

신생환쥐의 보상성신비대과정중 시기별 신장세포의 증식과 세포분열의 변화 및 신장 Nitric Oxide Synthase 활성의 변화

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실

나군호 · 한상원 · 최승강

=Abstract=

Detection of Cellular Proliferation during Compensatory Renal Growth in Neonatal Rats Using Flow Cytometry and Activity of Nitric Oxide Synthase

Koon Ho Rha, Sang Won Han and Seung Kang Choi

From the Department of Urology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Renal compensatory growth, after the loss of functioning parenchyme due to nephrectomy or hydronephrosis, is an important clinical phenomenon which often eventually results in glomerulosclerosis and renal failure. Thus numerous efforts have been made to elucidate the mechanism of compensatory growth and to discover the methods which can impede the compensatory process. Compensatory renal growth in mature animals is mainly by cellular hypertrophy, the increase in cellular component without increase in number of cells. But small portion of growth is composed of hyperplasia, the increase in total number of cells.

To evaluate hyperplasia and hypertrophy, flow cytometry is employed. The DNA ploidy pattern of each kidney cell is analyzed, and the proportion of synthetic and replicating cells is calculated. For evaluation of hypertrophy, the presumed causative metabolite, nitric oxide, is indirectly titrated by measuring the activity of its key enzyme, nitric oxide synthase. The results of the experiment are as follows.

1. The increase in fraction of synthetic and replicating cells in flow cytometry is a definite evidence of cellular hyperplasia, thus hyperplasia is involved in neonatal compensatory renal growth.
2. Cellular hyperplasia is profound after 48 to 72 hours of injury.
3. A statistically significant difference was noted at 12 hours after nephrectomy between control and experimental groups in G₂ + M phase (mitotic phase).
4. Nitric oxide is an important messenger of early (within 48 hours) renal compensatory growth in neonatal rats.
5. In view of the adult model experiment of nitric oxide synthase, where nitric oxide is confirmed to be involved in renal compensatory hypertrophy, nitric oxide is also related to the renal hypertrophy in neonatal periods.

In conclusion, the compensatory renal growth in neonatal period is due to both hyperplasia and hypertrophy. Nitric oxide is a key signalling messenger of early compensatory renal growth,

it can be stated that if the process of hypertrophy could be selectively blocked, prevention of renal failure as a consequence of glomerulosclerosis can be a reality.

Key Words: Compensatory renal growth, Flow cytometry, Nitric oxide synthase

서 론

신생기의 일측 신장의 폐색 혹은 손상 및 외과적 수술로 신장의 일부가 소실된 경우에, 단기적으로는 건강한 부분의 신장에 신장혈류의 증가, 사구체 여과율의 항진, 신장용적의 증가등의 변화가 일어나 소실된 신장의 기능을 대신하게 되며^{1,2} 이를 보상성신비대 (compensatory renal growth)라고 일컫는다. 이 변화는 정상적인 생리적 적응 기전이며 일측 신장을 절제하였을때 대측 신장에서 보이는 보상성신비대가 그 대표적인 경우이다^{3,4}. 그러나 보상성신비대는 신질환의 원인 교정 후에도 지속적으로 신손상이 진행되어, 경우에 따라선 신부전으로 진행된다⁵. 따라서 일단 신조직 손실이나 신질환이 발생하면 진행성 변화를 방지하는 것이 중요하나 현재는 고혈압 조절이나 단백식이 제한등의 보존적 방법만이 신질환 치료법으로 권유되고 있다.

신장생리의 다양한 연구가 진행되어 오면서 단기적으로 어느 시기에 보상성신비대가 완료되고 따라서 신사구체경화 (glomerulosclerosis)를 피할 수 있는 임계시간 (critical time)이 언제인가를 알아보는 연구가 있어 왔으며, 그 기전을 규명하여 신사구체경화를 피할수 있는 방법이 모색되어 왔다. 최근 동물 모델 특히 흰쥐에서 보상성신비대 자체가 신사구체경화를 유발시키는 원인이 라는 여러가지 실험적 근거가 제시되고 있다^{6,7}.

보상성신비대는 성장이 끝난 개체의 경우 주로 세포의 비대 (hypertrophy)를 일으키며, 이는 동물실험에서 한쪽 신장의 손실 후 보상되는 신장 크기 증가의 80% 이상을 차지한다. 또한 일측 신장의 손실 후에 신장 크기 증가는 DNA양의 증가를 수반한다⁸. DNA양의 증가는 주로 세포비대 현상에 기인한다고 알려져 왔으나, 합성 및 복제등의 세포분열에 의한 절대적인 세포 수의 증가에 의할 수도 있다. 현재까지 이를 규명하기 위해 형태계측학적인 방법, polyamine 대사 측정, tritiated thymidine labelling 방법 등이 이용되어 왔으나⁹ 이들 방법으로는 DNA양의 증가는 알 수

있으나, 세포분열과 DNA ploidy를 구분할 수 없는 단점이 있었다. 최근 핵 DNA의 변화를 객관적으로 정확하게 측정할 수 있는 유세포 분석 (Flow cytometry)이 개발되었다. 기존 방법과 달리 flow cytometry를 이용하면 세포 단위의 DNA 함유량을 순간적으로 측정할 수 있다¹⁰.

신생기의 신손상의 경우에는 개개 세포의 기능 항진에 따른 노화보다는 세포의 절대 수가 증가하므로 실험적으로 신생 흰쥐에서 일측 신장 절제술로 보상성신비대 과정을 유도하고¹¹, flow cytometry를 이용하여 핵 DNA양과 세포 주기와 의 관계를 알아보고 세포 분열과 DNA ploidy를 구분할 수 있다¹². 따라서 DNA ploidy pattern을 확인하여 단순한 세포비대, 즉 분열없이 세포질 비대만이 일어나는지 아니면 세포분열 자체가 일어나는지를 DNA 분포로서 알 수 있다.

Nitric oxide (NO)는 신사구체 모세혈관의 내피 세포와 mesangial cell, macula densa등 모든 신장 세포에서 활발히 나타나고, 이는 보상성신비대에 관여하는 여러가지 성장요소의 생산과 조절에 관여하는 것으로 추정되고 있다¹³. 이를 토대로 NO가 보상성신비대와 밀접하게 관련되어 있다고 예측할 수 있다. 성장이 완료된 흰쥐에서 일측 신절제를 시행하여 보상성신비대를 유도한 경우, 신조직에서 NO 유리가 증가됨이 밝혀져 있다¹⁴. 따라서 성장이 완료되지 않은 신생기에서도 일측 신장 절제술로 보상성신비대와 NO의 연관성을 확인할 수 있으리라고 생각된다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 실험군 설정

실험 동물은 출생 24시간 이내의 Sprague-Dawley계의 신생 흰쥐를 대상으로 하였다. 흰쥐는 각각 출생 후 0, 12, 24, 48, 72, 120시간에 강수술(sham operation)을 하여 대조군으로 하였고, 실험군은 일측 신장 절제 후 12, 24, 48, 72, 120시간에 대측 신절제술을 시행하였다. 각 실험군의 시간대 별로 5-7 마리의 신생 흰쥐를 사용하였다.

2. 방법

가. Cell suspension의 준비

일측 신장 제거군에서는 출생 24 시간 이내의 흰쥐를 ether 마취하에 좌측 측복부 절개 후 신장을 확인한 후 2번 silk로 신장 혈관 및 요관을 결찰하여 좌측 신절제술을 가하고, 대조군에서는 가장수술을 시행하였다. 수술 후 12, 24, 48, 72, 120시간에 ether 마취하에 정중 복부 절개 후 우심방을 통해 생리식염수로 관류한 다음 우측 신장을 절제하였다. 적출된 신장은 혈관과 주위 부속물을 제거한 후 즉시 액체 질소 탱크에 냉동보관하였다. 보관되었던 신장 조직의 증광을 측정할 후 ice-cold RPMI tissue media (RPMI 1640 media, 1 M HEPES buffer (Gibco Diagnostics, Madison, WI, U.S.A.), 9% fetal bovine serum (pH 7.0, with 1% antibiotic/antimycotic solution; Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)에 20배 희석하여 조직 혼탁액을 준비하였다.

나. DNA 염색

조직 혼탁액을 41 μ m의 nylon mesh에 여과시킨 후 상층액을 버렸다. 불순 단백질을 제거하기 위해 trypsin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)이 섞인 용액을 0.48ml씩 넣고 10분간 유지하였다. RNA 등 non-DNA double stranded nucleic acid를 제거하기 위해 trypsin inhibitor와 RNase A (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)가 섞인 용액을 0.40ml씩 넣고 10분간 유지한 후, 마지막으로 double stranded DNA의 염색약인 propidium iodide (PI; Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)와 spermine tetrahydrochloride (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)가 섞인 용액을 0.40ml씩 넣고 30분간 저온에서 반응시킨 후 DNA ploidy를 분석하였다.

다. Flow cytometry에 의한 DNA ploidy 분석

DNA ploidy분석은 flow cytometry (Becton Dickinson FAC-Scan, San Jose, CA, U.S.A.)를 이용하여 파장이 488nm인 5 watt argon laser로 분석하였다. 한 표본당 10,000개의 세포를 측정하여 각 표본의 histogram을 얻은 후 세포 주기를 cell cycle analysis software를 이용하여 각 histogram의 세포 주기를 분석하였다. G_0 와 G_1 기 (휴지기)는 2C, tetraploid인 G_{2M} 기 (복제기)는 4C라고 명명하였다. S기 (DNA 합성기)는 2C와 4C사이의 세포로 하였다.

라. NO생성능과 nitric oxide synthase활성의 측정

신장조직을 NO 생성능 검색과, nitric oxide synthase (이하 NOS) 활성 검색때까지 액체 질소 탱크에서 냉동 보관하였다. 냉동 보관된 신장조직을 homogenate buffer (0.32 M sucrose, 20 mM HEPES, 0.5 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol, 5 mg phenyl methyl sulfonyl fluoride; Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)로 균질화하였다. NO 생성물은 각 신장균질액에 0.45mM $CaCl_2$, 1mM NADPH 용액 (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, U.S.A.)과 ^{14}C -L-arginine (Amersham Life Sciences, Rochester, NY, U.S.A.)을 첨가한 후 37°C에서 30분 반응시키고, 소량의 ice-cold HEPES/EDTA buffer를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 최종 반응액을 cation-exchange column에 적용시켜 ^{14}C -L-arginine으로 부터 ^{14}C -L-citrulline을 분리시키고, 추출된 NO의 coproduct인 ^{14}C -L-citrulline의 radioactivity를 beta counter (Beckman S5000TA Liquid Scintillation Systems, Fullerton, CA, U.S.A.)로 측정함으로써 NO 생성능을 평가하였다. NOS 활성은 전환된 ^{14}C -L-citrulline의 radioactivity를 반응액에 첨가한 ^{14}C -L-arginine의 total radioactivity로 나눈 전환 백분율로 표시하였다 (단위: % conversion / mg protein). 각 신장조직 균질액의 단백질 정량은 Lowry법을 사용하여 측정하였다¹⁶.

마. 통계 및 분석

실험 결과는 대조군과 실험군간의 상호 관계를 비교하였고, 결과에 대한 통계처리는 dbSTAT을 이용하여 Student's *t*-test (unpaired)로 하며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

1. Flow cytometry

일측 신장 절제후 나타나는 대측 신장의 보상성신비대 과정 중 세포증식 현상을 알아보기 위해 신생 흰쥐의 세포내의 DNA양상을 확인하여 DNA ploidy와 세포분열을 구분하였다(Table 1). G_0/G_1 기는 휴지기를 나타내며 시간별 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. S기 중에서 시간별 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다. G_2+M 기는 복제기 (mitotic phase)로 세포당 염색체 및 DNA의 양은 휴지기의 2배였다. 이 과정에서 12시간에서 대조

Table 1. DNA content by flow cytometry

Phase	G ₀ /G ₁		S		G ₂ +M		S+G ₂ +M	
	Control	UNX*	Control	UNX	Control	UNX	Control	UNX
0	85.6		10.6		3.8		14.4	
12	86.1	89.0	8.6	7.4	5.3	3.6	13.9	10.9
24	88.6	89.3	8.5	7.7	3.0	3.0	11.5	10.7
48	89.2	88.0	7.5	7.6	3.3	4.3	10.8	12.0
72	89.1	86.2	7.0	9.4	3.9	4.6	10.9	13.9
120	87.8	89.7	6.2	6.9	4.6	3.4	10.7	10.3

Values are in percents, UNX* : unilateral nephrectomy.

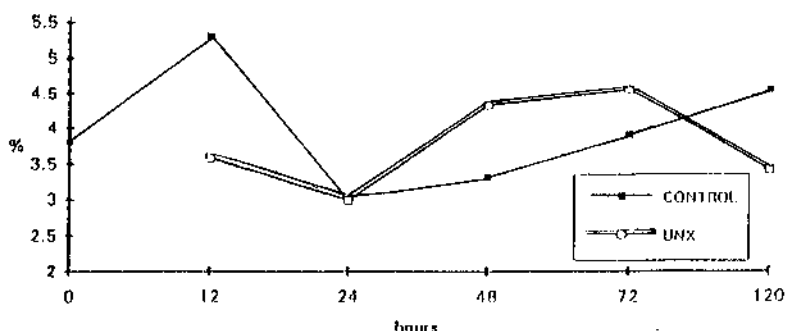
G₂ + M Phase

Fig. 1. Changes of DNA pattern in the G₂+M phase (dividing phase) during compensatory renal hypertrophy in neonatal rat kidney cells using flow cytometry. The proportions of dividing cells in unilateral nephrectomized rats at 12, 48 and 72 hours postoperatively are increased, and only at 12 hours such increase was statistically significant ($p < 0.05$). Control, kidney cells of control group; UNX, kidney cells of unilateral nephrectomized rats.

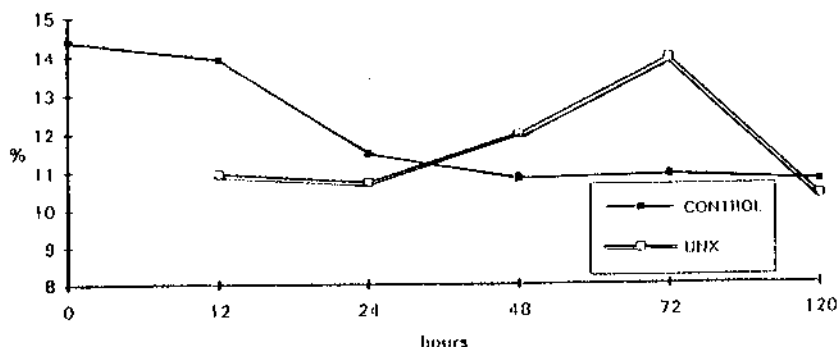
S + G₂ + M Phase

Fig. 2. Changes of DNA pattern in the S+M+G₂ phase (synthetic and dividing phase) during compensatory renal hypertrophy in neonatal rat kidney cells using flow cytometry. The proportions of synthetic and dividing cells in unilateral nephrectomized rats at 48 and 72 hours postoperatively are increased, however not statistically significant. Control, kidney cells of control group; UNX, kidney cells of unilateral nephrectomized rats.

Table 2. Activity of nitric oxide synthase

Hours	% Conversion (NOS)* /mg protein					
	0	12	24	48	72	120
Control	38.96	56.29	43.56	56.14	52.32	54.40
UNX**		66.68	58.32	56.33	53.70	58.20

% conversion (NOS)*: conversion of ¹⁴C-L-arginine to ¹⁴C-L-citrulline
 UNX**: unilateral nephrectomy.

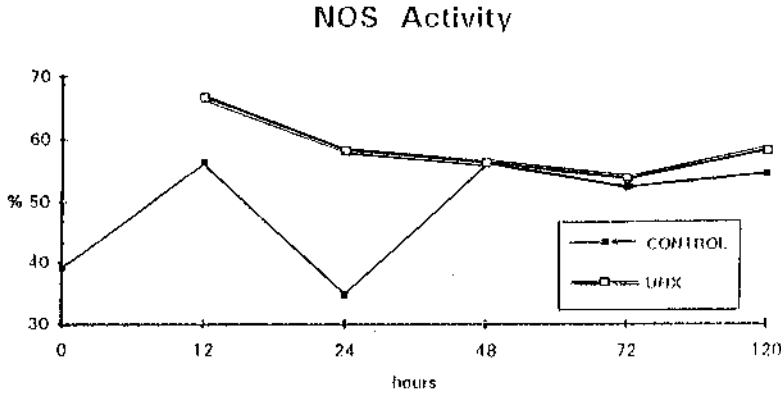


Fig. 3. Changes of nitric oxide synthase(NOS) activity during compensatory renal hypertrophy in neonatal rat kidney cells, expressed in conversion rate of ¹⁴C-L-arginine to ¹⁴C-L-citrulline. NOS activity in cells of unilateral nephrectomized rats is increased at 12 and 24 hours postoperatively, however not statistically significant. Control, kidney cells of control group; UNX, kidney cells of unilateral nephrectomized rats.

군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이가 있었으며 (p<0.05), 다른 관찰 시간에서는 유의한 차이가 없었다(Fig. 1). S+G₂+M기는 비복제기로 시간별 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 2). 각 시기별로 살펴보면 48 시간과 72 시간에 DNA 합성 및 복제가 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 1,2).

2. NOS activity

신장세포의 NOS의 활성을 알아보았다. NOS 활성은 전환된 ¹⁴C-L-citrulline의 radioactivity를 반응액에 첨가한 ¹⁴C-L-arginine의 total radioactivity로 나눈 % conversion으로 표시하였다 (Table 2). 실험군에서 12 시간과 24 시간에 NOS 활성도가 대조군에 비하여 높았고 48시간 이후에는 대조군과 실험군과의 차이는 관찰되지 않았다. 각 시간별 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

고 찰

보상성신비대는 신장 손상으로 소실된 신장 실질의 기능을 보상해 주는 생리학적 과정이며, 성장기 초기의 일정기간이 지난 후에는 주로 세포비대에 의해서 이루어진다. 그러나 다른 조직과 마찬가지로 정상적으로 부하되는 대사량보다 많은 일을 하였을 때 개개의 세포로 이루어진 조직은 과부하에 의한 피로현상(overuse fatigue)으로 인하여 결국 비가역적인 기능 저하 현상으로 이르게 된다. 신장에서 이 과정의 마지막 단계가 신사구체경화이며 생리학적 기능적 여분(functional reserve)이 없을 경우 임상적으로는 신부전으로 나타나게 된다. 신장에서는 대부분의 경우에서 신기능의 여분이 충분하여 손상 직후에 임상적인 증상이 나타나는 경우는 적으며 손상 후 상당시간이 경과된 후에야 신부전의 진단을 받는 경우가 대부분이다. 그러나 이때는 이미 비가역적인 조직학적 변화가 신장 조직에 관찰되며, 염분 및 단백질의 제한 등 보존적 치료를

하더라도 고혈압, 요독증, 빈혈 등의 증상이 나타나는 말기 신부전증에 이르게 되므로 투석이나 신이식등의 치료를 통해서만 생명을 유지시킬 수 있게 된다. 따라서 보상성신비대의 기전을 규명하고 가역적인 부분을 찾아서 신부전에 이르기 전에 손상 기전의 고리를 끊을 수 있으면 신장 질환 치료의 새로운 방향이 제시될 수 있을 것이다.

보상성신비대 후의 신사구체의 조직학적 변화는 주로 간질 세포등의 비대로 나타나지만 일부 세포에서는 세포 수의 증가, 즉 세포증식이 유발되기도 하며, 특히 미성숙 동물에서 세포 수의 증가가 명확하게 나타난다³. 또한 흰쥐에서 보상성신비대가 신사구체경화를 유발시키는 원인이라는 여러가지 실험적 근거가 있어서^{7,8}, 흰쥐는 추후에 신사구체경화로 진행되는 초기 보상성신비대를 알아보는 적합한 실험적 모델로 사용될 수 있다. 따라서 본 연구에서는 성장이 완료된 개체에서는 관찰하기 어려운 세포증식을 세포비대 현상과 같이 관찰하기 위해서 신생기 흰쥐를 사용하였다. 보상성신비대가 손상 120 시간에서 1주 이내에 완료 되므로¹⁷ 본 연구에서는 대상 기간을 120시간까지로 설정하였다.

Flow cytometry는 주로 악성 종양의 분화도를 측정하는 방법으로서 예후 예측 인자를 구하는데 사용되고 있다¹⁸. 본 연구에서는 이 방법을 악성 종양세포의 aneuploidy의 검색이 아닌 정상 세포 주기를 알아보는데 적용하였다. 이 방법은 비교적 간편하고 그 해석이 histogram으로 이루어지기 때문에 현재까지의 연구 방법인 형태학적인 방법, polyamine 대사 측정¹⁹, tritiated thymidine labelling 방법 등 보다 정확하고 객관적이다. 정상 조직내에서는 비교적 일정한 양의 합성기 및 복제기 세포가 존재하고 만일 세포분열이 활발하면 합성기 및 복제기에 있는 세포의 수가 늘어나는 점을 이용하여 일측 신장 절제로 신손상을 유발하여 세포분열 양상을 관찰하였다. 세포증식은 신손상 50시간 이내와¹⁹, 40시간에서 48시간 그리고 60에서 120시간의 2회에⁹ 나타난다고 알려져 왔는데 본 연구에서도 48시간에서 72시간에 그 증식 양상이 나타났다 (Fig. 1,2). 최근 보고에서 또 한차례의 증식시기가 손상 4시간부터 나타난다고 하였는데²⁰ 본 연구에서는 신손상 12시간에서는 그러한 증식양상을 관찰할 수 없었다. 세포 주기는 합성기를 거쳐 복제기로 진행

되므로 각 DNA peak 시기는 시간적 지연(lag)을 나타내야 한다. 성장된 쥐를 대상으로 한 실험에서 그 지연기간은 약 100시간 정도이고¹³, 신사구체만 분리하여 관찰한 실험에서는 12시간에서 24시간으로 알려져 있다²⁰. 그러나 본 연구에서는 동일한 양상의 peak 출현시간의 지연을 관찰할 수 없었는데 이는 아마도 신생기 흰쥐에서 지연시간이 매우 짧거나 혹은 성숙한 쥐보다 길어서 본 연구 시간 주기에 측정 되지 않았으리라고 추정된다. 신생 흰쥐의 신장 조직이 작은 관계로 사구체를 포함한 신피질과 신수질을 나누지 못했기 때문에 각부위의 peak시기가 총체적으로 반영되어 나타났을 가능성도 배제할 수 없다.

NO는 1980년 endothelium-derived relaxing factor (EDRF)로 Furchgott 및 Zawadzki²¹에 의해 처음 알려진 물질로 평활근 세포의 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)를 증가시켜 혈관을 확장시킨다. 신장에서 NO는 자체 생성되어 신사구체 및 신수질의 혈류를 조절한다^{22,23}. 또한 NO 유리가 요량, 혈류량 등에서 의해서 조절되며, 따라서 신장내 혈관의 조절에 관여함을 시사한다. 신장에서의 NO생성과 NOS활성은 신사구체 및 신장 피질 특히 macula densa에서 특히 강하게 나타난다²⁴. NO는 생물학적 반감기가 불과 수 초에 불과한 불안정한 기체이므로 L-arginine으로부터 L-citrulline과 NO를 생성하는데 관여하는 효소인 NOS의 활성을 계량하여 간접적으로 그 생성도를 알아볼 수 있다^{12,25}. 본 연구에서 보상성신비대 과정중 신장 조직의 NOS 활성이 증가되는 경향을 보인 것은 보상성신비대에 신장 혈류량과 신사구체 여과율이 증가한다는 사실과 신사구체 유입 혈관이 확장되는 것을 고려하면 이들의 일련 과정과 NO의 불특정적인 혈관 확장효과와 다시 한번 일치한다. 더우기 본 연구에서는 그 효과의 시기가 손상 직후 약 12시간에서 24시간이내인 것으로 나타났는데 이는 DNA 증가동의 세포분열이 일어나기 이전이며 따라서 NO가 신기능손상의 전달 물질일 가능성을 더욱 강하게 시사하고 있다.

일측 신절제술을 가한 흰쥐에서 절제술시에 혈청을 채취하여 정상 흰쥐에 주입했을때 신세뇨관의 대사량이 증가한다고 알려져 있다²⁶. 이 기전의 인자로 갑상선호르몬²⁷, renotropin²⁸, growth hormone²⁹ 등이 지목되고 있다. 이러한 인자들이 궁극적으로 세포내위나 세포내부의 단계

에서는 NO를 매개체로 할 수도 있으며, 따라서 이들 인자와 정확한 인자의 규명과 NO의 신조직 내에서 형태와 기능적인 localization 연구가 필요하다.

NO생성 기전의 대사성 억제제인 N^o-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)를 사용하여 보상성신비대가 억제될 수 있다고 가정해 볼 수 있다. 그러나 NO가 광범위한 전신 반응을 매개하고 다양한 신체 대사를 조절하기 때문에 NO 억제제의 사용은 보상성신비대만을 선택적으로 억제할 수 없으리라고 생각되어서 본 연구에서는 보류하였으나 추가되어야 할 것이다. 본 연구에서 통계적인 의의가 적었던 이유로는 모집단의 크기가 적었기 때문일 수도 있지만, 전체적인 경향성을 대변하는 데는 큰 지장을 초래하지는 않는 것으로 생각된다. 추후에 많은 수 및 다른 종류의 동물을 대상으로 하여 형태학적인 변화를 동시에 관찰하여야 하며 세포비대나 세포증식의 위치가 사구체, 피질, 수질인지 구분되어 확인되어야 한다고 생각된다.

결 론

본 연구에서는 신생기 흰쥐에서 일측 신적출 후 나타나는 대측 신장의 세포증식과 세포비대를 알아보기 위해 시행한 NOS 활성 및 유세포분석 결과로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유세포분석에서 복제기의 증가를 수반하는 합성기의 증가는 세포증식의 증거이므로 신생기 보상성신비대는 세포증식이 관여한다.
2. 세포증식은 일측 신장적출 후 48 - 72시간에서 나타난다.
3. G₂+M기는 복제기로 손상 12시간후에서 대조군과 실험군간의 통계적으로 유의한 차이가 있었다.
4. NO는 초기(손상 2일이내) 신생기 보상성신비대의 중요한 인자이다.
5. 주로 세포비대가 나타나고 NOS가 유의하게 증가하는 성년기의 보상성신비대와 비교하여 볼 때 NO는 신기능 항진으로 인한 세포비대와 관련이 있다.

이상의 결과로 신생기 신손상 후 일어나는 보상성신비대 과정은 세포비대 및 세포증식이 모두 관여한다. NO는 초기 보상성신비대 과정의 매개 인자로 추정되며, 이 기전을 규명하기 위한

계속적인 연구가 진행되어 신장 세포비대 과정을 억제할 수 있다면 보상성신비대로 인한 신부전등의 예방을 도모할 수 있는 한 방법이 될 수 있다고 생각된다.

REFERENCES

1. Bricker NS. On the meaning of the intact nephron hypothesis. *Am J Med* 1991; 46: 1-11.
2. Hayslett JP. Functional adaptation to reduction in renal mass. *Physiol Rev* 1979; 59: 137-64.
3. Wesson LG. Compensatory growth and other growth responses of the kidney. *Nephron* 1989; 51: 149-84.
4. Argiles A, Mourad G, Basset N, Axelrud-Cavadore C, Haiech J, Mion C, et al. Acute adaptive changes to unilateral nephrectomy in humans. *Kidney Int* 1987; 32: 714-20.
5. Patt LM, Houck JC. Role of polypeptide growth factors in normal and abnormal growth. *Kidney Int* 1983; 23: 603-10.
6. Cotran RS. Glomerulosclerosis in reflux nephropathy. *Kidney Int* 1982; 21: 528-34.
7. Yoshida Y, Fogo A, Ichikawa I. Glomerular hemodynamic change vs. hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1989; 35: 654-60.
8. Fogo A, Yoshida Y, Grick AD, Homma T, Ichikawa I. Serial micropuncture analysis in two rat models of glomerular sclerosis. *J Clin Invest* 1988; 82: 322-30.
9. Skraastad O. Compensatory cell proliferation in the kidney after unilateral nephrectomy in mice. *Virchows Arch* 1987; 53: 97-9.
10. Threlfall G, Taylor DM, Buck AT. Studies of the changes in growth and DNA synthesis in the rat kidney during experimentally induced renal hypertrophy. *Am J Pathol* 1967; 50: 1-12.
11. White RW, Deitch AD. The role of flow cytometry in urologic disease. *Semin Urol* 1985; 3: 132-45.
12. Forstermann U, Pollock JS, Nakane M. Nitric oxide synthases in the cardiovascular system. *Trends Cardiovasc Med* 1993; 3: 104-10.
13. Ring KS, Benson MC, Bandyk MG, Sawczuk

- IS. Detection of cellular proliferation during compensatory renal growth using flow cytometry. *Nephron* 1992; 61: 200-3.
14. Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney: Synthesis, localization, and function. *Am J Kidney Dis* 1994; 24: 112-29.
 15. 한상원. 신사구체경화 방지를 위한 인삼 사포닌의 NO유리에 관한 연구. 과학기술처 강장 보혈제 개발 보고서, 1994; 61-101.
 16. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
 17. Anderson RG, Bueschen AJ, Loyd LK, Duvosky EV, Burns JR. Short-term and long-term changes in renal function after donor nephrectomy. *J Urol* 1991; 145: 11-3.
 18. Ring KS, Karp BS, Benson MC. Enhanced detection of bladder cancer using the epithelial surface marker. *J Occ Med* 1990; 32: 904-5.
 19. Austen HA, Goldin H, Gaydos D, Preuss HG. Polyamine metabolism in compensatory renal growth. *Kidney Int* 1983; 23: 581-7.
 20. Ikeda M, Suzuki M, Miyazaki K, Takeuchi Y. Glomerular growth in the remnant kidney after a contralateral nephrectomy. *Nephron* 1993; 65: 95-9.
 21. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
 22. Brezis M, Heyman SN, Dinour D, Epstein FH, Rosen S. Role of nitric oxide in renal medullary oxygenation: Studies in isolated and intact rat kidneys. *J Clin Invest* 1991; 88: 390-5.
 23. Zatz R, de Nucci G. Effects of acute nitric oxide inhibition on glomerular microcirculation. *Am J Physiol* 1991; 261: 360-3.
 24. Mundel P, Bachmann S, Bader M. Expression of nitric oxide synthase in kidney macula densa cells. *Kidney Int* 1992; 42: 1017-9.
 25. Iyengar R, Stuehr DJ, Marletta MA. Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: Precursors and role of the respiratory burst. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 6369-73.
 26. Lowenstein LM, Stern A. Serum factor in renal compensatory hyperplasia. *Science* 1963; 142: 1479-80.
 27. Brady SE, Coelho JB, Sealey JE, Edwards KDG, Stephan F. Changes in glomerular filtration rate and the renin angiotensin system in hypothyroid rats. *Life Sci* 1982; 30: 623-31.
 28. Nomura K, Puett D, Nicholson WE. Partial purification and characterization of a renotropic fraction from bovine pituitaries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 6675-9.
 29. Haramati A, Mulroney SE, Lumpkin MD. Early increase in pulsatile growth hormone release following unilateral nephrectomy. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 456-9.