

## 국소성 분절성 사구체 신병증의 동물 모델 (FGS/kist 생쥐) 신 조직의 유전자 발현 양상

서울대학교병원 소아청소년과\*, 울산대학교 의과대학 소아청소년과†, 한국생명공학연구원‡  
서울대학교 의과대학 신장연구소§, 인제대학교 부산해운대백병원 소아청소년과||

강희경\*, ¶ · 이병섭†, ¶ · 이철호‡ · 하일수\*, § · 정해일\*, § · 최 용||

= Abstract =

### Transcriptome Profiling of Kidney Tissue from FGS/kist Mice, the Korean Animal Model of Focal Segmental Glomerulosclerosis

Hee Gyung Kang, M.D., Ph.D.\*, ¶, Byong Sop Lee, M.D., Ph.D.†, ¶  
Chul-Ho Lee, Ph.D.‡, Il Soo Ha, M.D., Ph.D.\*, §  
Hae Il Cheong, M.D., Ph.D.\*, § and Yong Choi, M.D., Ph.D. ||

*Department of Pediatrics\*, Seoul National University Children's Hospital, Seoul,*

*Department of Pediatrics†, Asan Medical Center,*

*University of Ulsan College of Medicine, Seoul,*

*Animal Model Resource Center‡, Korea Research Institute of*

*Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Yusong,*

*Kidney Research Institute§, Medical Research Center,*

*Seoul National University College of Medicine,*

*Department of Pediatrics||, Inje University Haeundae Paik Hospital, Busan, South Korea*

**Purpose :** Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) is the most common glomerulopathy causing pediatric renal failure. Since specific treatment targeting the etiology and pathophysiology of primary FSGS is yet elusive, the authors explored the pathophysiology of FSGS by transcriptome analysis of the disease using an animal model.

**Methods :** FGS/kist strain, a mouse model of primary FSGS, and RFM/kist strain, as control and the parent strain of FGS/kist, were used. Kidney tissues were harvested and isolated renal cortex was used to extract mRNA, which was run on AB 1700 mouse microarray chip after reverse transcription to get the transcriptome profile.

**Results :** Sixty two genes were differentially expressed in FGS/kist kidney tissue compared to the control. Those genes were related to cell cycle/cell death, immune reaction, and lipid metabolism/vasculopathy, and the key molecules of their networks were TNF, IL-6/4, IFN $\gamma$ , TP53, and PPAR $\gamma$ .

접수 : 2011년 3월 19일, 수정 : 2011년 4월 14일, 승인 : 2011년 4월 15일

\*이 논문은 2006년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2006-352-E00012) 및 대한소아신장학회 2005년도 연구비 지원에 의하여 이루어 진 것임.

‡2006년 대한소아신장학회 춘계학술대회에서 발표함

¶강희경, 이병섭 두 저자는 본 연구에 동일하게 기여하였음.

책임저자 : 정해일, 서울 중로구 대학로 101번지 서울대학교병원 소아청소년과

Tel : 02)2072-2810 Fax : 02)743-3455 E-mail : cheonghi@snu.ac.kr

**Conclusion :** This study confirmed that renal cell death, immune system activation with subsequent fibrosis, and lipid metabolism-related early vasculopathy were involved in the pathophysiology of FSGS. In addition, the relevance of methodology used in this study, namely transcriptome profiling, and Korean animal model of FGS/kist was validated. Further study would reveal novel pathophysiology of FSGS for new therapeutic targets. (*J Korean Soc Pediatr Nephrol* 2011;15:38-48)

**Key Words :** Focal segmental glomerulosclerosis, Transcriptome, Laboratory Animal Models

## 서 론

국소성 분절성 사구체 경화증(Focal segmental glomerulosclerosis, 이하 FSGS)은 소아 신부전의 원인 중 가장 흔한 사구체 질환이다. 소아에서 일차성(idiopathic) FSGS는 임상적으로 신 증후군 또는 무증상성 단백뇨의 양상으로 나타나며 대부분의 경우 신기능의 악화가 진행하여 결국은 말기 신부전으로 진행한다[1]. 일차성 FSGS의 병인은 아직 알려져 있지 않은데, FSGS로 인한 말기신부전 환자가 정상 신장을 이식 받은 후 약 50%에서 신증후군의 재발을 보이므로 적어도 일부에서는 혈중의 circulating permeability factor가 사구체 여과장벽을 교란시켜 사구체 기저막의 투과성을 변화시켜 발생하는 것으로 이해되고 있다[2].

아직 알려져 있지 않은 질환의 원인 또는 병태생리를 탐색하는 방법의 하나로서 cDNA 마이크로레이를 이용한 유전자 발현 양상의 분석(profiling of transcriptome)이 21세기 들어 활발히 이용되고 있다. 이것은 인간게놈프로젝트를 통하여 밝혀진 인간 유전자의 염기 서열과 상보적인 결합을 하는 두 가닥 구조인 DNA의 특성을 이용하여, 전체 또는 대부분의 유전자를 8-25 염기 크기의 수많은 탐침 올리고뉴클레오티드로 만들어 칩에 심어놓고 시료의 mRNA를 변환(cDNA로 역전사) 시켜 칩에 결합시킴으로써 해당 유전자의 발현 정도를 밝혀내는 기술이다[3]. 이 방법을 이용하여 특정 유전자가 특정 조직 또는 세포에서 얼마나 발현(transcribe)되는지 알 수 있으므로, 특정 질환에서의 전체 유전자의 발

현 양상(transcriptome)을 대조군과 비교함으로써 유전자 발현 수준에서의 질환의 특성을 밝혀낼 수 있으며, 신장질환에서도 그 유용성이 입증 된 바 있다 [4-6]. 그러나 이러한 transcriptome profiling은 얻을 수 있는 정보량이 막대하여 질병과 관련되지 않은 개체간의 차이 또는 질환의 subgroup 간의 차이에 의한 유전자 발현의 차이가 그 결과를 교란시키므로, 특히 환자의 시료를 이용하는 경우 그 해석에 어려움이 따른다. 따라서 동일한 유전적 배경 및 병태생리를 보이는 동물 모델을 이용하는 것이 선호된다.

FSGS의 동물 모델로서 근래 개발된 FGS/kist strain은 1991년 Hyun 등에 의해 CBA/Nga 생쥐와 RFM/Nga 생쥐 사이의 F5 자손으로부터 반복적인 선택을 통해 확립된 strain으로써 [7], 생후 2-3 개월경 자발성 단백뇨를 보이면서 광학현미경상 국소성 분절성 사구체 경화증 및 메산지움의 증식, 전자현미경상 메산지움의 전자 고밀도 물질의 침착과 족돌기의 융합 및 미만성 소실 등의 소견과 함께 임상적으로 만성 신부전으로 진행되는 등 사람의 FSGS의 경과와 매우 유사한 양상을 보인다[8]. 이 모델에서 신조직의 transforming growth factor (TGF)- $\gamma$ 의 발현이 증가되어 있으며 [9], 항섬유화제제인 pirfenidone와 IL-10 유전자 치료에 의해 사구체 경화의 진행이 억제되고 [10, 11], quantitative trait loci 분석을 통해 단백질과 사구체 경화의 발생이 생쥐 염색체 8번에 위치하는 유전자와 관련된 것이 밝혀졌다 [12, 13]. 이 모델의 병태생리에 대하여 Ni-shimura 등은 FGS 생쥐의 조혈모세포를 정상 생쥐에 주입하여 병변이 재발하는 것을 보임으로써 조혈 모세포에 의한 질병일 것이라고 주장한 바 있다 [14].

저자들은 동일한 유전적 배경과 병태생리를 가지며 자발적인 FSGS의 임상경과를 보이는 FGS/Kist 생쥐의 신장조직에서의 유전자 발현의 양상을 정상 쥐와 비교, 분석함으로써 유전자 발현 수준에서의 FSGS의 질환의 특성을 밝히고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

FSGS의 동물 모델인 FGS/kist 생쥐와 이의 조상 strain인 RFM/kist 생쥐(한국생명공학연구원 바이오 평가센터 질환동물모델 평가 연구실, 대전)를 각각 질병군과 대조군으로 하였다.

### 2. 방법

동물실험: 월령 5 개월의 생쥐를 군당 각 3 마리씩 이용하였으며, 생쥐의 사육은 한국생명공학연구원에서, 실험은 서울대학교병원에서 시행하였다. Metabolic cage를 이용하여 24시간 소변을 채취하여 요 단백/크레아티닌 비율을 측정하고, 동물을 에테르로 마취시킨 상태에서 개복하여 대정맥에 카테터를 삽입하여 혈액을 채취, 혈청 알부민과 크레아티닌을 측정하였다. 차가운 PBS로 신장조직을 관류시켜 신장을 적출하여, 신장 조직의 일부는 조직학적 평가에 이용하고 나머지 신장조직은 그 피질을 분리하여 total RNA를 추출하였다. 모든 과정은 NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals를 준수하였다.

면역형광염색: FGS/kist 생쥐 신사구체 상피세포의 nephrin과 podocin 발현 여부를 확인하기 위하여 신장 동결 절편을 알려진 방법에 따라 염색하였다 [14]. 일차 항체로는 Dr. K. Tryggvason으로부터 제공받은 토끼 항 nephrin 혈청 K2737 또는 Dr. C. Antignac으로부터 제공받은 토끼 항 podocin 혈청 K P35를 사용하였으며, 이차 항체로는 Fluorescein

isothiocyanate (FITC)-labeled 항-토끼 당나귀 항체 (Abcam, Cambridge, UK)를 사용하였다.

마이크로어레이실험: 개체당 2  $\mu$ g의 total RNA를 시료로 하였다. Applied Biosystems Chemiluminescent RT-IVT Labeling Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA)를 이용하여 공급자의 매뉴얼에 따라 mRNA를 변환시킨 후 생쥐 유전자 33,012개에 대한 유전자 발현 정도를 측정할 수 있는 AB 1700 mouse chip (Applied Biosystems)에 hybridization 시키고, probe에 결합한 유전자의 chemiluminescence를 측정함으로써 각 군의 유전자 발현 정도의 data를 얻었다.

### 3. 분석

Data는 Avadis Prophetic 3.0 version (Strand Genomics Pvt. Ltd., <http://avadis.strandgenomics.com/>)을 이용하여 분석하였다. 우선 Quantile normalization 과정을 통하여 기술적인 변이 (systemic variation)를 통제한 후, 2-sample t-test로 질병군과 대조군 간에 발현의 정도에 차이를 보이는 유전자를 추출하였고( $P < 0.05$ ), 이들 중 질병군 대 대조군의 유전자 발현의 양적인 차이가 1.5배 이상인 유전자를 FGS 질병특이 유전자군으로 정의하였다. 이들의 특성을 파악하기 위하여 Panther classification (<http://www.pantherdb.org/>)과 Ingenuity systems<sup>®</sup> (Ingenuity systems, Inc. Redwood City, CA)를 이용하여 분석하였다.

## 결 과

### 1. FSGS의 동물모델

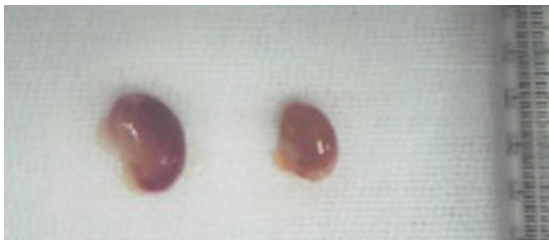
문헌에 보고된 바와 같이, 생후 5개월 된 FGS/Kist 생쥐의 체중은 각각 26, 26, 27 g으로 같은 월령의 RFM/kist 생쥐(31, 32, 32 g)에 비하여 적었으며 이들의 신장의 무게 또한 비슷한 정도로 차이를

보였다(Fig. 1). 혈중 크레아티닌과 알부민은 두 군간에 차이를 보이지 않았으나 24시간 소변의 단백량은 FGS/kist 생쥐에서 RFM/kist에 비하여 의미 있게 많았으며(요 단백/크레아티닌 비율  $27.2 \pm 19.8$  vs.  $6.9 \pm 0.4$ ), FGS/kist의 신 조직에서 사구체 경화와 조직의 염증 소견을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 한편, 신사구체 상피세포의 중요 단백질 nephrin과 podocin은 FGS/kist에서 정상적으로 발현하는 것이 관찰되었다(Fig. 3).

## 2. FSGS의 질병특이 유전자

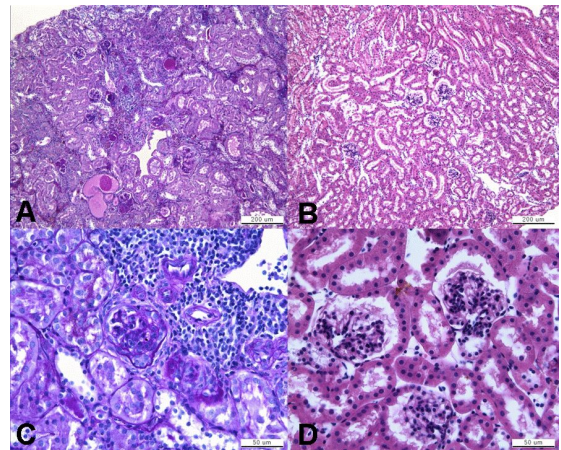
AB 1700 mouse chip의 33,012개 유전자 중 6개의 시료 모두에서 유효한 발현이 관찰된 유전자의 수는 13,262개였다. 이 중 질병군과 대조군 간에 발현의 정도에 통계적인 차이가 있으면서 양적인 차이가 1.5배 이상인 유전자(질병특이 유전자군)는 모두 112개 유전자였으며, 이중 gene의 이름이 알려진 유전자는 62개였다(Table 1). 이들을 유전자 발현 정도와 질병군/대조군 간의 발현 차이에 따라 그룹화한 clustering (K-means cluster)의 결과는 Fig. 4에 제시하였다. 이 유전자들이 관여하는 biological process와 molecular function은 Table 2와 같다.

이들 유전자들의 생물학적인 의미를 추론하기 위하여 기존의 정보와 본 연구에서 추출한 FGS 질병특이 유전자군 간의 관계의 network를 Ingenuity

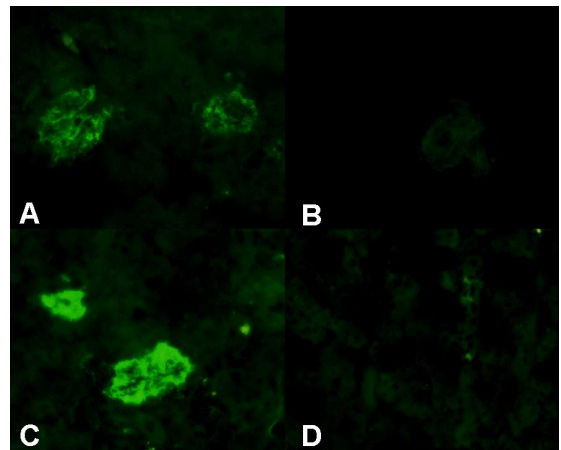


**Fig. 1.** Extracted kidneys from control mouse RFM (right) and FSGS model mouse FGS (left). The kidney from FGS is smaller than that of RFM.

프로그램을 이용하여 추출하였다(Fig. 5A, B). Fig. 5A (Gene Expression, Cardiovascular Disease, Lipid Metabolism)에서는 tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL)-6, peroxisome proliferative activated receptor- $\gamma$  (PPARG)가, Fig. 5B (Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Immune Response, Immune and Lymphatic System Development and Function)에서는



**Fig. 2.** Light microscopic findings of the kidneys from FGS (A,  $\times 100$  and C,  $\times 400$ ) and RFM (B,  $\times 100$  and D,  $\times 400$ ) showing inflammation and sclerosis of FGS.



**Fig. 3.** Expression of nephrin (A) and podocin (C) in the glomeruli of FGS mouse. (B & D; negative control using the secondary antibodies).

**Table 1A.** FGS Disease-specific Gene Set. Up-regulated Genes in FGS Compared to Control RFM.

Gene Symbol	Fold (FGS_RFM)	Gene Name	RefSeq NM
Ttr	96.69	transthyretin	NM_013697
Ppwd1	12.91	peptidylprolyl isomerase domain & WD repeat	NM_172807
Nudt2	5.81	nudix-type motif 2	NM_025539
Taf11	4.90	TAF11 RNA polymerase II	NM_026836
Mcm5	4.77	minichromosome maintenance deficient 5	NM_008566
Fkbp1b	4.57	FK506 binding protein 1b	NM_016863
Arhgef10l	3.88	Rho guanine nucleotide exchange F.(GEF) 10-like	NM_172415
Clcnkb	3.74	chloride channel Kb	NM_019701
Klhl9	3.68	kelch-like 9 (Drosophila)	NM_172871
Id3	3.43	inhibitor of DNA binding 3	NM_008321
Apom	3.13	apolipoprotein M	NM_018816
Sparc	2.97	secreted acidic cysteine rich glycoprotein	NM_009242
Mgll	2.96	monoglyceride lipase	NM_011844
Ugt3a2	2.82	UDP glycosyltransferases 3 family, peptide A2	NM_144845
Mogat2	2.62	monoacylglycerol O-acyltransferase 2	NM_177448
Slc2a5	2.59	solute carrier family 2 (facilitated glucose) 5	M_019741.2
Ris2	2.45	retroviral integration site 2	NM_026014
Spbc25	2.33	spindle pole body component 25 homolog	NM_025565
Gsto1	2.32	glutathione S-transferase omega 1	NM_010362
Ogn	2.30	osteoglycin	NM_008760
Rnu22	2.26	RNA, U22 small nucleolar	AK036616.1
Nrxn2	2.21	neurexin II	NM_020253
Acsl3	2.20	acyl-CoA synthetase long-chain family 3	M_001001981
Mcm4	2.19	minichromosome maintenance deficient 4	NM_008565
Aim1l	2.06	absent in melanoma 1-like	BC042709.1
Rsnl2	2.05	restin-like 2	NM_030179
Mogat1	2.01	monoacylglycerol O-acyltransferase 1	NM_026713
Maoa	2.01	monoamine oxidase A	NM_173740
Ngfrap1	1.89	nerve growth factor receptor associated protein 1	NM_009750
Xpnpep2	1.87	X-prolyl aminopeptidase 2, membrane-bound	NM_133213
Spp2	1.84	secreted phosphoprotein 2	NM_029269
Slc25a16	1.83	solute carrier family 25 member 16	NM_175194
Pttg1	1.79	pituitary tumor-transforming 1	NM_013917
Fkbp5	1.76	FK506 binding protein 5	NM_010220
Fads1	1.75	fatty acid desaturase 1	NM_146094
Zswim4	1.62	zinc finger, SWIM domain containing 4	NM_172503
Fance	1.62	Fanconi anemia, complementation group E	XM_283409
Dscr5	1.54	Down syndrome critical region homolog 5	NM_019543.2

interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), IL-6/4, tumor protein (TP) 53이 중심 유전자인 것을 알 수 있다.

## 고 찰

본 연구에서는 사람의 일차성 FSGS와 유사한 질

**Table 1B.** FGS Disease-specific Gene Set. Down-regulated Genes in FGS Compared to Control Mice RFM

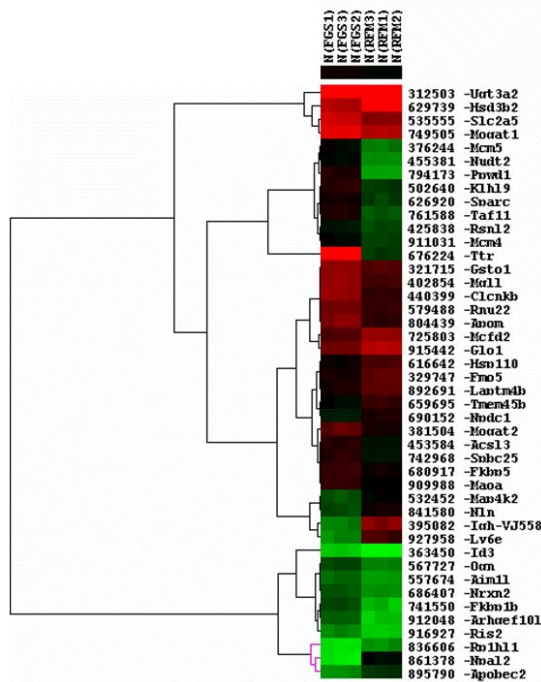
Gene_Symbol	Fold (FGS_RFM)	Gene_Name	RefSeq_NM
Igh-VJ558	-27.28	immunoglobulin heavy chain (J558 family)	BC018461.1
Npal2	-16.35	NIPA-like domain containing 2	NM_145469
Ly6e	-13.38	lymphocyte antigen 6 complex, locus E	NM_008529
Apobec2	-3.23	apolipoprotein B editing complex 2	NM_009694
Nln	-3.14	neurolysin (metallopeptidase M3 family)	NM_029447
Hsd3b2	-2.80	hydroxysteroid dehydrogenase-2, d<5>-3-b	M_153193.2
Rp1hl1	-2.67	retinitis pigmentosa 1 homolog (human)-like1	XM_484387
Map4k2	-2.64	mitogen activated protein x4 kinase 2	NM_009006
Glo1	-2.41	glyoxalase 1	NM_025374
Fmo5	-2.37	flavin containing monooxygenase 5	NM_010232
Mcfcd2	-2.32	multiple coagulation factor deficiency 2	NM_139295
Laptm4b	-2.12	lysosomal-asso. protein transmembrane 4B	NM_033521
Tmem45b	-2.11	transmembrane protein 45b	NM_144936
Hsp110	-2.07	heat shock protein 110	NM_013559
Npdc1	-2.00	neural proliferation, differentiation and control 1	NM_008721
Cys1	-1.96	cystin 1	M_001004455
Hdhd2	-1.94	haloacid dehalogenase-like hydrolase domain 2	NM_029826
Hmgn2	-1.89	high mobility Gr. nucleosomal binding domain 2	NM_016957
Treh	-1.71	trehalase	NM_021481
Tcea3	-1.71	transcription elongation factor A (SII), 3	NM_011542
Dleu7	-1.69	deleted in lymphocytic leukemia, 7	NM_173419
Trim17	-1.69	tripartite motif protein 17	M_031172.1
Gba	-1.59	glucosidase, beta, acid	NM_008094
Pus3	-1.58	pseudouridine synthase 3	NM_023292

병경과를 보이는 동물모델인 FGS/kist 생쥐 신피질 조직의 유전자 발현 양상을 대조군 생쥐(FGS/kist 생쥐의 조상 strain인 RFM/kist 생쥐)와 비교하였다. 여기서 얻어진 62개의 FGS 질병특이 유전자군은 세포주기/사멸, 면역반응과 지질 대사/혈관 질환과 관련된 유전자들이었는데, 이는 이미 알려진 FSGS의 병태생리, 즉 신장세포사멸과 면역반응에 뒤따르는 기질 섬유화, 그리고 지질 대사의 이상과 조기 혈관 질환을 반영하는 것으로 판단된다. 기존의 정보와 새로운 연구결과 얻어진 유전자군과의 관계를 탐색하여 생물학적인 의미를 찾아내는 기법인 Ingenuity의 networking을 통하여서도 이를 확인할 수 있었는데, network의 중심유전자가 면역반응(TNF, IL-6/4, IFN $\gamma$ )과 세포사멸 조절 유전자

(TP 53), 그리고 지질대사(PPARG)의 중요 유전자들인 것이 그 근거이다. 질병특이 유전자군과 임상적 경험의 관련성을 살펴보면, 1) 면역반응 관련 유전자; FSGS의 치료제로써 면역억제제가 이용되고 있으며 FGS/kist 동물모델에서 면역 억제 기능을 가진 IL-10의 유전자 치료가 효과를 보인 것[11]과, 2) PPARG; PPARG의 길항제인 rosiglitazone이 당뇨병 신병증 등 다양한 신질환에서 활발한 임상 시험의 대상이 되었던 것[16-18]을 들 수 있다. 따라서, 마이크로어레이를 이용한 global transcriptome profiling 기법이 치료방법 개발 및 병인 탐색에서 의미 있는 결과를 도출할 수 있는 방법임이 증명되었다 하겠다.

FGS 질병특이 유전자로써 가장 현저한 변화를 보

인 유전자는 transthyretin (Ttr, 14kDa)로, 그 mRNA expression이 FGS에서 대조군에 비하여



**Fig. 4.** K-means clustering of the FGS Disease-specific gene set. Down-regulated genes in FGS compared to control mice RFM are green and up-regulated genes in FGS compared to control mice RFM are red.

90배 이상 증가하였다. 이 단백질은 prealbumin의 일종으로 갑상선 호르몬과 비타민A에 결합하며 간, 신장, 뇌에 발현한다[19]. 신질환과 관련하여서는 이 단백질에 돌연변이가 있을 때 전신성 amyloidosis가 발생하는 것과[20] 신기능이 악화된 환자와 일부 신 증후군 환자의 소변에서 검출되는 것이 보고된 바 있다[21]. 신 증후군 환자의 소변에서 Ttr이 검출되는 것은 이 환자군에서 심한 단백뇨가 있을 때 간에서 전반적인 알부민과 transport 단백질의 생성이 증가되는 현상에 의한 이차적인 소견으로 설명되고 있으나, 본 연구에서 관찰된 타 albumin계 단백질의 발현은 parvalbumin (1.14배,  $P=0.37$ ), alpha fetoprotein (-1.29배,  $P=0.72$ ), albumin 1 (1.13배,  $P=0.78$ ), afamin (1.06배,  $P=0.86$ ) 등으로 의미 있는 차이를 보이고 있지 않으므로, FGS 생쥐에서 관찰된 Ttr의 발현 증가가 전반적인 albumin계 단백질의 발현 증가에 의한 것일 가능성은 높지 않다. Ttr이 다른 albumin계 단백질과는 상이한 transcription factor의 영향을 받거나 심한 단백뇨에 따른 갑상선 저하증에 의한 보상작용으로 특이적으로 발현이 증가한 것일 가능성이 있으며 또한 Ttr이 병인 또는 병태생리에 직접적으로 관여할 가능성도 배제할 수 없으므로 향후 추가 연구가 필요하다.

**Table 2.** Biological Process and Molecular Function of the FGS Disease-specific Gene Set

Panther Classification	Involved Genes
Biological Process	
Cell cycle	Pttg1, Fkbp5, Mcm5, Mcm4, Hmgn2
Immunity and defense	Fkbp5, Gsto1, Igh-VJ558, Mcdf2, Ppwd1
Lipid, fatty acid and steroid metabolism	Acsl3, Gba, Hsd3b2, Mgl1, Mogat1/2, Ugt3a2
Nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	Apobec2, Hmgn2, Id3, Mcm4/5, Pttg1, Taf11, Tcea3
Protein metabolism and modification	Fkbp1b/5, Hsp110, Map4k2, Nln, Ppwd1, Xpnpep2
Signal transduction	Fkbp5, Nrnx2, Ogn
Transport	Clnkb, Slc25a16, Slc2a5, Ttr
Molecular Function	
Nucleic acid binding	Pttg1, Tcea3, Apobec2, Hmgn2, Mcm4/5
Transcription factor	Id3, Npdc1, Pttg1, Taf11, Tcea3, Trim17
Transferase	Gsto1, Map4k2, Mogat1, Mogat2, Ugt3a2
Transporter	Lptm4b, Mcdf2, Slc2a5, Ttr

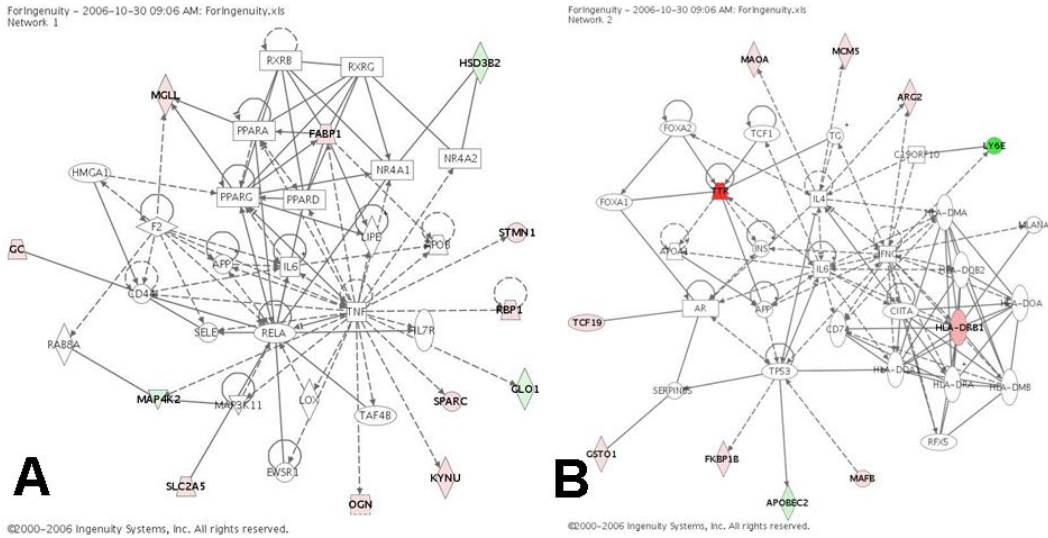


Fig. 5. Networking of differentially expressed genes of FGS, extracted using Ingenuity.

한편, FGS에서 그 발현이 가장 감소한 것으로 나타난 Igh-VJ558은 immunoglobulin heavy chain의 한 종류이다. 이것은 관련되어있으나 상이한 strain인 FGS 생쥐와 RFM 생쥐의 면역학적인 차이에 의한 것으로 생각되는데, 마이크로어레이 실험으로써 두 군의 차이가 잘 반영된 것을 시사한다 하겠다. 또 다른 가능성으로는, 신증후군에서 보이는 IgG의 감소의 기전으로써 특정 IgG의 유전자 발현이 감소할 가능성이 있다[22]. 기존의 연구에서 FGS 생쥐에서 TGF가 증가한 것을 보고한 바 있는데[9], 본 연구에서는 여러 TGF-β의 transcript 중 일부는 그 발현이 적절히 측정되지 않아 분석에서 제외되었고(normalization과정에서 탈락), 일부(TGF-β induced와 TGF-β2)는 FGS에서 대조군에 비해 1.3-1.7배 더 증가한 발현을 보였으나 통계적으로 의미 있는 차이는 보이지 않았다. 한편, podocyte 관련 유전자인 podocin과 nephrin은 면역형광염색에서뿐만 아니라 마이크로어레이 실험에서도 의미 있는 차이를 보이지 않았으므로, FGS model의 병태생리에 podocyte, 또는 적어도 podocin과 nephrin의 차이는 관여하지 않는다 하겠다. Podocin과 nephrin 이외의 podocyte 관련 유전자가 관여할

가능성은 여전히 남아있지만 마이크로어레이 실험으로는 그 차이를 발견할 수 없었는데, 이는 두 가지의 가능성으로 설명할 수 있다; 1) FGS model은 podocyte 특이 유전자와는 관련이 없거나 2) 관련이 있더라도 podocyte가 신사구체 또는 신피질 전체의 일부분만을 차지하므로 mRNA의 expression의 정도가 상대적으로 미약하여 차이가 발견되지 않을 가능성이 그것이다.

이 연구에서는 동물 모델을 대상으로 하였는데, 환자의 샘플을 이용하였을 때는 질병군과 대조군에서 유전적 배경과 연령 등의 변수들을 동일하도록 조작할 수 없으나 동물 모델에서는 조작이 가능하기 때문이다. 실례로 Schwab 등이 FSGS 환자 10명의 신생검 신 조직에서 마이크로어레이를 이용하여 다양한 유전자의 발현의 증감 양상을 발표하였는데, 환자군의 다양성이 배제되지 못하였고 조직의 균질성을 얻기가 어렵다고 기술한 바 있다[23]. 특히 본 연구에서 사용된 FGS/kist 생쥐 모델은 국내 연구진에 의해 개발된 모델로써, 발견된 FGS 질병특이 유전자군이 FSGS의 알려진 병태생리와 관련을 보이는 것으로 미루어 볼 때 향후 FSGS의 동물모델로서의 FGS/kist 생쥐 모델의 유용성을 다시 한번 확인



할 수 있었다. 이 모델에서 아쉬운 점은 뚜렷한 단백뇨에도 불구하고 혈중 알부민 및 크레아티닌 농도가 대조군과 다르지 않은 점이었는데, 이는 1) 신증후군이 말기로 진행하기 전의 시점에 실험을 진행하였으므로 차이가 나타나지 않거나 2) 실험 동물의 특성상 혈중 농도의 차이가 심하지 않거나 3) 이 모델에서의 병태생리가 사람의 신증후군과 다르기 때문일 수 있겠다. 그러나 생쥐의 신 증후군 모델로 알려져 있는 Adriamycin 투여 모델에서도 FGS 모델에서와 같이 혈중 알부민 농도에는 큰 차이를 발견하기 어려우며[15], 반면 FGS의 경우 Adriamycin 투여 모델과는 달리 질환의 정도가 일정하므로 FSGS의 생쥐 모델로써는 Adriamycin 투여 모델보다 우수하다 하겠다. 다만 본 연구에서 FSGS를 설명 또는 치료할 수 있는 새로운 병태생리를 찾아내지는 못하였는데, FGS/kist strain의 또 다른 조상 strain인 CBA/N strain이나 단백뇨를 전혀 보이지 않는 B57/BL6 strain 등과의 비교를 추가적으로 시행한다면 새로운 발견이 가능할 것으로 생각된다. 한편, 이 동물모델이 조혈모세포의 이식으로 채워지는 것이 보고된 바 있으므로[14], 조혈모세포 또는 말초혈액 단핵구의 유전자 발현을 비교하는 것이 좀더 근본적인 병인과 관련된 정보를 얻는 방법이 될 것이다.

이 연구에서 저자들은 자발적인 FSGS의 임상경과를 보이는 FGS/Kist 생쥐 신장조직의 유전자 발현 분석을 통하여 신장세포사멸과 면역반응에 뒤따르는 기질 섬유화, 그리고 지질 대사의 이상과 조기 혈관 질환이 FSGS의 병태생리에 기여할 것임을 다시 확인할 수 있었다. 추가적인 연구가 계속된다면 global transcriptome profiling 기법으로 치료방법 개발 및 병인 탐색에 의미 있는 결과를 도출할 수 있을 것이다.

## 요 약

**목적:** 국소성 분절성 사구체 경화증(Focal seg-

mental glomerulosclerosis, 이하 FSGS)은 소아 신부전의 원인 중 가장 흔한 사구체 질환이다. 일차성 FSGS의 병인은 아직 알려져 있지 않으므로, 저자들은 FSGS의 동물 모델을 대상으로 cDNA 마이크로어레이를 이용한 유전자 발현 양상 분석을 통하여 유전자 발현 수준에서의 FSGS의 질환의 특성을 밝히고자 하였다.

**방법:** 사람의 일차성 FSGS와 유사한 질병경과를 보이는 동물모델인 FGS/kist 생쥐의 신피질 조직을 대조군 생쥐(FGS/kist 생쥐의 조상 strain인 RFM/kist 생쥐)와 AB 1700 mouse chip을 이용한 마이크로어레이 실험으로 비교하였다.

**결과:** FGS 질병특이 유전자가 62개 추출되었다. 이들은 세포주기/사멸, 면역반응과 지질 대사/혈관 질환과 관련된 유전자들로서, 유전자간 network의 중심유전자가 면역반응(TNF, IL-6/4, IFN $\gamma$ )과 세포사멸 조절 유전자(TP 53), 그리고 지질대사의 중요 유전자인 PPAR $\gamma$ 이었다.

**결론:** 이 연구에서 저자들은 자발적인 FSGS의 임상경과를 보이는 FGS/Kist 생쥐의 신장조직의 유전자 발현의 분석을 통하여 신장세포사멸과 면역반응에 뒤따르는 기질 섬유화, 그리고 지질 대사의 이상과 조기 혈관 질환이 FSGS의 병태생리에 기여할 것임을 다시 확인할 수 있었다. 추가적인 연구가 계속된다면 global transcriptome profiling 기법으로 병인 탐색 및 치료방법 개발에 의미 있는 결과를 도출할 수 있을 것이다.

## References

- 1) Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 2003;362:629-39.
- 2) Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996;334:878-83.

- 3) Hayden PS, El-Meanawy A, Schelling JR, Sedor JR. DNA expression analysis: serial analysis of gene expression, microarrays and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12:407-14.
- 4) Yoshida T, Tang SS, Hsiao LL, Jensen RV, Ingelfinger JR, Gullans SR. Global analysis of gene expression in renal ischemia-reperfusion in the mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291:787-94.
- 5) Yoshida T, Kurella M, Beato F, Min H, Ingelfinger JR, Stears RL, et al. Monitoring changes in gene expression in renal ischemia-reperfusion in the rat. *Kidney Int* 2002;61:1646-54.
- 6) Alexander JJ, Saxena AK, Bao L, Jacob A, Haas M, Quigg RJ. Prominent renal expression of a murine leukemia retrovirus in experimental systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2869-77.
- 7) Hyun BH, Wakasugi N, Nose M, Saito T, Tomita T. A new mouse strain manifesting high proteinuria and kidney glomerular defect. *Lab Anim Sci* 1991;41:442-6.
- 8) Lee CH, Kim YJ, Nam YY, Choi YK, Kim YJ, Choi JY, et al. Pathological Observation of FGS/NgaKist Mice with Glomerulosclerosis. *Korean Journal of Laboratory Animal Science* 1996;12:51-9.
- 9) Oh HK, Kim YJ, Park MO, Lee CH, Hyun BH, Shu IS. Expression of Transforming Growth Factor- $\beta$  and Morphologic Changes of Glomerulosclerosis in FGS/NgaKist Mouse. *Korean Journal of Pathology* 1998; 32:35-42.
- 10) Park HS, Bao L, Kim YJ, Cho IH, Lee CH, Hyun BH, et al. Pirfenidone suppressed the development of glomerulosclerosis in the FGS/Kist mouse. *J Korean Med Sci* 2003; 18:527-33.
- 11) Choi YK, Kim YJ, Park HS, Choi K, Paik SG, Lee YI, et al. Suppression of glomerulosclerosis by adenovirus-mediated IL-10 expression in the kidney. *Gene Ther* 2003; 10:559-68.
- 12) Kim EH, Lee CH, Hyun BH, Suh JG, Oh YS, Namikawa T, et al. Quantitative trait loci for proteinuria in the focal glomerulosclerosis mouse model. *Mamm Genome* 2005;16: 242-50.
- 13) Kim EH, Lee CH, Hyun BH, Suh JG, Oh YS, Namikawa T, et al. Quantitative trait Loci for glomerulosclerosis, kidney weight and body weight in the focal glomerulosclerosis mouse model. *Exp Anim* 2005;54:319-25.
- 14) Nishimura M, Toki J, Sugiura K, Hashimoto F, Tomita T, Fujishima H, et al. Focal segmental glomerular sclerosis, a type of intractable chronic glomerulonephritis, is a stem cell disorder. *J Exp Med* 1994;179: 1053-8.
- 15) Hahn H, Park YS, Ha IS, Cheong HI, Choi Y. Age-related differences in adriamycin-induced nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2004; 19:761-6.
- 16) Joy MS, Gipson DS, Dike M, Powell L, Thompson A, Vento S, et al. Phase I trial of rosiglitazone in FSGS: I. Report of the FONT Study Group. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:39-47.
- 17) Buckingham RE, Al-Barazanji KA, Toseland CD, Slaughter M, Connor SC, West A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, protects against nephropathy and pancreatic islet abnormalities in Zucker fatty rats. *Diabetes* 1998;47:1326-34.
- 18) Sarafidis PA, Stafylas PC, Georgianos PI, Saratzis AN, Lasaridis AN. Effect of thiazolidinediones on albuminuria and proteinuria in diabetes: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2010;55:835-47.
- 19) Motojima K, Goto S. Dual promoters and tissue-specific expression of rat transthyretin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:323-30.
- 20) Cohen AS, Connors LH. The pathogenesis and biochemistry of amyloidosis. *J Pathol* 1987;151:1-10.
- 21) Tormey WP, O'Brien PA. Clinical associations

- of an increased transthyretin band in routine serum and urine protein electrophoresis. *Ann Clin Biochem* 1993;30(Pt 6):550-4.
- 22) Han JW, Lee KY, Hwang JY, Koh DK, Lee JS. Antibody status in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Yonsei Med J* 2010;51:239-43.
- 23) Schwab K, Witte DP, Aronow BJ, Devarajan P, Potter SS, Patterson LT. Microarray analysis of focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Nephrol* 2004;24:438-47.