 766.5nm(Slit 2.0nm)에서 분자흡광도를 측정하였다. 각 무기질의 표준용액은 commercial stock standard solution(소화 화학, 일본)을 이용하였다. 뇨중 Cl과 P의 함량은 kit(영동 제약)을 사용하여 분석하였다. 뇨농축능력(urine concentrating ability)을 측정하기 위한 삼투질농도의 측정은 automatic osmometer(Precision System, INC. Osmette S, Model No.4002)를 이용하였다.

3. 자료의 처리

본 연구의 모든 실험 분석 결과는 각 실험군의 평균치 ± 표준오차로 나타내었고 각 실험군의 평균치간의 유의성은 p < 0.05 수준에서 Duncan's multiple range

test로 검증하였다. 신장절제와 식이 단백질 수준 사이의 교호작용은 α=0.1, 0.05, 0.01 수준에서 two-way ANOVA에 의해 분석하였다. 또한 나이와 신장절제 및 단백질 섭취 수준 사이의 교호 작용은 three-way ANOVA를 행하였다.

결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중증가량 및 신장의 무게

식이섭취량과 체중 변화 및 신장무게를 Table 2에 수록하였다. 식이섭취량은 식이 단백질 수준이 높을수록 높았으나 신장절제에 따른 차이는 없었다. 체중증가량은 식이 단백질 수준에 따라 유의적인 차이가 있어 식이 단백질 수준이 높은 군에서 높았고 신장절제군에서 체중증가량이 높은 경향(p < 0.1)을 보였다. 신장기능이 감소하거나 신장절제를 한 경우 고단백식은 식육부진과 성장지연을 초래한다는 보고들<sup>14)</sup>이 있으나 본 연구에서는 15%와 40% 단백질 식이를 먹인 신장절제군에서 체중증가량이 가장 높아 신장절제에 의한 성장지연 현상을 볼 수 없었다.

신장 무게는 식이 단백질 수준이 높을수록 증가하였다. 신장절제군의 남아있는 오른쪽 신장은 뚜렷한 비후 현상을 보여 NH와 NM군의 오른쪽 신장무게는 SM와 SL군의 양쪽 신장 무게의 합과 비교해도 통계적으로 차이가 없었다. 그러나 NL군에서는 이와 같은 충분한 보상효과를 볼 수 없어 다른군보다 유의적으로 낮았다. 신장을 절제한 동물에서 남아있는 신장의 비후 현상은 다른 연구에서도 보고되어 왔다<sup>15)</sup>. 본 연구의 결과는 이러한 보상효과는 식이 단백질 수준에 의한 영향을 받음을

Table 2. Food intake, body weight and kidney weight at the end of feeding period from uninephrectomized and sham-operated rats fed diets containing different protein level<sup>1)</sup>

	Food intake (g/24 wks)	Weight gain (g/24 wks)	Kidney weight			
			Right(g)	Left(g)	Total(g)	mg/g BW
NH <sup>2)</sup>	2786 ± 111.5 <sup>ab3)</sup>	191.8 ± 15.9 <sup>ab)</sup>	2.68 ± 0.12 <sup>22)</sup>	-	2.68 ± 0.12 <sup>b)</sup>	5.23 ± 0.24 <sup>cd)</sup>
NM	2862 ± 75.6 <sup>ab)</sup>	230.1 ± 18.4 <sup>a)</sup>	2.41 ± 0.20 <sup>a)</sup>	-	2.41 ± 0.20 <sup>b)</sup>	4.53 ± 0.46 <sup>de)</sup>
NL	2769 ± 70.8 <sup>ab)</sup>	140.9 ± 21.1 <sup>b)</sup>	1.85 ± 0.07 <sup>b)</sup>	-	1.85 ± 0.07 <sup>c)</sup>	4.10 ± 0.27 <sup>e)</sup>
SH	3108 ± 224.4 <sup>a)</sup>	161.0 ± 18.7 <sup>b)</sup>	1.78 ± 0.08 <sup>bc)</sup>	1.72 ± 0.06 <sup>a)</sup>	3.50 ± 0.14 <sup>a)</sup>	7.03 ± 0.38 <sup>a)</sup>
SM	2869 ± 103.0 <sup>ab)</sup>	167.4 ± 18.9 <sup>b)</sup>	1.55 ± 0.08 <sup>bc)</sup>	1.50 ± 0.08 <sup>ab)</sup>	2.87 ± 1.21 <sup>b)</sup>	6.41 ± 0.27 <sup>ab)</sup>
SL	2592 ± 98.7 <sup>b)</sup>	145.1 ± 14.4 <sup>b)</sup>	1.40 ± 0.09 <sup>c)</sup>	1.37 ± 0.10 <sup>b)</sup>	2.78 ± 0.19 <sup>b)</sup>	5.90 ± 0.24 <sup>bc)</sup>
SF <sup>4)</sup>	P*	S*, P***	S***, P***	P***	S***, P***	S***, P***

1) Mean ± S.E.  
 2) NH : uninephrectomized-40% protein diet, NM : uninephrectomized-15%protein diet, NL : uninephrectomized-8% protein diet, SH : sham-40% protein diet, SM : sham-15% protein diet, SL : sham-8% protein diet group  
 3) Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.  
 4) Significant Factor  
 S : Effect of nephrectomy was significant by F-test.  
 P : Effect of dietary protein level was significant by F-test.  
 \*, \*\*, \*\*\* : significant at α=0.1, 0.05, 0.01 respectively.

보여주고 있다. 즉 식이 단백질 수준이 15%만 되어도 정상적인 수준으로 보상적인 비후가 일어나는데 충분하지만 8% 단백질 식이로는 이런 보상작용이 불가능함을 알 수 있었다.

2. 신장의 기능

1) 뇨로 배설되는 무기질량

뇨로 배설되는 무기질의 양은 Table 3에 나타내었다. 뇨로 배설된  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{++}$ ,  $P$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{++}$ 의 함량중 식이 단백질 수준에 의한 영향은  $Na^+$ 과  $K^+$ 에서만 유의적이었는데,  $Na^+$ 과  $K^+$  모두 식이 단백질 수준이 낮을수록 배설량이 증가했다. 또한 통계적인 차이는 없었지만  $P$ ,  $Ca^{++}$ 의 뇨배설량은 고단백군에서 증가하는 경향을 보였다. 신장절제에 의한 영향은 본 연구에서 측정할 모든 무기질에서 신장절제군이 대조군보다 배설량이 많았다. 이런 결과로 볼때 식이 단백질 수준이 뇨로 배설되는 무기질의 양에 미치는 영향은 비교적 적으며, 반면 신장절제와 같은 신실질(renal mass)의 감소로 인한 영향을 많이 받는 것을 알 수 있었다. 신장을 절제한 경우 남은 사구체에서 고여과가 일어나게 되고 이것은 신장의 퇴화를 촉진시켜 종국적으로 신장의 기능 감소를 초래하여 이들 무기질에 대한 재흡수능력등이 감소했기 때문으로 사료된다. London등<sup>16)</sup>의 신장의 75%를 절제한 쥐의 솔변연막(brush-border membrane, BBM)에서  $Cl^-$  이온의 투과성이 증가하였다는 보고는 본 연구 결과와 일치하는 것이며 또한 Corman등<sup>17)</sup>과 Lee등<sup>18)</sup>은 노화된 쥐에서  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{++}$ 의 배설량이 증가하고 이는 노화할수록 근위세뇨관의 BBM을 통과하는  $K^+$  운반기능의 감소와 원위세뇨관에서의  $Ca^{++}$ 과  $Mg^{++}$  운반기능 감소 때문이라고 보고했다. 따라서 본 연구에서 신장절제군의 뇨 무기질 배설량이 양이 많았던 것은, 노화시 볼 수 있는 막투과성의 변화 등 신장의 구조와 기능

의 퇴화가 촉진됐기 때문으로 볼 수 있으며, 이런 변화는  $Na^+$ 과  $K^+$  등 일부 무기질의 경우 식이 단백질 수준에 의해서도 영향받는 것으로 사료된다.

2) 혈청 단백질 및 혈청과 뇨의 요소질소 함량

Table 4에는 혈청 단백질과 요소질소의 양을 나타내었다. 혈청내 총단백질 농도는 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 알부민은 고단백식이 먹인 신장절제군에서 낮았으며 대체적으로 신장절제군이 낮은 값을 보였다. 신장염이 있는 쥐에서 알부민의 항상성을 연구한 Kaysen<sup>19)</sup>은 정상쥐에서는 식이 단백질 수준이 높을수록 혈중 알부민 농도가 높았고, 신장염을 앓고 있는 쥐에서는 단백질 수준이 증가할수록 감소하였다고 보고했다. 그러므로 신장절제와 신장염 모델의 쥐에서 같은 경향을 보였으며, 혈청 알부민 농도의 저하는 신장기능의 저하, 특히 뇨단백질 배설량의 증가로 인한 결과임을 알 수 있었다.

혈액 요소 질소(blood urea nitrogen, BUN)의 농도는 식이 단백질 수준과 신장절제에 의한 영향이 모두 유의적이어서 식이 단백질 수준이 높을수록 높았고, 신장절제군에서 높았다. 뇨로 배설되는 요소 질소의 함량은 BUN과는 반대로 식이 단백질 수준이 높을수록 낮았고 또한 신장절제에 의한 영향도 있어 신장절제군이 대조군보다 낮은 경향( $p < 0.1$ )을 보였다. BUN은 나이가 들수록<sup>20)</sup>, 고단백식이 먹일수록 증가하며<sup>21)</sup>, 신장을 절제한 경우에 증가한다고 보고되었다<sup>14)</sup>. 따라서 고단백식이 먹이면 신장 기능이 저하되어 뇨를 통한 요소 질소의 배설이 원활히 이루어지지 않아 혈중 요소 질소의 농도가 높아지는 것으로 볼 수 있다. 또한 신장절제를 할 경우 신장 기능의 저하가 촉진되어 이러한 현상을 더욱 가중시킨다고 할 수 있다.

3) 사구체여과율

Table 3. Urinary excretion of minerals<sup>1)</sup>

	(mg/day)					
	Sodium	Potassium	Magnesium	Phosphorous	Chloride	Calcium
NH	33.6 ± 1.83 <sup>b2)</sup>	15.7 ± 2.79 <sup>b</sup>	2.94 ± 0.55 <sup>a</sup>	16.9 ± 1.42 <sup>a</sup>	15.3 ± 2.44 <sup>ab</sup>	4.49 ± 0.41 <sup>a</sup>
NM	36.5 ± 1.44 <sup>ab</sup>	25.3 ± 2.88 <sup>a</sup>	2.23 ± 0.39 <sup>ab</sup>	14.9 ± 1.01 <sup>ab</sup>	13.8 ± 2.92 <sup>ab</sup>	4.27 ± 0.28 <sup>ab</sup>
NL	41.1 ± 2.71 <sup>a</sup>	26.1 ± 3.76 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.47 <sup>a</sup>	12.5 ± 1.32 <sup>b</sup>	16.3 ± 2.57 <sup>a</sup>	4.29 ± 0.27 <sup>ab</sup>
SH	31.8 ± 0.32 <sup>b</sup>	6.36 ± 0.50 <sup>c</sup>	1.38 ± 0.09 <sup>b</sup>	12.1 ± 1.56 <sup>b</sup>	8.92 ± 0.64 <sup>b</sup>	3.66 ± 0.33 <sup>ab</sup>
SM	36.0 ± 1.42 <sup>b</sup>	17.5 ± 2.88 <sup>ab</sup>	1.89 ± 0.19 <sup>ab</sup>	11.2 ± 1.02 <sup>b</sup>	10.4 ± 1.24 <sup>ab</sup>	3.42 ± 0.32 <sup>b</sup>
SL	31.8 ± 0.32 <sup>b</sup>	25.7 ± 3.22 <sup>a</sup>	2.61 ± 0.44 <sup>a</sup>	11.6 ± 0.82 <sup>b</sup>	10.9 ± 2.28 <sup>ab</sup>	3.46 ± 0.22 <sup>b</sup>
SF <sup>3)</sup>	S**, P***	S***, P***	S**	S***	S***	S***

1) Mean ± S.E.

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) Significant Factor

S : Effect of nephrectomy was significant by F-test.

P : Effect of dietary protein level was significant by F-test.

\*, \*\*, \*\*\* : significant at  $\alpha = 0.1, 0.05, 0.01$  respectively.

**Table 4.** Serum concentrations of protein and urea nitrogen, and urinary urea nitrogen excretion<sup>1)</sup>

	Protein(mg/dl)	Albumin(mg/dl)	Blood urea nitrogen(mg/dl)	Urine urea nitrogen(mg/day)
NH	6.51 ± 0.16 <sup>ns2)</sup>	3.92 ± 0.11 <sup>c</sup>	17.7 ± 1.25 <sup>a</sup>	14.76 ± 1.65 <sup>c</sup>
NM	6.73 ± 0.19	4.18 ± 0.16 <sup>abc</sup>	15.8 ± 1.01 <sup>ab</sup>	29.08 ± 3.17 <sup>b</sup>
NL	6.68 ± 0.16	4.02 ± 0.07 <sup>bc</sup>	12.9 ± 1.04 <sup>bcd</sup>	41.80 ± 0.82 <sup>a</sup>
SH	6.88 ± 0.15	4.54 ± 0.16 <sup>a</sup>	15.4 ± 1.28 <sup>ab</sup>	18.22 ± 1.68 <sup>c</sup>
SM	6.99 ± 0.28	4.45 ± 0.22 <sup>ab</sup>	12.5 ± 0.46 <sup>cd</sup>	33.66 ± 3.11 <sup>b</sup>
SL	6.58 ± 0.17	4.16 ± 0.21 <sup>abc</sup>	10.5 ± 0.50 <sup>d</sup>	42.79 ± 1.06 <sup>a</sup>
SF <sup>3)</sup>	NS	S***	S***, P***	S*, P***

1) Mean ± S.E.

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

ns : Effects of nephrectomy &amp; dietary protein were not significant by Duncan's multiple range test.

3) Significant Factor

S : Effect of nephrectomy was significant by F-test.

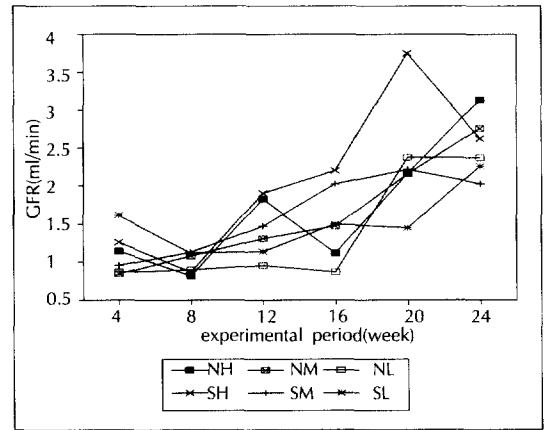
P : Effect of dietary protein level was significant by F-test.

\*, \*\*\*, significant at  $\alpha=0.1, 0.01$  respectively.

NS : Effect of nephrectomy and dietary protein level were not significant by F-test.

실험 기간 중 4주마다 크레아티닌 청소율로 측정된 GFR은 Fig. 1에 수록하였다. GFR은 실험종류시 쥐의 나이인 10개월까지 나이가 증가할수록 신장절제군이나 대조군 모두에서 계속 증가하는 현상을 보였고, 식이 단백질 수준이 높을수록 높아 고단백식이군에서 증가하는 경향이 두드러졌다. 반면 8% 단백질군(NL, SL)에서는 나이에 따른 GFR의 증가가 현저하지 않아 저단백식으로 사육되면 GFR이 낮은 수준으로 유지됨을 알 수 있었다.

GFR은 출생후 계속 증가하다가 나이 증가에 따라 다시 감소하는데, 이 감소는 신장의 노화와 기능 쇠퇴를 의미하는 것으로 본다. Provoost등<sup>22)</sup>은 신장절제군에서 sham군보다 GFR이 낮고 노화에 따라 GFR이 감소하는 시기가 앞당겨진다고 보고했다. 본 연구에서는 이와는 달리 신장절제군에서도 GFR이 대조군과 같은 수준으로 유지되어 신장절제군이 한쪽 신장만으로 기능함을 고려할때, 남아있는 신사구체의 고여과를 생각할 수 있었다. 그리고 본 연구의 종료시까지 신장절제군에서 GFR의 감소현상은 나타나지 않아 노화현상에서 볼수 있는 GFR의 감소 시기가 신장절제로 인해 앞당겨지는지의 여부는 관찰할 수 없었다. 나이 증가에 따라 GFR이 감소하는 시기는 숫컷 Wistar 종에서는 38개월<sup>23)</sup>, WAG/Rij 종은 숫컷에서는 15개월<sup>22)</sup>, 암컷에서는 30개월<sup>24)</sup>이라고 보고되었다. 그런데 본 연구에서 사용한 쥐의 나이는 사육 종료시 약 10개월 정도로, SD 종 쥐에서 한 쪽 신장을 절제한 경우에도 이 기간까지는 정상쥐와 같은 수준으로 GFR을 유지할 수 있음을 의미한다고 하겠다. 따라서 한쪽 신장을 절제한 경우에도 GFR의 저하 현상을 관찰하기 위해서는 사육기간이 연장되어야 할 것으로 사료된다.

**Fig. 1.** Sequential changes of GFR in uninephrectomized- and sham-operated rats fed diets containing different protein level.

고단백식은 신장의 크기와 GFR과 RPF를 증가시킨다고 보고되었으며<sup>25)26)</sup>, Deen등<sup>27)</sup>은 이런 변화가 피질 표층의 single nephron GFR과 혈류가 증가하고 transcapillary pressure가 증가함으로써 일어난다고 하였다. 본 연구에서는 앞서 보고된 것<sup>21)28)</sup>과 마찬가지로 나이 증가에 따라 GFR이 증가했고 식이 단백질 수준이 높을수록 증가하였다. 이러한 GFR의 증가는 신장 기능과 관련하여 노폐물의 배설 등 신장의 역할을 수행하기 위해서 중요하나, 과도하게 GFR이 증가하여 오랜 시간 지속될 경우 고여과로 인해 결국 신장 기능의 쇠퇴를 촉진하게 되고 따라서 GFR의 감소 시기를 앞당기게 된다. 특히 신장절제군은 한쪽 신장만으로 대조군의 양쪽 신장에서와 같은 수준으로 GFR을 유지하기 위해 고여과가 나타나게 되고, 결국 식이 단백질 수준 증가에 따른

신장기능의 저하가 더욱 촉진되는 것으로 사료된다.

4) 뇨단백질 배설량

신장기능 퇴화의 지표로 실험 기간중 2주 간격으로 측정된 뇨단백질 배설량의 결과는 Fig. 2에 수록하였다. 뇨단백질 배설량은 식이 단백질 수준과 사육기간에 따라 유의적 차이가 있어 식이 단백질 수준이 높을수록 뇨단백질 배설량이 많았고 사육기간이 지날수록 증가했다. 또한 신장절제에 의한 영향도 있어(p < 0.05) 신장절제군이 대조군보다 높았다.

기간별로 단백질 현상을 보인 흰 쥐의 마리수를 비교해 보면 4주까지는 전체 노 받은 쥐에서 50% 정도만이 단백질이 있었고, 이것도 대부분 NH와 NM군이었다. 사육후 8주(나이 - 24주령)에는 NH와 NM군에서는 모든 쥐에서 단백뇨를 볼 수 있었고, SH군은 60%(3마리/5마리), 그리고 NL, SM, SL군은 각각 40%(2마리/5마리)에서 단백질이 검출되었다. 이런 현상은 10주째에도 지속되다가 12주부터는 NL과 SL군에서 각각 2마리씩을 제외한 모든 군의 쥐에서 단백뇨를 보였다. 그 후 18주까지도 NL군에서는 1마리가 전혀 단백질 현상을 안보였고, 그 이후에는 모든 실험군의 모든 쥐에서 양의 차이는 있었지만 단백질이 검출되었다. 그러므로 단백질은 신장절제군에서, 또한 고단백군에서 빨리 시작되었고 나이가 증가하면 모든 쥐에서 검출됨을 볼 수 있었다. 사육기간이 경과할 수록 신장절제에 의한 효과보다는 식이 단백질 수준에 의한 영향을 볼 수 있어서 신장 절제 여부와는 상관없이 고단백군에서 단백질 배설량이 컸고, 저단백군에서는 사육기간의 경과에 따른 뇨단백질 배설량의 증가도 적었다. 특히 NL군의 뇨단백질 배설량은 SL군과 같거나 오히려 낮은 수준으로, 사육기간 동안 계속 낮은 값을 유지하였다.

이와 같이 뇨단백질 배설량은 식이 단백질 수준이 증

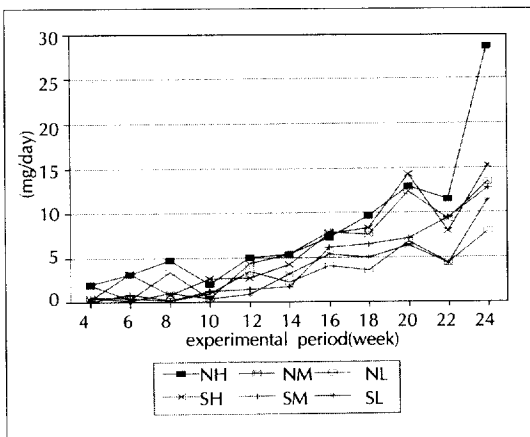


Fig. 2. Sequential changes of urinary protein excretion.

가할수록 증가하였고, 신장을 절제한 경우 뇨단백질 배설의 시기가 앞당겨지고 정도가 심해지는 것을 볼 수 있었으며 저단백식을 할 경우 이러한 뇨단백질 배설의 시기가 늦춰지고 배설량도 적은 것으로 나타났다. 이것은 저단백식을 할 경우 신장의 실질이 감소된 쥐에서 GFR이 증가하지 않았으며 단백질이 감소되었다는 다른 연구 결과<sup>29)</sup>와 일치하는 것이다. Olson등<sup>30)</sup>은 90%의 신장조직을 절제한 쥐를 6% 단백질 식이로 사육하면 음전하를 띤 거대분자의 분획 청소율(fractional clearance)의 변화가 없음을 관찰하여, 신실질이 감소된 경우에도 식이 단백질을 제한함으로써 사구체기저막(glomerular basement membrane, GBM)의 전기적 선택성을 보존시킬 수 있음을 의미하는 결과라고 주장했다. 또한 실험적으로 신장병을 유발시켜 신장 기능을 감소시킨 동물모델에서도 식이 단백질을 제한함으로써 뇨단백질 배설량을 감소시킬 수 있었다는 보고도 있다<sup>29)</sup>.

식이 단백질 제한이 신장기능에 미치는 영향 중의 하나는 사구체의 permselectivity barrier라고 제안되고 있다. 나이드 동물과 신실질이 감소된 동물에서 음전하를 띤 거대분자에 대한 사구체 모세혈관고리 기저막의 선택적 배제능력이 감소되는데, 저단백식을 할 경우 이러한 선택적투과성의 감소를 지연시킬 수 있다고 한다<sup>30)</sup>. 또한 저단백식이군의 사구체의 전기적 선택 능력의 감소가 적은 것은 저단백식이가 사구체의 압력과 혈류의 증가를 방지하는 효과가 있기 때문이라고도 한다<sup>31)</sup>.

사구체에서 transcapillary pressure와 flow가 증가하면 신장에 손상을 입힐 수 있다고 본다. 혈중 단백질의 여과가 증가하면 사구체 경화의 병인이 되는 유해물질의 발현도 증가할 가능성이 커지기 때문이다<sup>29)</sup>. 몇몇 연구에서는 사구체간질(mesangium)에 순환혈액내 단백질이 축적되는 것이 이 부위의 팽창을 초래하는 원인이라고 하였으며, 이와 같은 사구체의 구조적 변화는 단백질 현상 등 신장 기능의 변화를 일으키는 원인이 된다고 하였다<sup>32)</sup>. 이와 같은 결과는 본 연구의 조직검사에서도 확인할 수 있었는데, 고단백식을 먹인 쥐에서 사구체간질이 늘어나고, 이 부위에 알부민이 축적되어 있으며, 사구체 경화가 생긴 것을 볼 수 있었다. 따라서 식이 단백질 수준이 높을수록 증가하는 뇨단백질 배설량은 이러한 조직 변화때문이라고 할 수 있다. 또한 신장절제를 할 경우 이런 변화를 가속화시켜 단백뇨를 보이는 시기를 앞당기고, 뇨단백질 배설량을 증가시키는 것으로 보인다.

5) 뇨농축 능력

체내 수분 균형을 유지하기 위한 신장기능 중의 하나인 뇨농축능력을 조사하기 위하여, 실험기간이 끝나기

1주일 전에 물과 식이를 공급하지 않으면서 18시간 동안 탈수시킨 후 6시간 동안의 뇨를 채취해 뇨량과 삼투질농도를 측정한 결과는 Table 5에 수록하였다. 실험 시작전과 후의 체중 변화는 약 20g 정도로 실험군간에 차이가 없었다. 그러나 뇨량은 식이 단백질 수준에 따라 차이가 있어 고단백군에서 뇨량이 많았다. 삼투질농도는 각 군간에는 유의적인 차이가 없었으나 고단백군에서 낮은 경향을 보였다.

고단백식을 먹이면 뇨농축능력이 증가하여 삼투질농도(osmolality)가 증가한다는 사실은 실험동물<sup>28)</sup>과 사람<sup>33)</sup>에서 보고되고 있다. 반대로 단백질 섭취가 부족

할 경우 뇨농축능력이 감소하여 뇨의 삼투질농도와 solute-free water 재흡수가 감소한다고 보고되었다<sup>34)</sup>. First등<sup>34)</sup>은 고단백식을 먹인 쥐에서 뇨량이 증가하는 것은 여과된 알부민의 양이 세뇨관재흡수능의 이상으로 증가하여 단백뇨를 배설하게됨으로써 일어나는 현상이라고 보고했다. 본 연구에서도 고단백식을 먹인 신장 절제군에서 뇨중 단백질 배설량의 증가로 혈청 알부민의 농도가 유의적으로 낮은 것을 볼 수 있었다. 또한 뇨농축능력은 동물의 나이와도 관련이 있어서 나이 들수록 뇨농축능력이 감소한다고 보고되었다<sup>35)</sup>. 이렇게 뇨농축능력의 감소가 노화된 동물에서 나타난다는 점을 감안할때 고단백군에서 최대뇨농축능력이 낮았던 것은 이 쥐들에게서 신장의 기능 쇠퇴 과정 등 신장의 노화 현상이 더 진행된 결과라고 할 수 있겠다.

**Table 5.** Maximum urine concentrating ability<sup>1)</sup>

	Change of Wt (g)	Urine volume (ml/6 hrs)	Osmolality (mOsmol/kg H <sub>2</sub> O)
NH	19.5±2.25 <sup>ns2)</sup>	0.67±0.11 <sup>a</sup>	3491±471 <sup>ns</sup>
NM	20.9±1.82	0.34±0.10 <sup>bc</sup>	3707±359
NL	18.9±1.56	0.28±0.11 <sup>c</sup>	3799±473
SH	17.3±1.94	0.62±0.07 <sup>ab</sup>	3822±244
SM	19.1±2.17	0.34±0.11 <sup>bc</sup>	5047±1063
SL	16.5±1.89	0.32±0.07 <sup>bc</sup>	4057±722
SF <sup>3)</sup>	NS	P***	P**

1) Mean± S.E.

2) Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

ns : Effects of nephrectomy & dietary protein were not significant by Duncan's multiple range test.

3) Significant Factor

P : Effect of dietary protein level was significant by F-test.

\*\* , \*\*\* : significant at α=0.05, 0.01 respectively.

NS : Effects of nephrectomy and dietary protein level were not significant by F-test.

### 3. 조직학적 변화

신조직을 광학현미경으로 관찰한 결과는 Table 6에 수록하였다. 사구체경화(Fig. 3-A), 사구체간질의 확장(Fig. 3-B), 세뇨관 위축 현상을 보이는 쥐들이 주로 NH, NM, SH군에서 발견되어 신장절제와 식이 단백질 수준에 의한 영향을 볼 수 있었다. 신간질의 섬유화와 염증은 각 실험군 간에 차이가 없었으나 15% 이상의 단백질 식이를 먹인 신장절제군에서 정도가 심한 경향을 보였다. 고단백식을 먹인 신장절제군에서는 사구체간질에 단핵세포들이 침윤되어 있었다(Fig. 3-C).

형광현미경으로 관찰한 결과는 Table 7에서 나타낸 바와 같다. 조직검사를 한 전체 쥐 30마리중 12마리에서 사구체내에 알부민이 국소 분절상 형태로 사구체간질과 모세혈관고리에 축적된 것이 발견되었는데, 주로 NH와 NM군에서 볼 수 있었으며 고단백군에서 축적 정도가

**Table 6.** Light microscopic findings of the kidneys<sup>1)</sup>

	Glomerular matrix increase				Glomerulosclerosis				Tubular atrophy				Interstitial fibrosis & inflammation				Nephrocalcinosis								
	- <sup>2)</sup>	±	++	+++	-	±	++	+++	-	±	++	+++	-	±	++	+++	-	±	++	+++					
NH (n=5)	0	4	1	0	0	3	0	2	0	0	2	1	2	0	0	0	3	2	0	0	4	0	0	1	0
NM (n=5)	1	1	3	0	0	3	0	2	0	0	1	2	1	1	0	0	2	2	1	0	2	0	1	1	1
NL (n=5)	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	4	0	0	2	0	2	1	0
SH (n=5)	2	0	1	2	0	3	0	1	1	0	2	0	2	1	0	0	4	1	0	0	3	0	2	0	0
SM (n=5)	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	1	4	0	0	0	2	0	3	0	0
SL (n=5)	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	4	1	0	0	2	0	2	1	0

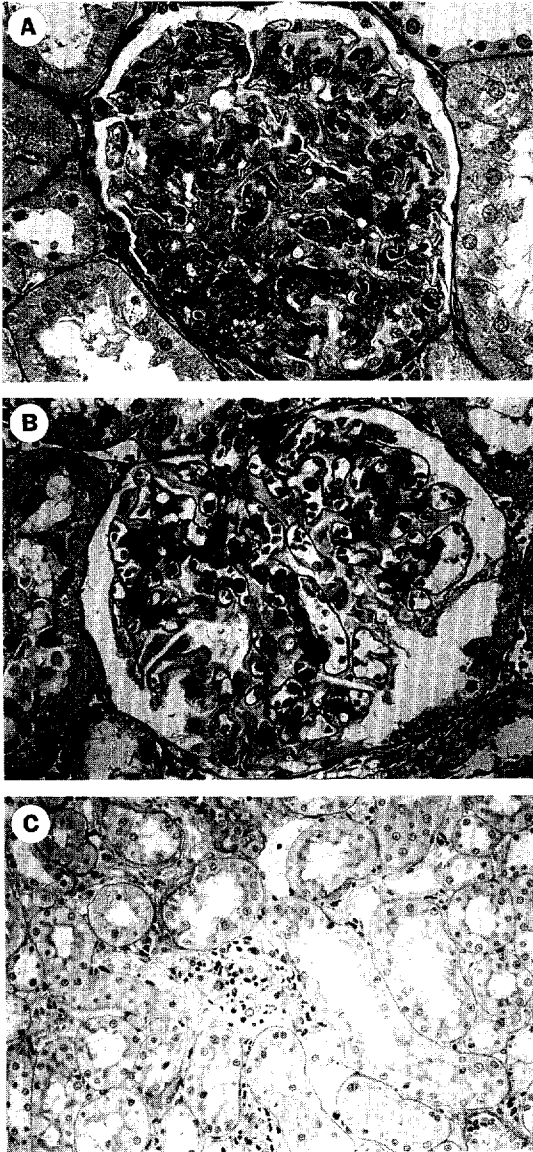
1) Values are number of rats.

2) degree of histological change : -, normal ; ±, mininal ; +, mild ; ++, moderate ; +++, severe



심한 것으로 나타났다(Fig. 4-A). 또한 모든 실험군에서 사구체간질에 IgG이 선상으로 염색되었으며 식이나 수술에 따른 차이는 발견되지 않았다(Fig. 4-B).

Brenner<sup>36)</sup>는 신장을 절제한 동물에서 single nephron GFR이 증가하며 사구체간질 세포와 기질이 증식하는 조직변화가 일어난다고 보고하였다. 이것은 본 연



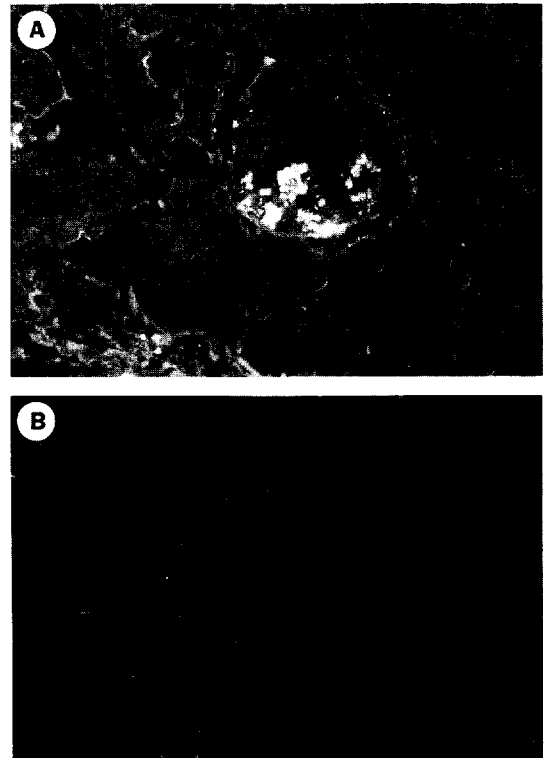
**Fig. 3.** Photomicrographs of kidney sections in uninephrectomized rat fed a 40% casein diet.  
 A) A glomerulus with segmental sclerosis and adhesion to Bowman's capsule at the direction of 7-8 o'clock is seen(X400).  
 B) Glomerular mesangium is mildly expanded by increased matrix(X400).  
 C) Minimal mononuclear cell infiltraten is seen in the interstitium(X200).

**Table 7.** Immunofluorescent microscopic findings of the kidneys<sup>1)</sup>

	Ig G					Albumin				
	- <sup>2)</sup>	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
NH (n=5)	2	1	2	0	0	1	1	2	1	0
NM (n=5)	0	5	0	0	0	2	1	2	0	0
NL (n=5)	0	3	2	0	0	3	0	2	0	0
SH (n=5)	0	4	1	0	0	3	1	0	0	1
SM (n=5)	1	3	1	0	0	4	1	0	0	0
SL (n=5)	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0

1) Values are number of rats.

2) degree of histological change : -, normal ; ±, minimal ; +, mild ; ++, moderate ; +++, severe



**Fig. 4.** A) Photomicrographs of a glomerulus stained with fluorescent conjugated antiserum specific for albumin in uninephrectomized rat fed a 40% casein diet. Note the segmental lumpy deposits of albumin especially in the mesangium(X200).  
 B) Photomicrographs of a glomerulus stained with fluorescent conjugated antiserum specific for IgG in uninephrectomized rat fed a 40% casein diet. Note the minimal granular IgG deposits in the mesangium(X400).

구에서도 마찬가지로 특이 고단백식을 먹인 경우 정도가 심했다. 사구체의 기질 증가나 경화 현상 등 신장 조직의 변화가 일어나면 여과, 재흡수, 배설 등의 신장의 기능을 제대로 수행할 수 없게 된다. 사구체경화는 일반적으로 쥐의 나이가 약 2년 정도 되었을 때 나타난다고 보고되었다<sup>37)</sup>. 그러나 본 연구에서 사용한 쥐는 10개월의 나이인데도 불구하고 신장절제군과 40% 단백질에서 사구체경화를 관찰할 수 있었으며, 이것은 신실질의 감소나 고단백식으로 인하여 신장이 고여과를 계속하였을 때 경화로의 진행이 빨라짐을 의미한다고 보겠다. 이러한 구조적 변화는 사구체 벽에서 거대분자에 대한 전하와 크기에 대한 선택성 감소로 인해 단백질이 생기기 하는 원인이라고 하였다<sup>38)</sup>. 본 연구에서도 식이 단백질 수준이 높을수록 노단백질 배설량이 증가했는데, 이것은 신장의 구조적 변화를 촉진하여 일어난 결과라고 할 수 있겠다.

또한 본 연구에서는 신장 기저막을 따라 IgG와 알부민이 축적된 것을 볼 수 있었는데, 특히 albumin의 경우 사구체내에 focal과 segmental pattern으로 사구체간질에 축적되었고 식이 단백질 수준이 높을수록 침착된 쥐들이 많았다. 이것은 segmental lesion이 생긴 부위에 알부민이 침착된 것으로 볼 수 있다. 사구체간질은 혈청단백질과 면역복합체 등의 거대분자를 포획하고 제거하는 기능을 하며 이것은 사구체 모세관벽의 막투과성의 변화에 따른 영향을 받는다<sup>39)</sup>. Couser등<sup>32)</sup>은 단백질 현상을 보이는 12개월된 SD 쥐에서 대부분의 사구체의 사구체간질에 IgM이 축적된 것을 발견했고, 단백질과 사구체의 IgM의 축적이 focal glomerular sclerosis (FGS)가 발생하는 과정으로 볼 수 있다고 했다. 그리고 나이들수록 이런 현상은 더 심해진다고 하였다. 사람에게서도 사구체 손상의 일부가 일차적으로 사구체간질내에 Ig이 축적되는 현상과 함께 일어난다는 사실이 오래전부터 보고되었고<sup>40)</sup> Ig이 GBM을 따라 축적되는 것이 일종의 자가면역(autoimmunity)으로서, 사구체신염을 비롯한 신장질환을 유발시키는 원인 중의 하나라고 알려졌다<sup>41)</sup>. 그러나 본 연구에서 관찰된 IgG의 축적은 특수한 종의 mice에서 볼 수 있는 것처럼<sup>42)</sup> 신장 또는 자가항원에 대한 항체라고 할 수 있는 증거가 불충분하며, 단지 신장조직에 알부민이 축적된 것과 같이 정상적으로 순환하고 있는 일종의 거대 단백질 분자인 혈청 면역복합체가 사구체간질의 막투과성 변화 또는 손상으로 인해 조직에 축적된 것으로 사료된다.

이와 같이 고단백식이의 섭취는 사구체간질 기질의 증가, 사구체경화, 신장 조직내 알부민의 축적과 같은 조직 병리 현상을 발생시키며, 이러한 신장의 구조적 변화로

인해 단백뇨를 비롯한 신장 기능 퇴화 현상들의 발현이 가속화되는 것으로 추측된다. 또한 신장절제를 한 경우 15% 단백질 식이에 의해서도 사구체경화와 같은 조직 변화가 생기는 것이 관찰되어 식이 단백질에 대한 반응이 민감해지는 것을 알 수 있었고, 따라서 신장절제군에서의 이러한 구조적 변화는 이들 군에서 관찰되는 신장 기능의 퇴화 현상을 설명해 줄 수 있을 것으로 보인다.

#### 4. 흰 쥐의 생존률

실험기간 동안의 흰 쥐의 생존률은 실험식을 공급하기 시작했을 때 각 군의 흰 쥐의 수를 기준(100%)으로 1주 단위로 생존한 수를 %로 계산하여(Fig. 5)에 나타내었다. 4주까지는 SH군의 생존률이 가장 높았고 다른 군에서는 비슷한 사망률을 보였다. 그런데 4~6주 사이에는 모든 군에서 사망률이 증가했고, 특히 NH군의 사망률이 높아 37마리 중 12마리 만이 생존했다. 그러나 그 이후는 단 한마리도 사망하지 않아 일단 살아남은 쥐들은 높은 생존력을 보인 점이 특이했다. 24주에서의 생존률을 보면, SL(64.3%) > SH(62.5%) > SM(58.8%) > NM(58.6%) > NL(54.8%) > NH(34.5%)의 순으로 신장절제군이 대조군에 비해 낮았다. 대조군에서는 13주까지는 식이 단백질 수준이 높을수록 생존률이 높았으나 시간이 지날수록 SH와 SM군의 생존률이 떨어져 24주에는 SL군에서 생존률이 가장 높았다. 이런 결과는 Kleinknecht등<sup>44)</sup>의 연구 결과와 일치하는 것으로 그는 신실질을 감소시킨 Wistar종 쥐에게 14, 27, 37% 단백질 식이를 먹여 27주 동안 사육했는데, 37% 단백질군은 13주 이전에 생존률이 30% 이하로 떨어져서 23주까지 유지되다가 그 이후 다시 감소하여 27주에는 15%의 생

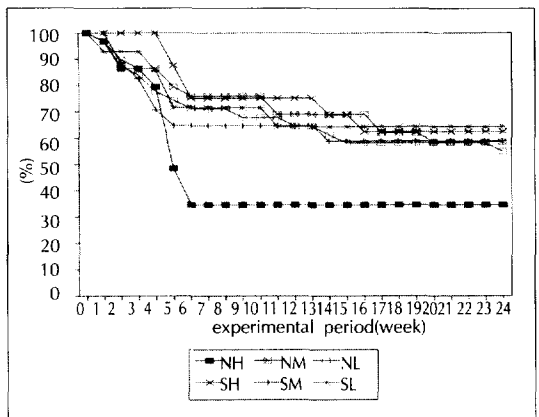


Fig. 5. Percent survival in uninephrectomized- or sham-operated rats fed diets containing different protein level. Data are expressed as a percent survival of total rats on the first day on experimental diets for each group.

존율을 보였으며 반면 14% 단백질군은 15주가지도 80% 이상의 높은 생존율을 보이다가 그 이후 사망률이 증가하여 27주에는 30% 정도의 생존율을 나타냈다고 보고했다. 따라서 신실질이 감소된 경우 고단백식이 먹이면 초기에 사망할 확률이 높으나 일단 살아남은 쥐는 고단백식에 적응하는 것으로 보인다.

### 요약 및 결론

본 연구는 식이 단백질 수준이 신장의 노화에 미치는 영향을 알아보기 위해 한쪽 신장을 절제하거나 sham 처리한 흰쥐를 식이 단백질 수준을 8%, 15%, 40%로 달리한 식이로 24주 동안 사육하면서 신장기능과 조직의 변화를 관찰하였고 또한 한쪽 신장을 절제한 흰쥐가 신장의 노화를 연구하는데 적합한 동물모델인가를 검증하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 식이섭취량과 체중증가량은 식이 단백질 수준이 높은 군에서 높았다. 실험기간 동안 흰 쥐의 생존율은 SL(64.3%) > SH(62.5%) > SM(58.8%) > NM(58.6%) > NL(54.8%) > NH(34.5%) 순으로써 신장절제군이 대조군에 비해 낮았으며 고단백식을 먹은 신장절제군에서 생존률이 가장 낮았다. 신장의 무게는 식이 단백질 수준이 높을수록 증가하였으며, NH와 NM군의 하나의 잔류 신장의 무게가 SM과 SL군의 2개 신장 무게의 합과 동일할 정도로 비대되었다. 그러나 NL군에서는 신실질 감소에 따른 비후 현상을 볼 수 없었다.

2) 혈청 알부민 농도는 신장절제군에서 낮았다. BUN은 식이 단백질 수준이 높을수록 높았고, 신장절제군에서 높았다. 뇨로 배설되는 요소질소는 이와 반대로 식이 단백질 수준이 높을수록 낮았고 신장절제군에서 낮았다. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup>, P, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>++</sup> 등의 뇨 배설량은 신장절제군에서 유의적으로 낮았는데, Na<sup>+</sup>과 K<sup>+</sup>은 식이 단백질 수준이 높을수록, P와 Ca<sup>++</sup>은 단백질 수준이 낮을수록 배설량이 감소했다. BUN의 증가와 뇨로 배설되는 무기질의 증가는 노화된 동물에서 볼 수 있는 현상들로서 본 연구 결과 신장절제와 고단백식에 의한 신장 기능 퇴화가 촉진된 결과로 보여진다.

3) GFR은 사육기간이 경과할수록 신장절제군이나 대조군 모두에서 증가하였고 식이 단백질 수준이 높을수록 높았으며 신장절제에 의한 영향보다는 사육기간과 식이 단백질 수준에 의한 효과가 더 큰 것으로 나타났다. 한쪽 신장을 절제한 경우에도 10개월의 나이까지는 잔류신장의 GFR이 대조군과 같은 경향으로 증가하여 신장절제군의 남은 한쪽 신장이 매우 고여과하는 것을 볼 수 있었다.

4) 뇨단백질 배설량은 식이 단백질 수준이 높을수록

높았고 사육기간 경과에 따라 증가하였으며 신장절제군이 대조군보다 높았다. NL군의 경우 사육기간 동안 SL군과 같거나 낮은 수준으로 유지되었다. 또한 사육기간이 경과할 수록 신장절제에 의한 영향보다는 식이 단백질 수준에 의한 영향이 더욱 현저하여 신장절제여부와는 상관없이 식이 단백질 수준이 높을수록 뇨단백질 배설량이 증가했다.

5) 최대 뇨농축능력은 각 군간에 유의적인 차이없이 신장절제군과 고단백군에서 낮은 경향이어서, 탈수로 분비된 항이뇨호르몬(Antidiuretic hormone)에 대한 신장의 반응이 감소할 가능성을 제시하였다.

6) 광학현미경으로 조직 변화를 관찰한 결과, 사구체간질의 증가는 주로 NH, NM, SH군에서 발견되었고 사구체경화 현상도 이들 군에서만 발견되어 식이 단백질에 의한 영향을 볼 수 있었다. 세노관 위축을 보인 쥐 수는 신장절제군에서 많았으며 고단백군에서 정도가 심한 것으로 나타났다. 간질의 섬유화와 염증은 NH와 NM군에서 정도가 심한 경향을 보였다. 형광현미경으로 조직에 IgG와 알부민의 축적을 관찰한 결과, 사구체간질과 모세혈관고리에서 알부민이 축적된 것이 발견되었고 고단백군에서 축적정도가 심했으며 모든 실험군에서 사구체간질에 IgG이 축적된 것이 관찰되었다.

이상의 결과들로 볼때, 식이 단백질 수준과 신장기능과는 밀접한 관계가 있음을 확인할 수 있었다. 식이 단백질 수준이 높을수록 신장의 비후를 유도하고 GFR을 증가시키며 이러한 고 여과의 결과로 결국 사구체간질의 확장, 사구체경화, 사구체내 알부민 축적 등의 조직 변화 및 신장기능 감퇴를 초래하여 뇨단백질 배설량의 증가와 같은 병리현상을 나타내는 것으로 보인다. 신장절제군은 한쪽 신장만으로 양쪽 신장을 가진 쥐와 같은 수준으로 GFR을 유지하기 위해 고 여과의 결과 식이 단백질 수준에 따른 단백뇨 배설 또는 조직 변화 등의 발생시기가 앞당겨지고 정도가 심해서 식이 단백질에 의한 신장의 노화를 연구하기 위한 동물모델로서 기간단축과 식이 단백질에 의한 효과 상승 등의 장점을 확인할 수 있었다. 그러나 GFR, 뇨단백질 배설량, 조직 변화 등에서는 이런 장점이 확인되었으나 뇨로 배설되는 무기질의 양 등에서는 신장절제 자체에 의한 영향이 커서 정상쥐에서의 식이 단백질에 의한 영향과는 차이를 보였으므로 연구목적에 따라 이 모델의 선택이 달라져야 할 것으로 사료된다.

### Literature cited

- 1) Lindeman RD. Overview : renal physiology and pathophysiology of aging. *Am J Kidney Dis* 16 : 275-282, 1990

- 2) Goldstein RS, Tarloff JB, Hook JB. Age-related nephropathy in laboratory rats. *FASEB J* 2 : 2241-2251, 1988
- 3) Masoro EJ, Iwasaki K, Gleiser CA, Seo EJ, Yu BP. Dietary modulation of the progression of nephropathy in aging rats : an evaluation of the importance of the protein. *Am J Clin Nutr* 49 : 1217-1227, 1989
- 4) Roy AT, Johnson LE, Lee DB, Brautbar N, Merley JE. Renal failure in older people UCLA grand rounds. *J Am Geriat Soc* 38 : 239, 1990
- 5) Papper S. The effects of age in reducing renal function. *Geriatrics* 83-87, 1973
- 6) Rudman D, Cohan ME. Nutritional causes of renal impairment in old age. *Am J Kidney Dis* 4 : 289-295, 1990
- 7) 국민영양조사결과보고서. 보건사회부, 1994
- 8) Lulich JJ, Allen JR, Wis M. Protein overload nephropathy in rats with unilateral nephrectomy. *Arch Path* 91 : 372-382, 1971
- 9) The American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc Committee Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 10) 이정아 · 장영애 · 김화영. 나이가 다른 단계에서 식이 단백질 수준이 흰쥐의 Ca 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25 : 569-577, 1992
- 11) Bouby N, Trinh-Trang-Tan M-M, Laouari D, Kleinknecht C, Grunfeld J-P, Kriz W, Bankir L. Role of the urinary concentrating process in the renal effects of high protein intake. *Kidney Int* 34 : 4-12, 1988
- 12) Rabinowitz L, Wagman RB, Thompson AB. Renal excretion of N-acetyl-4-aminoantipyrine in the dog. *Am J Physiol* 217 : 547-552, 1969
- 13) Lowry OH, Resebrouh NJ, Farr AC, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 14) Kleinknecht C, Salusky I, Broyer M, Gubler M-C. Effect of various protein diets on growth, renal function, and survival of uremic rats. *Kidney Int* 15 : 534-541, 1979
- 15) Celsi G, Larsson L, Seri I, Savin V, Aperia Z. Glomerular adaptation in uninephrectomized young rats. *Pediatr Nephrol* 3 : 280-285, 1989
- 16) London RD, Lipkowitz MS, Abramson RG. Altered membrane ionic permeability in a rat model of chronic renal failure. *Kidney Int* 42 : 300-307, 1992
- 17) Corman B, Michel J-B. Glomerular filtration, renal blood flow, and absolute excretion in conscious aging rats. *Am J Physiol* 253 : R555-R560, 1987
- 18) Lee DBN, Yaragawa N, JO D, Yu BP, Beck N. Phosphaturia of aging : studies on mechanisms. *Adv Exp Med Biol* 178 : 103-108, 1984
- 19) Kaysen GA, Davies RW, Hutchison FN. Effect of dietary protein intake and angiotensin converting enzyme inhibition in Heymann nephritis. *Kidney Int* 36 : S154-S162, 1989
- 20) Kiebzak GM, Sacktor B. Effect of age on renal conservation of phosphate in the rat. *Am J Physiol* 251 : F399-F407, 1986
- 21) Neugarten J, Feiner HD, Schacht RG, Baldwin DS. Amelioration of experimental glomerulonephritis by dietary protein restriction. *Kidney Int* 24 : 595-601, 1983
- 22) Provoost AP, Oe Keijer MH, Molenaar JC. Effect of protein intake on lifelong changes in renal function of rats unilaterally nephrectomized at young age. *J Lab Clin Med* 114 : 19-26, 1989
- 23) Alt JM, Hackbarth H, Deerberg F, Stolte H. Proteinuria in rats in relation age-dependent renal changes. *Lab Anim* 14 : 95-101, 1980
- 24) Corman B, Pratz J, Poujeol P. Changes in anatomy, glomerular filtration, and solute excretion in aging rat kidney. *Am J Physiol* 248 : R282-R287, 1985
- 25) Lee HS, Kim WY. The effect of level of dietary protein on kidney development and function in growing rats. *Kor J Nutr* 23 : 401-407, 1990
- 26) Burtin M, Laouari D, Kindermans C, Kleinknecht C. Glomerular response to, acute protein load is not blunted by high-protein diet or nephron reduction. *Am J Physiol* 266 : F746-F755, 1994
- 27) Deen WM, Maddox DA, Roberston CR, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. VII. Response to renal mass. *Am J Physiol* 227 : 556-562, 1974
- 28) Schichiri M, Nishio Y, Ogura M, Suenaga M, Marumo F. Effects of dietary protein restriction on hemodynamics in chronic renal failure. *Kidney Int* 43 : 443-447, 1993
- 29) Klahr S, Purkerson, Heifets M. Factors that may retard the progression of renal disease. *Kidney Int* 32 : S55-S39, 1987
- 30) Olson JL, Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM, Venkatachalan MA. Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. *Kidney Int* 22 : 112-126, 1982
- 31) Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalan MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons : A potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241 : F85-F93, 1981
- 32) Hutchison FN, Schambelan M, Kaysen GA. Modulation of albuminuria by dietary protein and converting enzyme inhibition. *Am J Physiol* 253 : F719-725, 1987
- 33) Epstein FH, Klemlan CR, Pursel S, Hendrikx A. The effect of feeding protein and urea on the renal concentratory process. *J Clin Invest* 36 : 635-641, 1957
- 34) First MR, Sloan DE, Pesce AJ, Pollak VE. Albumin excretion by the kidney : the effect of volume expansion. *J*

- Lab Clin Med* 89 : 25-29, 1977
- 35) Beck N, Yu BP. Effect of aging on urinary concentrating mechanism and vasopressin-dependent cAMP in rats. *Am J Physiol* 243 : F121-F125, 1982
- 36) Brenner BM. Nephron adaptation to renal injury. *Am J Physiol* 249 : F324-F337, 1985
- 37) Colemann GL, Barthold SW, Osbaliston GW, Foster SJ, Jonas AM. Pathological changes during aging in barrier-reared Fisher 344 male rats. *J Gerontol* 32 : 258-278, 1977
- 38) Olson JL, Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM, Venkatachalam MA. Altered charge- and size-selective properties of the glomerular wall : A response to reduced renal mass. *Kidney Int* 22 : 112-126, 1983
- 39) Couchman JR, Beavan LA, McCarthy KJ. Glomerular matrix : synthesis, turnover and role in mesangial expansion. *Kidney Int* 45 : 328-335, 1994
- 40) Oliviera DBG, Peters K. Autoimmunity and the kidney. *Kidney Int* 35 : 923-928, 1989
- 41) Pursey CD, Lockwood CM. Autoimmunity in rapidly progressive glomerulonephritis. *Kidney Int* 35 : 929-937, 1989
- 42) Fernandes G, Friend O, Yunis EJ, Good RA. Influence of dietary restriction on immunologic function and renal disease in(NZB×NZW)F<sub>1</sub> mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 75 : 1500, 1978