

# 미세변화신증후군 환아에서 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ 의 혈중 및 요중 변화와 알부민 투과성에 미치는 영향

경북대학교 의과대학 소아과학교실, 경북대학교 생명의학연구소\*

조민현 · 이환석 · 오현희 · 정기영\* · 고철우 · 구자훈

= Abstract =

## Changes of Plasma and Urinary TNF- $\alpha$ in Children with Minimal Change Nephrotic Syndrome and Its Role in Albumin Permeability

Min Hyun Cho, M.D., Hwan Seok Lee, M.D., Hyun Hee Oh, M.D.  
Ki Young Chung\*, Cheol Woo Ko, M.D. and Ja Hoon Koo, M.D.

*Department of Pediatrics, Biomedical Research Institute\*,  
Kyungpook National University Hospital, Taegu, Korea*

**Purpose :** Minimal Change Disease(MCD) is the most common primary nephrotic syndrome in children. Some suggested that tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) are involved in the pathogenesis of MCD. This study was done to see the changes of plasma and urinary TNF- $\alpha$ , and their effects on the permeability of glomerular basement membrane.

**Methods :** Study patients consisted of 19 biopsy-proven MCD children aged 2-15 years old. Both plasma and urinary TNF- $\alpha$  were measured. Employing the Millicell system, TNF- $\alpha$  were screened for the permeability factors.

**Results :** Urinary TNF- $\alpha$  during relapse was significantly increased( $P<0.01$ ). No significant change was seen in the plasma TNF- $\alpha$  during relapse when compared to those in remission and the healthy controls. Furthermore, in the in vitro Millicell system, TNF- $\alpha$  did not produce a significant change in albumin permeability.

**Conclusion :** Therefore, it seems that TNF- $\alpha$  may not play a disease-specific role in the pathogenesis of MCD. (J Korean Soc Pediatr Nephrol 2003;7:16-22)

**Key Words :** TNF- $\alpha$ , Minimal change nephrotic syndrome, Albumin permeability

### 서 론

미세변화신증후군은 소아 원발성 신증후군의

본 논문은 2002년도 경북대학교특성화사업팀(KNURT) 연구비에 의하여 연구되었음.

접수 : 2003년 3월 25일, 승인 : 2003년 4월 10일

책임저자 : 고철우, 대구시 중구 삼덕2가 50

경북대학교병원 소아과

Tel : (053)420-5715 Fax : (053)425-6683

E-mail : cwko@knu.ac.kr

주요 질환으로서 10세 이하의 소아 원발성 신증후군의 약 90%, 연장아에서는 약 50%를 차지한다<sup>1)</sup>. 미세변화신증후군의 정확한 발병기전은 정확히 밝혀져 있지 않으나, 부신피질 호르몬과 여러 면역억제제에 잘 반응하는 것 등으로 미루어 볼 때 아마도 T 림프구의 기능장애에 의하여 초래되는 것으로 추정되고 있다<sup>2, 3)</sup>. 사구체 상피세포는 이 질환의 표적 세포로 여겨지고 있으며 사구체 상피세포에서 생성되는 heparan sulfate

proteoglycan(HSPG)에 의하여 전하 장벽을 형성하므로 사구체 기저막이 알부민에 대한 투과성을 유지하며, 미세변화신증후군에서는 다른 신증후군과는 달리 특히 사구체 기저막의 전하 장벽의 손실이 많다는 것은 이미 잘 알려져 있다<sup>4, 5)</sup>.

미세변화신증후군 환자의 혈장, 단핵구 배양액 등을 쥐에게 주사하면 단백뇨가 발생하며 사구체 기저막의 음이온 부위가 감소한다는 것이 실험적으로 증명되어 있다<sup>6, 7, 9-13)</sup>. 그러나 아직까지 환자의 혈장이나 단핵구 배양액 안에 존재한다고 추정되는 소위 '투과성 인자'의 실체는 규명되지 않고 있다. 최근 일부 사이토카인과 TNF- $\alpha$ 가 동물실험을 통하여 '투과성 인자'로 주장되고 있다<sup>14-16)</sup>.

TNF- $\alpha$ 는 염증 반응과 대사성 물질로서 단핵구와 거대 세포에서 주로 분비된다<sup>17)</sup>. 일부에서는 여러 동물 실험모델에서 사구체의 손상에 TNF- $\alpha$ 가 관여한다고 보고되고 있고<sup>18-20)</sup>. 최근 재발한 미세변화신증후군 환자의 혈액에서 TNF- $\alpha$ 가 증가되어 있고, 단핵구에서 TNF- $\alpha$ 의 생산이 증가되어 있다고 보고되고 있다<sup>16)</sup>.

이에 저자들은 TNF- $\alpha$ 가 소아 미세변화신증후군 환자의 혈액과 요중에서 증가되어 있는지 알아보고 만약 증가되어 있다면 '투과성 인자'의 가능성을 알아보기 위하여 사구체 상피세포를 사용하여 알부민 투과성을 검사하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 환자

대상 환자는 19명으로서 남아가 11명, 여아가 8명이며, 이들은 신생검상 미세변화신증후군으로 확진되었고, ISKDC의 정의에 의하여 재발과 관해를 판정받았다. 이들의 나이는 평균 9.5세(만 2-15세)였다. 대조군은 10명의 건강한 소아로 하였다. 재발의 정의는 단백배설량이 요중 단백/크레아티닌 비가 2.0 이상 혹은 24시간 요단백배설량이 40 mg/M<sup>2</sup>/hr 이상이고, 혈중 알부민 치가

2.5 gm/dL 이하인 경우로 하였다. 혈액과 요는 재발 및 관해시에 채취하여 -70°C에서 보관하였다.

### 2. TNF- $\alpha$ 의 측정

혈중 및 요중 TNF- $\alpha$ 는 ELISA 키트(미국 Endogen사 제품)를 사용하여 측정하였다. 구체적인 방법을 기술하면, 50  $\mu$ L의 검체를 두 벌로 준비한 후 antibody-coated plate와 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 이후 3차례 세척 후 동량의 biotinylated antibody reagent를 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 방치한 후 다시 3차례 세척을 시행하였다. Streptavidin-HRP 농축액을 희석액에 희석시킨 후 100  $\mu$ L씩을 각 well에 첨가하였다. 이후 실온에서 30분간 방치 후 3회 세척을 시행하였다. 100  $\mu$ L의 premixed TMB 기질 용액을 각 well에 첨가하였다. 이후 30분간 암실에서 현상시킨 후 100  $\mu$ L의 stop solution을 각 well에 가한 후 450-550 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

### 3. 알부민 투과성의 측정(the Millicell system)

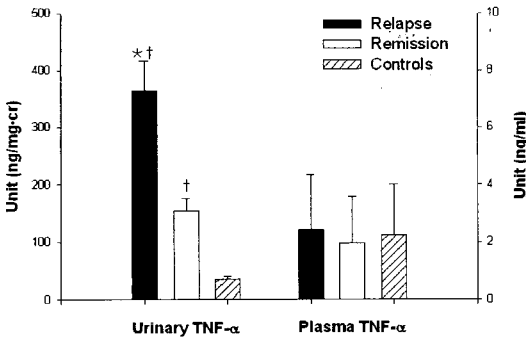
흰쥐 사구체 상피세포를 반투과성 막의 상부에 단층으로 배양시킨다(Millicell-HA, 0.45  $\mu$ m culture plate insert, 12 mm diameter, 미국 Millipore사 제품). 이후 1,000 ng/mL의 TNF- $\alpha$ , 미세변화신증후군 환자 혈청(1:5 희석)을 함유한 배양액으로 교체한 후 48시간 동안 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>/95% air 조건에서 배양한다. 인간 혈청 알부민(미국 Sigma사 제품)을 Millicell의 기저외부에 가하였다. 18시간이 경과 후 60  $\mu$ L의 배양액을 Millicell의 내부에서 채취한 후 내부로 투과된 인간 혈청 알부민의 양을 Albumin RIA kit(체코 Immunotech사 제품)를 사용하여 측정하였다. Pegoraro 등<sup>21)</sup>이 시행한 것처럼 대조군은 정상 배양액군과 95% 에탄올을 5분간 처리한 군으로 하였다.

**Table 1.** Changes of Plasma and Urinary Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in Children with Minimal Change Nephrotic Syndrome During Relapse and Remission

	Relapse	Remission	Controls
Urinary TNF- $\alpha$ (ng/mg·cr)	364.4±51.2* <sup>†</sup>	155.3±20.8 <sup>†</sup>	36.0±4.5
Plasma TNF- $\alpha$ (ng/mL)	2.42±1.93	1.95±1.62	2.25±1.75

Values are mean±SD

\* $P$ <0.05 compared to remission, <sup>†</sup> $P$ <0.01 compared to healthy controls



**Fig. 1.** Changes of plasma and urinary tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in children with minimal change nephrotic syndrome during relapse and remission.

\* $P$ <0.05 compared to remission,

<sup>†</sup> $P$ <0.01 compared to healthy controls.

**Table 2.** Concentrations of Human Serum Albumin Leakage with Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), Sera from Children with Minimal Change Nephrotic Syndrome(MCNS) and Controls

	unit: $\mu$ g/mL
TNF- $\alpha$ 1,000 ng/mL	1.0±0.3
Sera from children with MCNS	27.7±24.0*
Negative control	0.6±0.2
Positive control	46.0±1.7*

Values are mean±SD

\* $P$ <0.01 compared to negative controls

Negative control; incubated with medium alone

Positive control; treated with 95% ethanol for 5 min

#### 4. 통계학적 처리

통계학적 처리는 student's t test로 하였고,  $P$ <0.05를 통계학적으로 유의하다고 인정하였다.

## 결 과

### 1. 혈장 및 요중 TNF- $\alpha$

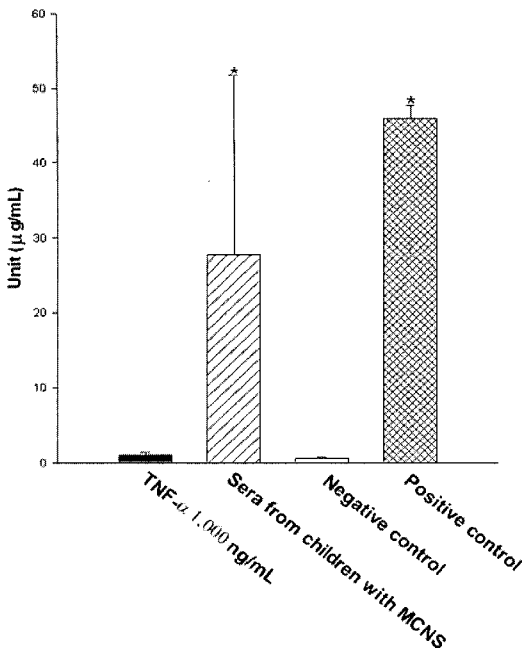
요중 TNF- $\alpha$ 치(ng/mg·cr)는 요중 크레아티닌 치료 보정하였다. 요중 TNF- $\alpha$ 치는 재발, 관해 및 대조군에서 각각 364.4±51.2, 155.3±20.8 및 36.0±4.5로서 재발시에 관해와 대조군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다( $P$ <0.01). 혈장 TNF- $\alpha$ (ng/mL)치는 재발, 관해 및 대조군에서 각각 2.42±1.93, 1.95±1.62 및 2.25±1.75로서 각 군간에 유의한 차이를 발견할 수 없었다 (Table 1, Fig. 1).

### 2. 알부민 투과성에 미치는 영향

Millicell system에서 사구체 상피세포를 투과하여 측정된 알부민의 농도( $\mu$ g/mL)는 TNF- $\alpha$  1,000 ng/mL 군은 1.0±0.3로서 대조군의 0.6±0.2에 비하여 특이한 변화가 없었다. 그러나 미세변화신증후군 환자의 혈청 군에서는 27.7±24.0로서 대조군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다 ( $P$ <0.01)(Table 2, Fig. 2). 미세변화신증후군 환자의 혈청군은 에탄올로 처리한 대조군의 알부민 농도의 약 60% 수준이었다.

## 고 찰

미세변화신증후군의 투과성 인자는 환자들의 혈액에 존재하는 것으로 추정되고 있지만 아직까지 정확한 실체가 밝혀져 있지 않다. 따라서 미세변화신증후군의 발병 기전은 아직 정확하게 규명되어 있지 않다. 환자의 혈청과 단핵구의 배양



**Fig. 2.** Concentrations of human serum albumin leakage with tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), sera from children with minimal change nephrotic syndrome (MCNS) and controls. \* $P < 0.01$  compared to negative controls. Negative control: incubated with medium alone. Positive control: treated with 95% ethanol for 5 min.

액 등을 동물에게 주입하였을 때 단백뇨가 초래되고 사구체 기저막의 음이온 부위가 감소되는 실험들을 통하여 투과성 인자가 환자의 혈중에 존재하며 사구체 기저막의 음이온 장벽에 손상을 끼친다는 것을 간접적으로 유추할 수 있겠다. 최근 hemopexin이 미세변화신증후군을 발병시키는 유발인자임을 보고한 연구가 있으나 이들의 연구는 동물실험으로서 아직까지 사람에게 적용되기는 이르다고 할 수 있다<sup>22, 23)</sup>.

Heparan sulfate proteoglycan (HSPG)는 사구체 기저막의 한 구성요소로서 음전하를 띠어서 사구체 기저막의 음이온 장벽의 형성에 매우 중요한 역할을 한다고 할 수 있다. 사구체 기저막의 음이온 장벽의 장애는 알부민 요를 초래하며 특히 미세변화신증후군에서는 음이온 장벽의 소실이 다른 신증후군에 비하여 더욱 심하다는 것

은 이미 잘 알려져 있다<sup>4, 5)</sup>. 사구체 상피세포는 사구체 기저막의 HSPG를 생성 공급한다고 알려져 있다<sup>24)</sup>. 이러한 사실들을 종합하면 미세변화신증후군에서 말초 단핵구 계통의 기능장애에 의하여 투과성 인자가 유리되고 사구체 상피세포가 손상을 받아서 사구체 기저막의 투과성이 변하여 단백뇨가 발생된다고 할 수 있겠다.

Millicell system은 반투과성 막을 가지는 용기로서 막의 상부에 상피세포를 단층으로 배양하고 특정 물질의 투과성을 연구하는데 사용되었다. 초기에는 신세뇨관 상피세포의 이온 투과성을 연구하기 위하여 사용되었으나 최근 사구체 상피세포를 사용하여 알부민의 투과성을 측정하기 위하여 응용되고 있다<sup>25, 26)</sup>. 이 system에 protamin, cationic bovine gamma globulin (BGG) 혹은 당화단백물질 등과 같은 양이온 물질을 가하면 단층의 사구체 상피세포의 알부민 투과성이 매우 증가되며, heparin과 같은 물질을 가하면 BGG의 투과성을 유의하게 감소시킨다고 밝혀져 있다<sup>26)</sup>. Pegoraro 등<sup>21)</sup>은 이 Millicell system을 미세변화신증후군 환아로부터 분리된 투과성 인자의 일차적인 선별검사로 활용할 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 환아의 요중에서 TNF- $\alpha$ 가 미세변화신증후군의 재발시에 유의하게 증가되어 있었으나 이 시기에 혈중에서는 증가되지 않았다. 또한 생리적인 농도 이상에서도 TNF- $\alpha$ 는 사구체 상피세포의 알부민 투과성을 변화시키지 못했다. 그러나 미세변화신증후군 환아의 혈청은 알부민의 투과성을 유의하게 증가시켰다.

사구체 기저막은 여러 가지 물질로 구성되어 있는데 type IV collagen chain  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ , 여러 가지 laminin 및 HSPG로 주로 구성되어 있다. 사구체 기저막에 분포하는 HSPGs로는 perlecan, agrin, collagen XVIII 등이 있다. 최근 이들 물질에 대한 항체가 개발되어 여러 질환에서 이를 이용한 연구가 많이 이루어지고 있는데, 전신성 홍반성 낭창과 당뇨병성 신증 등에서 감소되어 있음이 확인되고 있다<sup>27)</sup>. 그러나 상

대적으로 이러한 물질이 중요하다고 추정되는 미세변화신증후군 등과 같은 원발성 신증후군에서의 연구는 매우 적은 실정이며, 이 분야에서의 연구가 매우 높게 요구된다고 할 수 있겠다.

Bustos 등<sup>16)</sup>은 미세변화신증후군 환아에서 재발시에 관해시와 대조군에 비하여 TNF- $\alpha$ 가 증가되어 있고 환자의 단핵구에서 TNF- $\alpha$ 의 생산이 증가되어 있다고 보고하였다. 그러나, Suranyi 등<sup>28)</sup>은 국소성 분절성 사구체 경화증과 막성 신염에서는 혈액과 요중에서 증가되어 있었으나 미세변화신증후군과 대조군에서는 정상이었다고 보고하였다. 또한 Nakamura 등<sup>29)</sup>은 in vitro 실험에서 TNF- $\alpha$ 가 사구체 황화 화합물의 대사에 전혀 영향을 미치지 않는다고 하였다. Shewring 등<sup>30)</sup>은 TNF가 사구체 상피세포가 아닌 메산지움 세포를 자극하여 용량과 노출 시간에 비례하여 proteoglycan의 생산을 증가시킨다고 보고하였다. 본 연구에서는 요중 TNF- $\alpha$ 는 증가되어 있으나 혈중에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 본 연구에서는 TNF- $\alpha$ 에 의한 사구체 상피세포 혹은 메산지움 세포에서의 HSPG 유전자 발현과 HSPG의 생성을 확인하지는 않았지만 이미 기술한 여러 연구 결과를 참고하면 TNF- $\alpha$ 는 미세변화신증후군의 표적세포인 사구체 상피세포에 직접적으로 영향을 미쳐 사구체 기저막의 전하장벽을 구성하는 물질인 HSPG의 생성에 변화를 일으키지 않고, 오히려 사구체 메산지움 세포에서 이들 물질의 생성 증가가 확인된다고 할 수 있다. 뿐만 아니라 사구체 상피세포의 알부민에 대한 투과성 검사에서 TNF- $\alpha$ 가 전혀 영향을 미치지 않는 것도 이러한 사실들을 간접적으로 뒷받침한다고 할 수 있다. 그러나 추후 사구체 상피세포에서 TNF- $\alpha$ 가 이들 물질의 생성에 미치는 영향에 관한 연구가 필요하다고 생각된다.

결론적으로 TNF- $\alpha$ 는 미세변화신증후군 환아의 요중에서 증가되어 있었으나 이는 이 질환의 발병과 밀접한 관계가 있다기 보다는 미세변화신증후군 자체로 인한 이차적인 현상일 가능성이

많다고 생각된다.

## 한 글 요약

**목적** : 미세변화신증후군은 소아 원발성 신증후군의 가장 흔한 원인이다. 최근 TNF- $\alpha$ 가 미세변화신증후군의 병인기전과 밀접한 관계가 있다고 보고되고 있다. 이에 저자들은 미세변화신증후군 환아에서의 TNF- $\alpha$ 의 변화를 살펴보고 TNF- $\alpha$ 가 사구체 기저막의 투과성에 미치는 직접적인 영향을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

**방법** : 대상 환아는 신생검으로 미세변화신증후군이 확진된 만 2-15세 사이의 소아로서 이들에게서 혈액과 요를 채취하여 ELISA 방법으로 TNF- $\alpha$ 를 측정하였고, Millicell system을 사용하여 알부민에 대한 투과성을 측정하였다.

**결과** : 재발시에 요중 TNF- $\alpha$ 는 대조군과 관해시에 비하여 유의하게 증가되어 있었으나 ( $P < 0.01$ ), 혈중 TNF- $\alpha$ 는 유의한 변화를 보여주지 않았다. Millicell system을 이용한 알부민 투과성에 대한 실험결과 생리적인 농도 이상의 TNF- $\alpha$ 에서 알부민에 대한 투과성에 특이한 변화가 관찰되지 않았다.

**결론** : 이상의 결과를 종합할 때 TNF- $\alpha$ 는 미세변화신증후군의 발병기전에서 일차적인 역할을 한다기 보다는 아마도 질환자체에 의한 이차적인 현상에 의하여 요중에서 증가된 것으로 생각된다.

## 참고 문헌

- 1) A Report of the International Study of Kidney Disease in Children. The Primary nephrotic syndrome in children: Identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. J Pediatr 1981;98:561-4.
- 2) Sewell RF, Short CD. Minimal-change nephropathy: How does the immune system

- affect the glomerulus? *Nephrol Dial Transplant* 1993;8:108-12.
- 3) Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, Igarashi M, Narita M. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991;40:453-60.
  - 4) Guasch A, Deen WM, Myers BD. Charge selectivity of the glomerular filtration barrier in healthy and nephrotic humans. *J Clin Invest* 1993;92:2274-82.
  - 5) Guasch A, Hashimoto H, Sibley RK, Deen WM, Myers BD. Glomerular dysfunction in nephrotic humans with minimal changes or focal glomerulosclerosis. *Am J Physiol* 1991; 260:F728-37.
  - 6) Wilkinson AH, Gillespie C, Hartley B, Gwyn Williams D. Increase in proteinuria and reduction in number of anionic sites in the glomerular basement membrane in rabbits by infusion of human nephrotic plasma in vivo. *Clin Sci(Colch)* 1989;77:43-8.
  - 7) Zimmerman SW. Increased urinary protein excretion in the rat produced by serum from a patient with recurrent focal glomerular sclerosis after renal transplantation. *Clin Nephrol* 1984;22:32-8.
  - 8) Boulton Jones JM, Tulloch I, Dore B, McLay A. Changes in the glomerular capillary wall induced by lymphocyte products and serum of nephrotic patients. *Clin Nephrol* 1983;20:72-7.
  - 9) Yoshizawa N, Kusumi Y, Matsumoto K, Oshima S, Takeuchi A, Kawamura O, et al. Studies of a glomerular permeability factor in patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Nephron* 1989;51:370-6.
  - 10) Maruyama K, Tomizawa S, Shimabukuro N, Fukuda T, Johshita T, Kuroume T. Effect of supernatants derived from T lymphocyte culture in minimal change nephrotic syndrome on rat kidney capillaries. *Nephron* 1989;51:73-6.
  - 11) Tanaka R, Yoshikawa N, Nakamura H, Ito H. Infusion of peripheral blood mononuclear cell products from nephrotic children increases albuminuria in rats. *Nephron* 1992; 60:35-41.
  - 12) Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, Igarashi M, Narita M. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991;40:453-60.
  - 13) Cheung PK, Dejkhuis FWJ, Bakker WW. The endothelial cell as potential target for a human vasoactive plasma factor associated with minimal change nephrotic syndrome(Abstract). *J Am Soc Nephrol* 1995;6: 656.
  - 14) Garin EH, Blanchard DK, Matsushima K, Djeu JY. IL-8 production by peripheral blood mononuclear cells in nephrotic patients. *Kidney Int* 1994;45:1311-17.
  - 15) Neuhaus TJ, Wadhwa M, Callard R, Barratt HTM. Increased IL2, IL4 and interferon-gamma(IFN- $\gamma$ ) in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 1995;100: 475-9.
  - 16) Bustos C, Gonzalez E, Muley R, Alonso JL, Egido J. Increase of tumor necrosis factor alpha synthesis and gene expression in peripheral blood mononuclear cells of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Clin Invest* 1994;24:799-805.
  - 17) Wardle EN. Cytokine growth factors and glomerulonephritis. *Nephron* 1991;57:257-61.
  - 18) Noble B, Ren K, Taverne J, Dipirro J, Van Liew J, Dijkstra C, et al. Mononuclear cells in glomeruli and cytokines in urine reflect the severity of experimental proliferative immune complex glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 1990;80:281-7.
  - 19) Wardle EN. Cell biology and glomerulonephritis. *Nephron* 1991;59:529-32.
  - 20) Tipping PG, Leong TR, Holdsworth ST. Tumor necrosis factor production by macrophages in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in rabbits. *Lab Invest* 1991;65:272-9.
  - 21) Pegoraro AA, Singh AK, Arruda JAL, Dunea G, Bakir AA. A simple method to detect an albumin permeability factor in the idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2000;58:1342-5.
  - 22) Cheung PK, Klok PA, Baller JF, Bakker WW. Induction of experimental proteinuria

- in vivo following infusion of human plasma hemopexin. *Kidney Int* 2000;57:1512-20.
- 23) Cheung PK, Stulp B, Immenschuh S, Borg-huis T, Baller JF, Bakker WW. Is 100KF an isoform of hemopexin? Immunochemical characterization of the vasoactive plasma factor 100KF. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:1700-8.
- 24) Ko CW, Bhandari B, Yee J, Terhune WC, Maldonado R, Kasinath BS. Cyclic AMP regulates basement membrane heparan sulfate proteoglycan, perlecan, metabolism in rat glomerular epithelial cells. *Mol Cell Biochem* 1996;162:65-73.
- 25) Hammes M, Singh A. Effect of polycations on permeability of glomerular epithelial cell monolayers to albumin. *J Lab Clin Med* 1994;123:437-46.
- 26) Singh AK, Mo W, Dunea G, Arruda JAL. Effect of glycosylated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:902-10.
- 27) Raats CJI, van den Born J, Berden HM. Glomerular heparan sulfate alterations: Mechanisms and relevance for proteinuria. *Kidney Int* 400;57:385-400.
- 28) Suranyi MG, Guasch A, Hall BM, Myers BD. Elevated levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the nephrotic syndrome in humans. *Am J Kidney Dis* 1993;21:251-9.
- 29) Nakamura T, Miller D, Ruoslahti E, Border WA. Production of extracellular matrix by glomerular epithelial cells is regulated by transforming growth factor- $\beta$  1. *Kidney Int* 1992;41:1213-21.
- 30) Shewring L, Thomas GJ, Davies M. Proteoglycan synthesis is stimulated by TNF in rat mesangial cell in vitro(abstract). *Clin Sci* 1989;76(suppl):20.