J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
28(3), 663~669(1999)

식이 Vitamin E가 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 신장조직에서의 병리조직학적 변화에 미치는 영향

곽오계 · 임정교* · 이순재**†

대구과학대학 간호과
*대구미래대학 국제호텔쿠킹과
**대구효성가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of Vitamin E on the Microstructural Changes of Renal Tissue in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Oh-Gye Kwag, Jung-Gyo Im* and Soon-Jae Rhee†**

Dept. of Nursing Science, Taegu Science College, Taegu 702-722, Korea
**Dept. of International Hotel Cuisine, Taegu Future College, Taegu 712-250, Korea*
***Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea*

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of vitamin E on the histochemical change of kidney tissue in diabetic rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100±10g were randomly assigned to one normal and three STZ-induced diabetic groups, which were subdivided into vitamin E free diet(DM-0E group), 40mg vitamin E per kg diet(DM-40E group) and 400mg vitamin E per kg diet(DM-400E group). Vitamin E level of normal group was 40mg per kg diet. Diabetes was experimentally induced by intravenous injection of 55mg/kg of body weight of streptozotocin(STZ) in citrate buffer(pH 4.3) after 4 weeks feeding of experimental diets. Animals were sacrificed at the 6th day of diabetic states. The contents of thiobarbituric acid(TBARS) in kidney were increased 119%, 84% and 33% in DM-0E, DM-40E and DM-400E groups, respectively, compared to normal group. That of DM-400E group was decreased 39% compared to DM-0E group. Content of β_2-microglobulin in urine in DM-0E, DM-40E, and DM-400E groups were increased by 248%, 181%, and 164%, respectively, compared to normal group. The diabetic groups showed the regressive lesion such as renal tubule, intumescence of epithelial cell, vacuolization. The results of the observation through electronic microscope showed the mitochondria shape of proximal tubule epithelial cell, irregular array, increase of ribosome, and irregular arrangement of small villosity, etc. These types of changes appeared severer in DM-0E group than in DM-400E group. These results indicate that the TBARS productions on kdney in STZ-induced diabetic rats were increased, consequently those leaded to damage of renal tubule and minuteness structure. But a large quantity vitimin E supplementation was suppressed in TBARS production and improved in peroxidative damage of renal tissue so that relieved degenerative changes of renal tubule epithelial cell.

Key words: vitamin E, diabetic rat kidney, microstructural change

서 론

최근 급속한 경제성장과 더불어 식생활의 서구화 및 생활양식의 변화에 따라 당뇨병의 유병율과 그로 인한 사망율이 점차 증가하는 경향을 보이고 있으므로 앞으로 21세기에는 국가적으로 심각한 건강장애 질환이 될 것으로 예상되고 있다(1). 이들의 사망요인은 대부분 당뇨병성 만성 합병증에 의하며 그 대부분은 혈관경화 등의 혈관합병증으로 큰 혈관에서는 고혈압, 심근경색, 협심증 및 동맥경화성 혈관장애 뿐만 아니라 모세혈관

†To whom all correspondence should be addressed

에까지 병변을 일으킨다. 모세혈관의 경화는 어디나 다 일어날 수 있는데, 흔히 혈관의 밀도가 가장 높은 눈의 망막, 신장 그리고 신경을 잘 침범하고, 뇌에도 잘 생겨 문제를 확대시킨다. 그중에서도 특히 신장질환의 유발율이 높아서 당뇨 환자의 약 40~50%가 신부전으로 사망하고 있다고 국내에서 보고되고 있다(2). 당뇨병성 신증은 감염, 신동맥의 경화, 사구체의 손상 등 3가지 변화이며 임상적인 증상으로는 노폐물의 배설기능 저하, 단백뇨 및 부종이 생기며 혈압이 오르고 더 진행되면 신장 기능은 아주 악화되어 요독증에 이르게 되어 마침내 사망에 이르게 된다(3).

당뇨병성 신병증의 발생 및 진행에는 유전성, 혈액역동학적 이상, 대사이상 등과 같은 인자들이 관여하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 당뇨병의 초기에는 신장에서의 여과작용이 증가하며 신기능장애가 있는 말기 신부전일때는 사구체 여과율이 낮아진다. 초기 당뇨병성 신증에서 사구체 여과율의 증가는 신혈류량의 증가, 사구체 혈압의 증가 및 여과 면적의 증가에 기인하는 바 이때 사구체는 비대해지며 신장의 크기는 증가한다(4,5). 그러나 하루 알부민 배설율이 100~300mg 이상일 때 사구체 여과율은 비가역적으로 감소하기 시작하며, 이것은 사구체 간질(mesangium)의 확장에 의한 여과 면적의 감소에 기인한다(5,6). 그것은 몇 년에 걸친 만성적인 고혈당의 결과로 신장 사구체의 기저막이 두꺼워지고 또한 여러 당단백질의 분포에 이상이 생겨 기저막의 분자구조까지 변화가 온다. 기저막은 두꺼워질 뿐 아니라 그 투과성도 증가하여 소변으로 혈중 단백질이 손실된다. 당뇨병이 발생된 직후 특히 혈당이 상승되었을 때 신장의 여과기전은 압박받는다. 당뇨병성 신병증은 당뇨병 환자에 가장 중요한 만성적인 합병증으로 단백뇨의 발생에 이어 신부전으로 진행하고, 고혈압, 당뇨병성 망막병증, 혈관합병증 및 요로계 질환 등이 동반되는 임상적 증후군이 나타난다(7).

이러한 구조적, 기능적 손상에 대한 연구로서 Steffes 등(6) 및 Klahr 등(8) 의 신부전증과 신동맥의 경화에 대한 병리조직학적 연구에서 사구체 기저막 비후나 사구체 간질(mesangium) 확장 등의 병리조직학적 변화가 나타나고 또 사구체나 세뇨관 손상으로 인한 생리기능 저하가 뒤따른다고 하였다. 그 결과로 신장의 혈관에 미치는 압력이 증가하고 이 증가된 압력이 신장손상을 일으키는 자극이 되는 것으로 생각된다(9).

이와같이 신부전을 일으킬 수 있는 신미세혈관 병리기전에 대한 연구는 중요하나 이러한 질환의 심각성에 비해 이에 대한 병리기전과 관련된 영양학적 측면에서의 연구는 미흡한 상태이다.

그러므로 본 연구에서는 항산화적 생리기능이 뛰어나고 또 일부 그 효과가 입증된 비타민 E의 공급으로 당뇨 합병증의 예방 및 치료를 위해 흰쥐를 대상으로 비타민 E 수준을 달리한 식이로 일정기간 사육한 후 당뇨를 유발시켜 신장조직의 병리조직학적 변화에 미치는 비타민 E의 영향을 규명하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육

실험동물은 체중 100g 내외의 Sprague-Dawley종 숫컷을 대전화학연구소에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료로 일주일간 예비사육한 후, 난괴법(randomized complete block design)에 의해 Table 1과 같이 정상군과 실험군을 나눈 후, 실험군을 식이내 비타민 E의 급여 수준에 따라 비타민 E를 급여하지 않은 군(DM-0E), 비타민 E를 40 mg/kg diet(DM-40E) 공급한 군, 비타민 E를 다량 급여한 군 즉, 400mg/kg diet(DM-400E) 등 각 10마리씩 4군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 실험 식이조성은 Table 2와 같다. 사육실의 온도는 22±10°C였고, 습도는 50±10%였다. 본 실험은 STZ 투여 후 6일만에 사육을 종료하였다.

당뇨 유발

실험동물은 일주일의 예비사육과 식이내 비타민 E의 농도에 따른 식이를 4주간 공급한 후 실험동물에 streptozotocin(STZ), 55mg/kg B.W.을 신선한 0.1M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통

Table 1. Classification of experimental groups

Groups[1)]	Vitamin E[2)] (mg/kg diet)	Streptozotocin[3)] (55mg/kg B.W.)
Nomal	40	−
DM-0E	0	+
DM-40E	40	+
DM-400E	400	+

[1)]Normal group: No streptozotocin treatment after vitamin E 40mg/kg normal diet
DM-0E group: Streptozotocin injection after vitamin E free diet
DM-40E group: Streptozotocin injection after vitamin E 40mg/kg diet supplementation
DM-400E group: Streptozotocin injection after vitamin E 400mg/kg diet supplementation

[2)]Vitamin E: dl-α-tocopheryl acetate
[3)]Intravenous injection of streptozotocin(55mg/kg B.W.) in citrate buffer(pH 4.3) via tail vein.

Table 2. Composition of experimental diets

Ingredients	Amount(g/kg diet)
Corn starch[1]	668
Casein[2]	180
DL-methionine[3]	2
Corn oil[4]	50
AIN-76 Salt mixture[5]	40
AIN-76 Vitamin mixture[6]	10
Cellulose[7]	50
kcal/kg	3850

[1]Corn Starch, Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea
[2]Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Willington, N. Z.
[3]Sigma Chem. Co.
[4]Corn Oil, Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
[5]Salt mixture, AIN-76(g/kg): calcium phosphate($CaHPO_4$) 500, NaCl 74, potassium citrate 220, potosium sulfate (K_2SO_4) 52, magnesium oxide(MgO) 24, manganous carbonate 3.5, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate(KIO_3) 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose 118.03
[6]Vitamin E mixture(V-E free): contained thiamin · HCl, 0.6g; riboflavin, 0.6g; pyridoxin HCl, 0.7g; nicotinic acid, 3.0g; Ca-pantothenate, 1.6g; folic acid, 0.2g; biotin, 0.02g ; vitamin B_{12}, 0.001g; retinyl acetate, 4.0×10^5units; ergocalciferol, 1.6×10^5 units; menadione, 0.075g; glucose, 992.5g
[7]Sigma Chem. Co.
CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

하여 주사하여 당뇨를 유발시켰으며 STZ 주사 후 6일째에 혈당농도가 300mg/dl 이상인 동물만 희생하여 본 실험에 사용하였다.

뇨 및 장기채취

뇨 채취는 희생전 6일간 매일 24시간 동안 수집하여 냉동고(-20°C)에 보관하여 분석에 사용하였다. 신장은 적출하여 생리 식염수로 씻어내고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다.

신장조직중의 과산화지질(TBARS) 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 물질(TBARS)을 측정하는 Satoh법(10)을 이용하였다. 신장조직의 마쇄액을 8,000×g에서 처리하여 얻은 상층액 0.5ml에 10% TCA용액 2.5ml를 가하여 잘 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 1,500×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 버리고 침전물을 0.05 M 황산으로 1회 세척한 후 그 침전물에 0.05 M 황산 2.5 ml와 0.6% TBA 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후, 95°C의 항온 수조에서 30분간 가열한 다음 즉시 냉각시켰다. 여기에 n-butanol : pyridine 혼합액(15 : 1, v/v) 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후 1,500×g에서 10분간 원심분리하여 그 상층액을 취해 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로는 1,1,3,3,-tetramethoxy-propane을 사용하였다.

뇨중 β_2-microglobulin 측정

STZ 유발 당뇨쥐에서 희생전 6일간 매일 24시간 동안의 뇨를 수집하여 DSL-6200 RIA kit(USA)를 뇨중 β_2-microglobulin을 측정하였다.

병리조직학적 검사

광학현미경적 관찰을 위해 실험동물의 우측 신장을 적출하여 10% neutrol formalin으로 고정하고 탈수하여 paraffin으로 포매한 후 5~10μm 두께로 절단하여 Hematoxylin-Eosin으로 염색하여 400배율로 광학현미경으로 관찰하였다.

전자현미경적 관찰을 위해 Luft(11)와 Reynold(12)의 방법에 의해 신장조직을 절취한 즉시 $1mm^3$크기로 자르고 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 2시간 전고정하였다. 1% OsO_4용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간 후 고정한 후 알콜로 탈수하여 epon혼합물로 포매하였다. 포매된 조직은 1μm로 박절하여 toluidine blue로 염색 후 광학현미경으로 관찰하여 부위를 결정한 다음 Porter-Blum MT-2B Ultramicrotome을 사용하여 두께 40~60nm로 초박절하였다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 Hitachi H-7000 전자현미경으로 관찰하였다.

통계처리

모든 실험 결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 식이군간의 유의도는 Tukey's-HSD test(13)에 의해 분석하였다. 각 지표간의 상관관계는 SPSS package program을 이용하여 correlation coefficient를 구하여 분석하였다.

결과 및 고찰

신장의 무게

비타민 E 수준을 달리한 식이로 사육한 당뇨쥐의 신장의 무게는 Table 3와 같이 정상군에 비해 당뇨군에서 증가되었으며 당뇨군간에는 식이 비타민 E 수준 차이에 의한 변화는 없었다.

Table 3. Effects of vitamin E supplement on changes in kidney weights of STZ-induced diabetic rats

Groups	Kidney	
	(g)	(g/100g B.W.)
Normal	2.255±0.067[1)a2)]	0.702±0.025[a]
DM-0E	2.736±0.083[b]	1.036±0.037[b]
DM-40E	2.767±0.101[b]	1.039±0.038[b]
DM-400E	2.604±0.089[b]	0.951±0.035[b]

[1)]All values are mean±SE(n=10).
[2)]Values within a column with different superscripts are significantly different at P<0.05 by Tukey's-HSD test.

신장조직의 구조적 및 기능적 손상

신장조직중의 과산화지질(TBARS)

조직의 산화적 손상의 지표로 삼고 있는 지질과산화물(TBARS)의 함량을 측정한 결과는 Fig. 1와 같다. 식이내 비타민 E를 첨가하지않은 DM-0E군은 정상군의 119%, DM-40E군은 84% 증가하였다. 비타민 E 공급수준이 높은 DM-400E군은 정상군보다 33% 높았지만 DM-0E군에 비해 39% 감소하였다.

뇨중 β_2-microglobulin

신세뇨관 유래단백인 β_2-microglobulin은 사구체 기저막을 용이하게 통과하여 세뇨관에서 거의 재흡수된다. 그러므로 β_2-microglobulin은 신세뇨관 손상을 초기에 알 수 있는 지표가 된다.

본 연구에서 당뇨유발 6일째 24시간 뇨중 β_2-microglobulin를 관찰한 결과 Fig. 2과 같이 정상군에 비해 당뇨군 모두에서 유의적인 증가가 있었고, DM-0E군, DM-40E군 및 DM-400군에서 정상군에 비해 각각 248%, 181% 및 164%씩 증가되었다.

병리조직학적 소견(LM, EM)

신장조직의 병리조직학적 검색을 위해 광학현미경

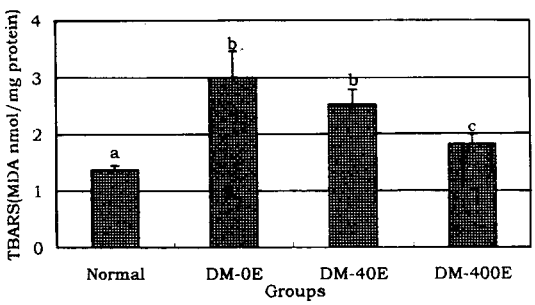

Fig. 1. Effects of vitamin E supplementation on kidney TBARS contents in STZ-induced diabetic rats.
Mean±SE. Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test.

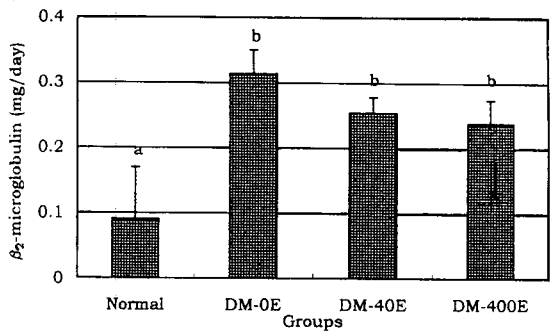

Fig. 2. Effects of vitamin E supplementation on β_2-microglobulin levels of urine in STZ-induced diabetic rats.
Mean±SE. Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test.

으로 관찰하였던 바, 대조군에 있어서는 신사구체에 경한 충혈이 관찰되었으나 근위세뇨관 상피세포에는 특기할 만한 병적 변화는 없었다. 한편 실험군 중 DM-0E군에서는 근위뇨세관 상피세포 내에 작은 공포화와 종창이 있었는데 그 정도는 중등도였다. DM-40E군에서도 근위세뇨관 상피세포의 공포화와 종창이 있었는데 이것 역시 중등도였다. DM-400E군에서도 역시 근위뇨세관 상피세포의 공포화와 종창이 있었는데 그 정도는 DM-0E군이나 DM-40E군보다는 그 정도가 경한 편이었다. 그리고 신사구체에 있어서는 충혈 현상이 각 군에서 경하게 관찰되었을 뿐 그 밖에 특기할 만한 변화는 없었다.

이상에서 본 광학현미경 소견을 종합하여 보면 그 공통적인 소견은 신세뇨관 상피세포의 종창과 공포화였는데 그 정도는 DM-400E군이 가장 경하였고, DM-40군과 DM-0E군은 중등도였고(Fig. 3) 사구체에는 경한 충혈현상 외에는 역시 특기할만한 변화가 없었다는 것이다. 이들 변화 중 신뇨세관 상피세포의 공포화와 종창은 세포가 상해를 받았을 때에 나타나는 초기적인 변화로서 그 원인이 제거되면 서서히 정상으로 회복될 수 있는 변화 즉 가역성 세포성 변화(reversible cellular change)이고 각 군의 사구체에서 관찰된 충혈현상은 비특이적 일반적 병적현상(nonspecific general pathological phenomenon)으로서 큰 의미를 부여할 수 없다.

전자현미경적 관찰에서는 대조군에서는 근위세뇨관 상피세포에서 경한 라이소솜의 수적인 증가가 있었다. 이것은 이 세포가 탐식작용이 다소 왕성하였다고 보여지는 소견이다. 그리고 실험군 중 DM-0E군에서는 신세뇨관 상피세포의 세포질에 공포가 다수 관찰되었는데 이는 세포가 경한 상해를 받았다는 것을 나타내는 것이다. DM-40E군에서도 역시 신세뇨관 상피세포의

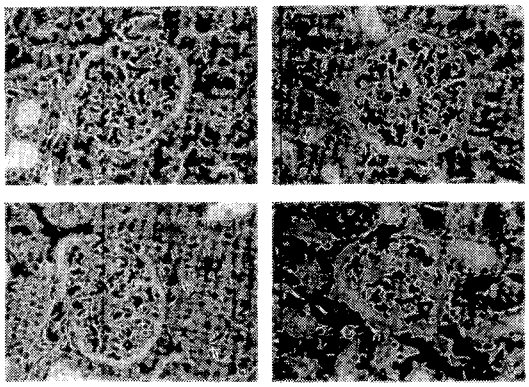

Fig. 3. Light microphotographs of renal tissue in STZ-induced diabetic rats.
A: Normal rat. The glomerulus and surrounding tubular cells shows no remarkable changes except mild congestion(▶) of glomerulus. H-E stain, ×400. B: DM-0E rat, the proximal tubular cells are markedly swollen(→). The glomerulus is markedly congested. ×400. C: DM-40E rat, The proximal tubular cells are markedly swollen and pyknotic nuclei(→) are observed. The glomerulus is mildly congested. ×400. D: DM-400E rat, the proximal tubular cells are mildly swollen and pyknotic nuclei are observed. The glomerulus is also mildly congested. ×400.

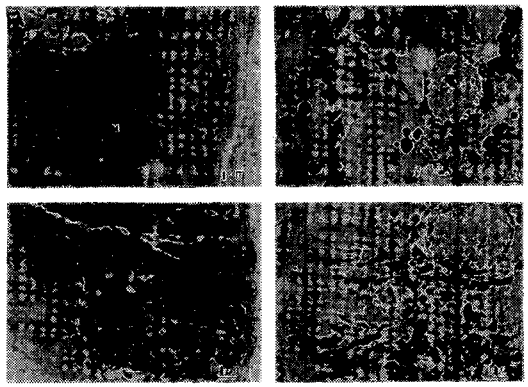

Fig. 4. Electron microphotographs of renal tissue in STZ-induced diabetic rats.
A: Normal rat. The proximal tubular cells shows no remarkable changes except increased number of lysosomes(Ly). M: mitochondria, N: nucleus. B: DM-0E group with no vitamin E supplement, proximal tubular epithelial cells are swollen(*) and vacuolated (arrows). C: DM-40E group with vitamin E supplement(40mg/kg diet). There are many lysosomes(Ly) in proximal tubular epithelium. D: DM-400E group with vitamin E supplement(400mg/kg diet). proximal tubular epithelium shows no remarkable changes. The basement membranes(←) are seen. N: nucleus, M: mitochondria.

세포질에 작은 공포들이 있고 라이소솜의 증가가 좀더 현저하였다. 이것은 세포가 경한 상해를 받았으며 또한 세포의 탐식작용이 대조군에 비해 좀더 왕성하다는 것을 의미한다. DM-400E군에서는 신세뇨관 상피세포에 특기할 만한 변화가 보이지 않았다(Fig. 4).

이상에서 관찰한 광학 및 전자현미경적 소견은 이미 언급한 바와 같이 모두 세포가 경한 상해를 받았을 때 볼 수 있는 가역성 세포성 변화이며 이와 같은 변화는 DM-0E군이나 DM-40E군 보다 DM-400E군에서 경하게 나타나는 것으로 보아 비타민 E가 STZ투여로 인한 신세뇨관 상피세포의 가역성 세포성 변화를 경감시킨다고 보여진다.

상관관계

당뇨유발 흰쥐의 신장 microsome에서의 지질과산화가(TBARS)와 urine β_2-microglobulin($r=0.3675$, $p<0.05$)과는 정의 상관관계를 보였으며 생리적 항산화 물질인 비타민 E의 함량과 TBARS($r=0.4932$, $p<0.05$)와는 부의 상관관계를 나타내었다(Fig. 5).

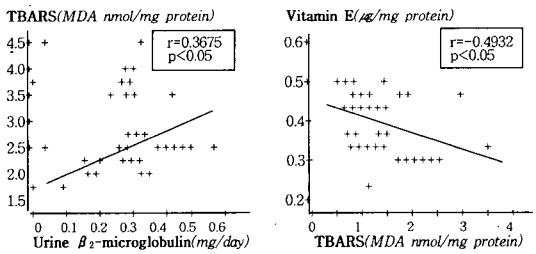

Fig. 5. Correlation coefficients between TBARS and urine β_2-microglobulin and vitamin E level.

본 연구는 당뇨쥐 신장조직에서의 TBARS와 β-globulin측정과 병리조직학적 변화에 미치는 비타민 E의 영향을 관찰하므로서 구조적 손상에 미치는 영향을 규명하는데 목적이 있다.

조직의 과산화적 손상의 지표로 알려져 있는 지질과산화가를 신장조직에서 측정한 결과 식이내 비타민 E를 첨가하지 않은 DM-0E군은 정상군에 비해 119%, DM-40E군은 84% 높았으나 DM-400E군에서는 대조군보다 33% 높고 DM-0E군에 비해서는 39% 수준으로 감소하였다. 이러한 결과들은 Yaqoob 등(14)이 당뇨환자들에서 자유 라디칼 활성도의 변화가 당뇨병 신병증 발생에 상관관계가 있고 또한 혈장 지질과산화물이 증가되었다는 보고와도 일치한다. 이와같이 당뇨 유발군에 지질과산화가가 현저하게 증가되는 것은 생체막 지질에서 phospholipase A_2, mixed function oxidase계 등의 유리기 생성계가 증가되고 항산화계가 약화되는데 기인한 것으로 본다(15,16).

세뇨관 단백인 β_2-microglobulin은 당뇨병성 신병증의 초기에 사구체 병변 뿐만 아니라 세뇨관 이상도 발생

한다고 보고되어 당뇨병성 신병증의 조기진단에 이용되고 있다(17). 특히 사구체를 통과하여 99.9%가 근위세뇨관 세포에 의해 재흡수되므로 뇨중 농도 측정이 근위세뇨관 질환의 진단에 매우 민감한 것으로 증명되어 당뇨병성 신병증의 조기에 발생하는 근위세뇨관 단백뇨의 조기진단에 이용되고 있다(18). Chang 등(19)의 연구에서는 인슐린 비의존형 환자를 대상으로 한 β_2-microglobulin검사에서 당뇨병성 신병증을 조기진단하는데 의의가 없는 것으로 나타났다. Deckert 등(20)에 의하면 당뇨병에서 미세알부민뇨의 존재는 그 병태 생리학적 기전에 대해선 정확하게 규명되어 있지 못한 상태이며 미세알부민뇨가 신사구체를 포함한 전체 혈관의 과투과성과 같은 기능장애를 반영한다는 주장이다. 또한 단백뇨는 혈관손상이 증가되는 지표로 여겨지는데(21) 이는 환자가 신장의 혈관질환으로 진전하는 경향에 기초를 둔다(22). 그러나 이들 지표는 인슐린 의존형 당뇨쥐들이 정상쥐에 비해 유의적으로 증가되었고 특히 DM-0E군은 348%나 증가되었으며 DM-40E군은 181%, DM-400E군은 164%씩 각각 증가하였다. 따라서 이들 지표는 비타민 E 공급 수준 증가에 의해 유의적으로 감소하였다. Meyers 등(23)과 Stephens 등(24)의 보고에서 당뇨쥐에 비타민 E가 풍부한 식이를 16주 이상 공급하여 사육하였을 때 비정상적인 혈압상승, 체중감소, 식이섭취 또는 사망율 증가가 관찰되지 않았다고 보고하였고, Daisuke 등(25)은 9~10 IU/day의 비타민 E에 1.3 IU/day 더 첨가한 식이를 급여할 경우 당뇨쥐에서 생존율 뿐만 아니라 신사구체의 병리학적인 변화를 막을 수 있다고 보고함으로서 비타민 E의 신기능 개선작용이 규명되었다.

이와같이 본 연구결과 당뇨쥐 신장조직에서는 지질과산화물 생성이 증가되고 뇨중 β_2-microglobulin 배설량이 증가되었으며 병리조직학적 검사에서 신장조직의 구조적 손상이 현저하게 관찰되었다. 그러나 비타민 E의 공급으로 조직의 과산화물값이 감소되고 뇨중의 β_2-microglobulin값이 감소되었으며 신세뇨관을 비롯한 조직의 손상이 완화됨이 관찰되었다.

신장의 구조적 손상을 관찰하기 위해 병리조직학적 검색을 한 결과 광학 및 전자현미경에서 모두 세포가 경한 상해를 받았을 때 볼 수 있는 수포화, 공포화 등의 퇴행성 병변이 나타났고 이와같은 변화는 DM-400E 군에서 경하고 DM-0E군에서 보다 현저한 것으로 보아 비타민 E가 당뇨로 인한 신세뇨관 상피세포의 퇴행성 변화를 경감시킨다고 보여진다. 이러한 조직학적 소견은 조직중의 지질과산화물의 축적 상태와 비슷한 양상을 보임으로서 당뇨병에서의 신장조직의 산화적 손상을 알 수 있고 또한 이러한 결과는 당뇨쥐에서의 생화학적 결과가 비타민 E의 산화적 손상에 대한 억제기전을 뒷받침해 준다고 볼 수 있다.

이러한 결과는 Rhee(26)의 당뇨쥐 간조직에서 이미 그 효과가 일부 입증된 바 있듯이 신장조직에서도 항산화계의 강화로 비타민 E가 생체막에 다량 존재하는 다불포화지방산에 대해 chain-breaking antioxidant로서 작용하여 superoxide anions의 제거한다. 따라서 비타민 E의 공급으로 소기관들을 과산화로부터 보호함으로서 항산화계 효소 활성화를 위한 최적구조를 유지시켜주어 신장조직의 산화적 스트레스를 감소시켜 구조적, 기능적 손상을 완화시켜주는 것이 입증되었다.

따라서 비타민 E는 당뇨 합병증으로 인한 신기능 장애 예방효과가 있는 것으로 평가되므로 앞으로 더 구체적인 연구가 필요하겠다.

요 약

본 연구는 당뇨쥐 신장의 병리조직학적 변화에 미치는 비타민 E의 영향의 규명하기 위해 수행되었다. 실험동물은 100±10g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷을 정상군과 당뇨군으로 나눈 후 당뇨군은 다시 식이내 비타민 E의 함량에 따라 0mg vitamin E/kg diet(DM-0E군), 40mg vitamin E/kg diet(DM-40E군), 400mg vitamin E/kg diet(DM-400E군)으로 달리하여 4주간 사육한 후 streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유발한 후 6일째에 희생시켰다. 신장의 무게는 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가되었고 당뇨군간에 유의적 차이는 없었다. 신장조직의 과산화지질 함량은 정상군에 비해 DM-0E군, DM-40E군 및 DM-400E군에서 119%, 84% 및 33%씩 각각 증가되었다. 또 DM-400E군은 DM-0E군에 비해 39% 감소되었다. 신세뇨관 손상지표인 β_2-microglobulin 측정 결과는 정상군에 비해 DM-0E군, DM-40E군 및 DM-400E군에서 248%, 181% 및 164%씩 각각 증가되었다. 신장조직를 광학현미경으로 관찰한 결과 정상군에 비해 모든 당뇨 실험군에서 신세뇨관 상피세포의 종창과 공포화 등의 퇴행성 병변을 보였다. 전자현미경 관찰로는 근위세뇨관 상피세포의 미토콘드리아 모양 및 배열불규칙과 종창, 라이소좀의 증가 그리고 미융모의 배열의 불규칙 등이 발견되었다. 이러한 변화의 정도는 DM-400E군에서는 DM-0E군에 비해 DM-400E군에서 약하였다. 이상과 같이 STZ 유발 당뇨쥐 신장조직은 당뇨 유발로 인하여 조직의 지질과산화물의 생성 증가와 신세뇨관를 비롯한 미세구조의 손상을 일으켰다. 그러나 식이내 비타민 E의 다량 투여

는 지질과산화물의 생성을 억제시키고 신장조직의 산화적 손상을 완화시켰으며 신세뇨관 상피세포의 퇴행성 변화를 경감시켰다.

감사의 글

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 연구비(1997-002-D00327)의 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Lee, T. H. : Diagnosis and classification of diabetes. 44th *Korean Society of Food Science and Nutrition*, p.13(1998)
2. Choi, Y. K. and Lee, T. H. : *Diabetes and hyperlipidemia. Medcal Press Co.*, pp.111-113(1995)
3. Pedro, C., Francis, D., Jose, G. and Nathan, W. L. : Relationship between renal function and metabolic alterations in early streptozotocin-induced diabetic in rats. *Diabetes*, **76**, 80-86(1987)
4. Vibert, G. C. and Wiseman, M. J. : The kidney in diabetes: significance of the early abnormalities. *Clin. Endocrinal Metab.*, **15**, 753-760(1986)
5. Ellis, E. N., Steffes, M. W., Goetz, F. C., Sutherland, D. E. R. and Mauer, S. M. : Glomerular filtration surface in type I diabetes mellitus. *Kidney Int.*, **29**, 889-896 (1986)
6. Steffes, M. W., Osterby, R., Chavers, B. and Mayer, S. M. : Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes*, **38**, 1077-1084(1989)
7. Kim, O. J., Min, H. K., Chio, Y. K., Lee, T. H., Hea, K. B. and Shin, S. H. : *Diabetes melitus*. Korean Diabetes Association Press Co., p.531(1998)
8. Klahr, S., Schreiner, G. and Ichikawa, I. : The progression of renal disease. *N. Engl. J. Med.*, **318**, 1657-1664 (1988)
9. Junod, A., Lambert, A.E., Stauffacher, W. and Renols, A. E. : Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, **48**, 2129-1235(1969)
10. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new color metric method. *Clinica. Chemica. Acta.*, **90**, 37-34(1978)
11. Luft, J. H. : Improvement in epoxy resin embedding method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409-418(1961)
12. Reynold, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208-218(1963)
13. Chai, S. E. and Kim, B. R. : *Statistic analysis used SPSS/PC.* Bummun Co. p.688(1988)
14. Yaqoob, M., Partrick, A. W., Stevenson, A., Mason, H., White, M. C. and Bell, G. M. : Relationship between markers of endothelial dysfunction, oxidant injury and tubular damage in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin. Sci.*, **85**, 557-564(1993)
15. Yang, J. A., Kim, S. O., Choi, J. H., Rhee, S. J. and Chang, H. W. : Activites of phospholipase A_2, cylooxygenase and thromboxane, and syntheses pyrostacyclin in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 175-181(1998)
16. Rhee, S. J., Shin, J. Y. and Cha, B. K. : Effect of green tea catechin on the microsomal mixed function oxidase system of kideny and brain in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 319-326(1998)
17. Bernard, A. M., Moreau, D. and Lauways, R. : Comparison of retinol-binding protein and β_2-microglobulin determination in urine for the early detection of tubular proteinuria. *Clin. Chim. Acta*, **126**, 1-9(1982)
18. Schardijn, G. H. C. : β_2-Microglobulin, its significance in the evaluation of renal function. *Kidney Int.*, **32**, 632-641(1987)
19. Chang, H. J., Chio, J. S., Jeong, D. J., Park, S. S., Chung, M. Y. and Rhee, T. H. : Comparism of clinical laboratory tests for early detection of diabetic nephropathy. *Korean J. Intern. Med.*, **43**, 7-14(1992)
20. Deckert, T., Feldt-Rasmussen, B., Borch-Johnsen, K., Jensen, T. and Koford, E. A. : Albuminuria reflects widespread vascular damage: the steno hypothesis. *Diabetologia*, **32**, 219-227(1989)
21. Jensen, T. : Albuminuria: a marker of renal and generalized vascular disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *Dan. Med. Bull.*, **38**, 134-142(1991)
22. Peter, R., Kasper, R., Peter, J. and Hans, H. P. : Unchanged incidence of diabetic nephropathy in IDDM patients. *Diabetes*, **44**, 739-746(1995)
23. Meyers, D. G., Maloley, P. A. and Weeks, D. : Safety of antioxidant vitamins. *Arch. Intern. Med.*, **156**, 925-935(1996)
24. Stephens, N. G., Parsons, A., Schofield, P. M., Kelly, F., Cheeseman, K. and Mitchinson, M. J. : Randomised trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study(CHAOS). *Lancet*, **347**, 781-790(1996)
25. Daisuke, Y., Inkyu, L., Hidehiro, I., Hideo, K. and George, L. K. : Prevention of glomerular dysfunction in diabetic rats by treatment with d-α-tocopherol. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **8**, 426-435(1997)
26. Rhee, S. J., Choe, W. K. and Ha, T. Y. : The effects of vitamin E on the antioxidative defense mechanism in strepozotocin-induced diabetic rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **48**, 451-460(1995)

(1999년 3월 17일 접수)