한국전자현미경학회지 제 29 권 제 3호 1999
Korean J. Electron Microscopy 29(3), 331~341(1999)

혈뇨의 감별진단을 위한 이형적혈구의 형태학적 연구

윤철종[1,*], 박정오, 문희주, 윤기은
[1]서울대학교병원 소아병리과, 서울보건대학 임상병리과

A Study on the Morphology of Dysmorphic Erythrocytes for the Differential Diagnosis in Hematuria

Chul-Jong Yoon[1,*], Chung-Oh Park, Hi-Joo Moon and Ki-Eun Yoon
[1]Division of Pathology, Seoul National University Children's Hospital
Department of Medical Technology, Seoul Health College
(Received June 1, 1999)

ABSTRACT

Examination of the morphology of red blood cells in the urine has been shown to be a promising adjunct in determining whether hematuria represents glomerular or nonglomerular bleeding. This is due to distortion of RBCs as they pass across the basement membrane of the glomerular capillaries. It is concluded that is method can greatly help the clinician in distinguishing between glomerular and nonglomerular bleeding in patients with hematuria and channeling such patients toward the most appropriate investigations. We have experimented dysmorphic red blood cells that 5 patients of the hematuria are distorted with irregular outlines and often have small blebs extruding from the red cell membrane. Tried urinary sediments were seen with phase contrast microscope and confirmed scanning electron microscope. There are seen acanthocytes, anulocytes, ghost cells and sphero-echinocytes in dysmorphic erythrocytes. Clinical diagnosis was referred from the result of the biopsy-proven. Scanning electron microscopic findings of the hematuria are good diagnostic tool that disclose in distorted red blood cells from patients with glomerular disorders.

Key words : Hematuria, Glomerular disease, Electron microscopy, Dysmorphic erythrocytes

서 론

혈뇨는 주로 신 사구체 및 비뇨기계의 이상이 있을 때 발생하는 것으로 신 사구체질환, 결석, 종양, 바이러스 등의 감염(Temonen et al., 1996; Mueller, 1995; Akutsu et al., 1990)으로 혈뇨가 발생할 수 있다. 혈뇨는 육안적으로 관찰할 수 있는 것과 현미경으로 적혈구를 관찰함으로 알 수 있는 미량의 혈뇨가 있으나 이들의 경우 양과 관계없이 임상적 의미를 두고 여러가지 질환과의 상관관계를 통하여 발생원인을 알아보는 일이 중요하다. 특히 이들 질환 중에 사구

이 논문은 1998~1999년도 서울보건대학 연구비 지원에 의해 수행되었음.
* Correspondence should be addressed to Chul-Jong Yoon, Electron Microscope Lab., Division of Pathology, Seoul National University Children's Hospital, 28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea. Ph: (02) 760-3545, FAX: (02) 745-7966, E-mail: cjyoon17@unitel.co.kr
Copyright © 1999 Korean Society of Electron Microscopy

체성 질환과 비 사구체성 질환를 감별하는 것은 요중의 적혈구를 현미경으로 형태학적 이상유무를 관찰하여 이들 질환을 간접적으로 알 수 있는 장점이 있다(Schramek et al., 1989).

Birch & Fairley (1979)가 사구체성 질환으로 인한 혈뇨에서 적혈구의 형태가 여러가지로 변화된 이형적혈구의 출현을 관찰하였으나 방광암 환자 및 신결석환자의 혈뇨에서는 비교적 정상 적혈구와 형질막이 손상되어 헤모글로빈이 유출된 유령세포(ghost cells)들을 발견하고 그 이형적혈구의 출현이 사구체성 질환과 상관관계가 있음을 처음으로 보고하였다. 그 후에도 사구체성 질환을 나타내는 이형적혈구에 대한 연구가 많았으나 연구자마다 이형적혈구의 출현에 대한 비율이 다르고 기준에 대한 차이가 있어 혈뇨중 10%~80% 정도 범위의 이상적혈구가 관찰됨을 보고하였다(Docci et al., 1988). 현미경으로 관찰할 때 적혈구 표면에 수포가 있거나 막이 돌출된 이형적혈구가 사구체성 혈뇨와 상관관계가 높고 기타 신장을 위시한 비뇨기계의 질환과 비교할 때 출현하는 이형적혈구를 감별하기 위한 현미경적 경검이 비교적 간편한 방법이라고 생각한다. 그러나 일반 광학현미경으로 염색을 하지 않고 직접 요침사를 관찰하는 것은 이형적혈구의 감별이 쉽지 않아 사구체성과 비사구체성 혈뇨를 확인하는데 있어 위상차 혹은 간섭필터등이 장착된 현미경으로 관찰하는 것이 이형적혈구를 감별하는데 있어서 2배 이상의 갯수차이를 보이므로 위상차현미경으로 관찰하는 것을 권하고 있다(Birch & Fairley, 1979; Raman et al., 1986). 본 연구자들은 소아과 환자중에서 육안적 혈뇨를 동반한 5명의 신증후군 환자의 요를 위상차현미경과 주사형 전자현미경으로 검사하였으며 이어서 생검된 조직은 투과형 전자현미경으로 사구체(Jones, 1977) 및 세뇨관에서 관찰되는 적혈구를 관찰하고 신생검을 통한 병리학적 진단과 함께 이형적혈구를 형태학적으로 감별하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

잠혈반응에 양성을 나타내는 혈뇨와 사구체의 질환이 의심되는 신증후군으로 내원한 소아과 환자 5명의 요를 아침에 일어나 2번째 소변의 중간뇨를 받아 검사에 사용하였으며 조직생검은 방사선과의 초음파실에서 도움을 받아 신장의 피질부위를 침생검하여 검사재료로 사용하였다.

2. 방 법

1) 위상차현미경표본

혈뇨를 원침관에 분주하고 그 현탁액의 일부를 파스퇴르 피펫을 이용해 kova slide에 옮겨 1분간 안정시킨 후 위상차현미경에서 관찰하였다.

2) 주사형 전자현미경표본

① 피검자의 신선한 중간 혈뇨를 채취한 후 10 ml를 2000 rpm에서 10분간 원심침전하여 얻은 침전물과 ② 약 10 ml의 혈뇨를 원심침전하지 않고 30분간 방치하여 침전된 혈뇨를 0.1 M 인산완충용액으로 세정하고 2.5% 글루타르알데하이드용액에 4°C 냉장고에서 2시간 1차 고정 후 0.1 M 인산완충액으로 2번 수세하고 1% osmium tetroxide에서 1시간동안 후고정을 냉장고안에서 시행하였다. 탈수는 에탄올의 저농도에서 고농도 순으로 5분 간격으로 시행하였고 이소아밀 아세테이트(isoamyl acetate)로 치환한 후 액체 이산화탄소를 이용한 임계점 건조기(Hitachi, HCP-2)로 탈수를 완성하였다. 표본은 2차전자의 발생의 증대와 방전효과를 극소화 하기 위한 금-백금 합금 피막을 이용한 이온산란피막기(ion sputtering coater, Eiko IB-3)로 피막을 한 후 주사형 전자현미경(Hitachi, S-520)으로 관찰하였다.

3) 투과형 전자현미경표본

신생검 표본을 생검 후 신속하게 1 mm^3으로 잘라서 0.1 M 인산완충용액에 만들어진 2.5% 글루타르알데하이드에 담아 냉장고에서 고정 후 일반 전자현미경적 과정과 동일한 방법으로 1% osmium tetroxide에 1시간동안 후고정과 저농도에서 고농도 순으로 에탄올을 이용한 탈수를 거쳐 propylene oxide로 치환한 후 에폭시수지(Polybed 812, Polyscience Inc.)에 침투과정을 거쳐 캡슐에 포매한 후 60°C 중합기에서 14시간 중합반응을 시행하였다. 블록은 초박절편기(Sorvall MT6000, Dupont)로 1~2 μm 두께의 절편을

만들어 유리 슬라이드에 열 고정으로 부착시킨 후 톨루이딘 블루로 염색하였다. 원위세뇨관에서 발견되는 적혈구를 광학현미경상에서 사진촬영하고 비교적 크고 경화가 되지 않은 사구체와 그 주위에 세뇨관에서 적혈구가 관찰되는 부위를 포함하여 다이아몬드 칼(Microstar Co., U.S.A.)을 사용하여 60~80 nm 두께로 초박절편을 만든 후 150 mesh의 구리 그릿드에 부착하였다. 염색은 2% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 건조 후 투과형 전자현미경(Hitachi, H-600)으로 50 kV 가속전압에서 관찰하였다.

결 과

1. 위상차현미경적 결과

적혈구의 표면에 돌기를 갖는 것과 가운데가 심하게 오목하여 투명하게 관찰되는 반지모양 적혈구(anulocytes)와 헤모글로빈이 밖으로 유출되어 막만 존재하는 유령세포들이 관찰되었다. 이들 중에 세포질이 돌출된 모양의 유극적혈구(acanthocytes)와 한쪽만 오목한 주발모양의 적혈구(bowel-shaped RBCs or helmetocytes), 그리고 세포막 표면이 수포같은 돌기를 갖는 것으로 마치 출아 중인 효모같은 적혈구가 관찰되었다(Fig. 1).

2. 광학현미경적 결과

톨루이딘 블루염색에서 신장피질부위에 1~6개의 사구체와 근위세뇨관과 원위세뇨관이 관찰되었으며 그 외의 모세혈관 등이 관찰되었다. 주로 적혈구가 관찰되는 부위는 내부 공간이 비교적 큰 원위세뇨관이었으며 여기서 관찰되는 많은 적혈구는 이형성 적혈구로서 사구체의 기저막을 통과한 것으로 요공간으로 배출되는 과정중에 관찰되었다. 사구체 질환으로 인한 혈뇨의 색을 결정하는데 있어서 세뇨관내의 적혈구의 숫자와 관계가 있는 것으로 혈뇨의 색이 어두운 붉은 색을 나타내는 환자에서 많은 수의 적혈구가 관찰되었다. 5명중에서 콜라색 혈뇨를 보이는 환자의 원뇨곡세뇨관에서 많은 양의 적혈구가 배출되는 것이 관찰되었다(Fig. 2).

3. 주사형 전자현미경적 결과

원심침전하지 않은 혈뇨에서 대다수의 적혈구들은 본래의 모습과는 다른 이형적혈구를 보이고 있으며 그 모양도 다양하게 관찰되었으며 이 방법은 표본대(alumium stub)위에 비교적 고르게 분포하고 있어 각각의 적혈구를 관찰하기에 용이하였다. 이들은 반지모양(Fig. 3a)과 수포가 만들어진 반지모양의 적혈구(Fig. 3b), 유극형 적혈구(Fig. 3c) 그리고 세포내의 헤모글로빈이 유출된 무정형의 유령세포(Fig. 3d)들이 관찰되었다. 저배율에서 다양한 형태의 이형적혈구들이 관찰되었는데 이들은 한 부위에서도 단독적으로 변형된 것과 여러가지 복합적인 변형을 동시에 나타내는 것을 관찰할 수 있었다(Figs. 4a, b). 그러나 원심침전한 표본에서는 많은 적혈구 및 기타 침전물들을 관찰할 수 있었으나 대부분이 함께 엉겨붙어 관찰이 부분적으로 어려웠으며 콜라색 혈뇨환자인 16세의 남아에서는 정자와 혈액의 섬유소가 보이며 구상형의 극상적혈구와 부푼 구상적혈구들이 다수 존재하였으며 그 형태를 알 수 없는 분절된 혈액세포들이 관찰되었다(Figs. 5a, b).

4. 투과형 전자현미경적 결과

생검조직의 사구체에서 발견되는 적혈구는 모세혈관 밖의 보우만 낭 공간에서 적혈구 등이 관찰되었으며(Figs. 6a, b) 또한, 호중구와 대식세포도 관찰되었다. 원위세뇨관에서 정도에 차이는 있지만 적혈구가 관찰되었다(Figs. 7a, b). 그들 중에는 백혈구들도 있었고(Fig. 7a) 용혈되어 형질막만 존재하는 다수의 유령세포들도 관찰되었다(Fig. 7b). 소아 5명의 병리진단(Table 1)은 Ig A nephropathy, grade III 환자가 2명이고 막증식성 사구체신염 1명, 상피세포성 질환자가

Table 1. Pathological diagnosis (biopsy-proven) in 5 patients with hematuria

No.	Age/sex	Diagnosis
1	8/M	Ig A nephropathy, grade III
2	5/M	Membranoproliferation GN
3	6/F	Epithelial cell disease
4	13/M	Ig A nephropathy, grade III
5	16/M*	Epithelial cell disease

* : coke-colored hematuria

2명이었으나 이들 질환에 대한 이형적혈구의 형태에 따른 상관관계는 없었다. 단지, 콜라색 혈뇨의 환자에서는 구상적혈구가 많이 관찰된 것으로 보아 용혈로 인한 유령세포들과 원위곡세뇨관내의 요공간이 전자밀도가 높게 나타났다.

고 찰

혈뇨란 요중 적혈구가 현미경 검사상 5개(5/HPF) 이상 또는 12시간 요(addis count)로 50만 이상인 경우를 말한다. 일반 성인의 약 4%에서 혈뇨를 보이는데 정상인 요에도 소량의 적혈구가 지속적으로 배출되지만 그 기전은 아직 확실하지 않다. 이는 어떤 형태의 적혈구가 요중에 출현하느냐에 따라서 그 임상적 의의는 다를 수 있다. Birch & Fairley (1979)가 처음으로 혈뇨를 현미경으로 관찰하여 형태학적 이형적혈구가 사구체성 질환과 관련있다고 발표한 후 이 분야에서 많은 연구가 이루어져 왔다. 혈뇨는 임상적으로 의미있는 증후군으로 사구체 질환, 감염 등의 신장질환, 요로결석, 종양 등의 하부 요로질환 또는 혈액학적 질환, 전신적 질환에서 나타날 수 있으므로 유의성 있게 관찰하여야 한다(Yang et al., 1996). 일반적으로 혈뇨가 발견되면 그 원인을 알기 위하여 여러 가지 검사들을 시행하게 되는데 현미경으로 이형적혈구의 검사를 비교적 간편하게 할 수 있으므로 그 결과 사구체성 신질환과 비 사구체성 신질환을 감별하기 위한 유용한 검사로 알려져 있다. Köhler et al. (1991)의 연구에 의하면 요에서 5% 이상의 유극적혈구가 보이면 사구체성 출혈의 좋은 예측지표가 될 수 있다고 하였으며 이를 기준으로 할 때 사구체 신염에 대한 특이도는 98%, 예민도는 52%이었다. 그러나 혈뇨에서 유극적혈구가 관찰되지 않을 경우에도 사구체성 질환의 가능성을 완전히 배제할 수는 없으며 단백뇨나 적혈구, 원주 등을 참고하여 특이도와 예민도를 높일 수 있다고 하였다(Pollock et al., 1989). 또한, 사구체성 질환을 시사하는 이형적혈구의 비율에 있어서 단순히 이형적혈구가 존재하는 것이 사구체성 질환을 의미하지는 않는다. 일정비율 이상이 되어야 사구체성 질환의 진단에 있어서 중요한 의미가 있는데, 이형적혈구의 정의가 연구자들마다 달라서 감별기준이 다양하다(Yang et al., 1996). 이형적혈구의 비율의 범위는 10~80% 이상까지 차이가 있는데 낮은 비율은 연구자가 '이형'의 기준을 더 엄격히 규정하고 있으며 적혈구의 표면에 수포가 있거나 막이 파괴된 적혈구만을 이형적혈구로 분류하고 있다. 이들의 비율은 사구체 기저막의 손상 정도와 관계가 있는 것으로 생각이 되는데 이형적혈구의 많은 출현은 심한 사구체의 병변이 있을 것으로 추측된다. 기타 모양의 것들은 요의 pH 등에 의해 변형된 것이거나 광학현미경을 위한 표본을 제작할 때 cover slip을 덮는 것만으로도 생성될 수 있다고 하였다. 이형적혈구는 병변이 있는 사구체 기저막의 미세한 틈(gap)으로 적혈구가 통과하는 과정에서 만들어지는 것으로 Jai-Trung et al. (1983)은 사구체 기저막에 0.25 μm 이상의 틈이 있을 때 약 45 mmHg의 압력을 받아 형성된다고 보고하였으며 Kubota et al. (1988)은 3~5 μm 크기의 인위적으로 구멍을 만든 막을 사구체신염 환자의 정맥에서 혈액을 채취하여 생리식염수에서 50 mmHg 압력으로 적혈구를 통과시켜 환자의 혈뇨에서와 같은 이형적혈구를 만들어 보고함으로 사구체 기저막의 손상된 틈으로 적혈구가 나올 때 변형되는 것을 입증하였다. 그리고 pH와 삼투압이 같고 미세한 사구체 기저막 틈을 통과하지 않은 요에서는 이형적혈구가 생성되지 않으며 비정상적인 요의 환경에서는 적혈구가 이형적혈구로 형태학적인 변화가 진행되므로 만일 pH와 삼투압을 같게 하고 요 대신에 인산완충생리식염수(phosphate-buffered saline)를 사용하였을 때에는 이형적혈구의 생성이 감소되었음을 보고하였다(Briner & Reinhart, 1990). 즉, 부적절한 pH와 삼투압에서는 이형적혈구가 형성되는데(Crandall, 1978), pH가 낮으면 주로 구순적혈구 (stomatocyte)가 많이 생기고 pH가 높으면 주로 극상적혈구(echinocyte)가 형성되며(Reinhart & Chien, 1986) 또한 주위의 삼투압이 높으면 극상적혈구가 잘 형성되는 경향이 있다. 만일 삼투압이 증가하고 pH는 낮아진다면 용혈현상은 감소하게 되는 등 이형적혈구의 생성에 영향을 주는 손상 기전은 여러가지 변수가 있을 수 있으나 적혈구가 작은 틈의 사구체 기저막을 통과하는 동안에 물리적 손상 및 원위세뇨관부위를 통과하는 동안에 pH와 삼투압에 의한 형태의

변형이 주 원인으로 생각할 수 있다(Jamison, 1968; Reinhart & Chien, 1985). Bessis (1972)는 환자의 혈뇨에서 적혈구의 형태별 분류를 하였는데 원반모양적혈구(discocyte), 극상적혈구, 환상적혈구(anulocyte), 유령세포, 분절적혈구(schizocyte), 구순적혈구, 종형적혈구(codocyte), 3면오목적혈구(knizocyte), 유극적혈구 등으로 분류하였으며 저자들은 이 밖에도 다양한 복합적 구조의 이형적혈구들을 관찰하였다.

포유류의 적혈구는 일반 세포와는 다른 세포골격 구조인 미세소관이나 중간 미세사(intermediate filaments), 미세사(microfilaments) 등이 없고 형질막이 액체상태로 유동하는 이중 지질막으로 구성되어 그 형태를 유지하는 것으로 막에 세포골격으로 작용하는 단백질이 gel 상태로 이루어져 있으며 미오신과 같은 기능의 heterodimer와 spectrin 성분이 존재한다. 그리고 spectrin의 그물구조와 이중 지질막에 ankyrin 단백질이 서로 연결되어 적혈구의 모양을 형성하는 것이 그 특징이다(Elgsaeter et al., 1986). 일시적인 적혈구의 변형은 주위의 환경이나 자체의 대사와 노화 정도에도 연관성이 있다. 알칼리성 환경이나 "cover slip 효과" 또는 ATP 결핍에 의해 이중 지질막의 외측 소엽영역의 증가가 일어나므로 가역적인 극상적혈구가 형성되기도 한다(Redman et al., 1989). 반면에 낮은 pH나 양이온성 세정제에서는 내측소엽의 영역이 증가되어 구순적혈구가 만들어지며 극상적혈구와 구상적혈구등의 변형은 가역적 변화이며 그 변형속도가 1/1,000초 정도로 빠르게 형태학적 변화가 일어난다. 따라서 이러한 이상적혈구는 일반적으로 본제작 과정에서도 발생할 때가 많다. 그러므로 사구체성 질환외에도 비 사구체성 질환에서도 이러한 세포들이 자주 관찰된다는 점 때문에 Köhler et al. (1991)은 관찰되는 이형적혈구의 대부분은 진단적 의미에 한계가 있다고 보고하면서 유극적혈구만이 사구체성 질환에서 유의하게 높게 나타난다고 주장하였다. Bonsib (1985)은 심한 혈뇨환자의 생검조직을 주사형 전자현미경으로 사구체 기저막을 관찰하여 적혈구가 유출되는 틈(gap)을 촬영하였다(Makino et al. (1988). 또한 Jai-Trung et al. (1983)은 투과형 전자현미경으로 적혈구가 유출되는 사구체 기저막의 틈을 관찰하였다(Mazzucco & Monga, 1985; Stapleton, 1987). 그러나 본 연구에서 사구체 기저막에서 틈을 관찰하지 못했으며 투과형 전자현미경으로 사구체의 기저막에서 틈을 관찰하는 것은 많은 초박절편을 만들어야 하고 찾는데 많은 시간이 소요되므로 바람직한 방법은 아님을 설명하였다(Stejskal et al., 1973).

이형적혈구를 관찰하는 방법은 여러 가지가 있을 수 있는데 일반적으로 혈뇨를 유리 슬라이드에 도말하여 Wright염색을 한 후 광학현미경으로 관찰할 수 있고 장기간 보존이 가능하나 도말과 건조, 염색 등의 시간이 소요되는 반면(Lee et al., 1988) 위상차현미경 검사는 요침사를 직접 습윤상태에서 관찰이 가능하여 시간은 절약되나 오랜시간 표본의 보존이 좋지 않다. 무엇보다도 극상적혈구와 유극적혈구의 감별에서는 주사형 전자현미경이 가장 좋으나 표본준비작업에서 세심하고 시간이 많이 소요되며 고비용으로 인한 문제가 있을 수 있다. 본 연구자들이 실시한 요침사의 위상차현미경과 주사형 전자현미경으로 관찰하고 조직생검을 통한 사구체의 미세구조를 투과형 전자현미경으로 관찰하여 만족할 만한 결과를 얻을 수 있었으며 검사자들에 대한 현미경적인 관찰과 해석에 유용한 자료를 제공할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Akutsu Y, Itami N, Tanaka M, Kusunoki Y, Tochimaru H, Takekoshi Y: Ig A nephritis in Behcet's disease : case report and review of the literature. Clin Nephrol 34 : 52-55, 1990.

Bessis M: Red cell shapes. An illustrated classification and its rationale. Nouvelle Révue Frasn aise Hématologie 12 : 721-746, 1972.

Birch DF, Fairley KF: Haematuria: Glomerular or non-glomerluar? Lancet 2 : 845-846, 1979.

Bonsib SM: Glomerular basement membrane discontinuities. Scanning electron microscopic study of acellular glomeruli. Am J Pathol 119 : 375-360, 1985.

Briner VA, Reinhart WH: In vitro production of glomerular red cells : Role of pH and osmolarity. Nephron 56 : 13-18, 1990.

Crandall ED, Critz AM, Osher AS, Keljo DJ, Forster RE: Influence of pH on elastic deformability of the human erythrocyte membrane. Am J Physiol 235 : C269-C278, 1978.

Docci D, Delvecchio C, Turci A, Turci F, Baldrati L, Martinelli A: Detection of glomerular bleeding by urinary-red-cell-size distribution. Nephron 50 : 380-382, 1988.

Elgsaeter A, Stokke BT, Mikkelsen A, Branton D: The molecular basis of erythrocyte shape. Science 234 : 1217-1223, 1986.

Fairley KF, Birch DF: Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. Kidney Int 21 : 105-108, 1982.

Jai-Trung L, Hiroyoshi W, Hiroshi M, Masuji H, Hisako T, Fumiko U, Akira S, Koji N, Kiyoyasu N: Mechanism of hematuria in glomerular disease. An electron microscopic study in a case of diffuse membranous glomerulonephritis. Nephron 35 : 68-72, 1983.

Jamison RL: Micropuncture study of segments of thin loop of Henle in the rat. Am J Physiol 215 : 236-242, 1968.

Jones DB: Correlative scanning and transmission electron microscopy of glomeruli. Lab Invest 37 : 569-578, 1977.

Köhler H, Wandel E, Brunck B: Acanthocyturia-A characteristic marker for glomerular bleeding. Kidney Int 40 : 115-120, 1991.

Lee HJ, Lee CY, Cheong HI, Choi Y, Ko KW, Park MH: Urinary red blood cell morphology in hematuria. J Korean Pediatr Soc 31 : 1460-1467, 1988. (Korean)

Kubota H, Yamabe H, Fukushi K, Ohsawa H, Chiba N, Seino S, Miyata M, Inuma H, Onodera K: Mechanism of urinary erythrocyte deformity in patients with glomerular disease. Nephron 48 : 338-339, 1988.

Makino H, Nishimura S, Takaoka M, Ota Z: Mechanism of hematuria. II. A scanning electron microscopic demonstration of the passage of blood cells through a glomerular capillary wall in rabbit masugi nephritis. Nephron 50 : 142-150, 1988.

Mazzucco G, Monga G: Monocyte escape through a glomerular capillary basement membrane gap. An ultrastructural observation in a case of acute glomerulonephritis. Nephron 39 : 272-274, 1985.

Mueller BU, MacKay K, Cheshire LB, Choyke PL, Kitchen B, Widemann B, Pizzo PA: Cytomegalovirus ureteritis as a cause of renal failure in a child infected with the human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 20 : 1040-1043, 1995.

Pollock C. Pei-Ling L, Györy AZ, Grigg R, Gallery EDM, Caterson R, Ibels L, Mahony J, Waugh D: Dysmorphism of urinary red blood cells-Value in diagnosis. Kidney Int 36 : 1045-1049, 1989.

Raman GV, Pead L, Lee HA, Maskel R: A blind controlled trial of phase-contrast microscopy by two observers for evaluating the sourse of haematuria. Nephron 44 : 304-308, 1986.

Redman CM, Huima T, Robbins E, Lee S, Marsh WL: Effect of phosphatidylserine on the shape of McLeod red cell acanthocytes. Blood 74 : 1826-1835, 1989.

Reinhart WH, Chien S: Roles of cell geometry and cellular viscosity in red cell passage through narrow pores. Am J Physiol 248 : C473-C479, 1985.

Reinhart WH, Chien S: Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation: roles of cell geometry and cell shape. Blood 67 : 1110-1118, 1986.

Schramek P, Moritsch A, Haschkowitz H, Binder BR, Maier M: In vitro generation of dysmorphic erythrocytes. Kidney Int 36 : 72-77, 1989.

Stapleton FB: Morphology of urinary red blood cells: A simple guide in localizing the site of hematuria. Pediatric Nephrology 34 : 561-569, 1987.

Stejskal J, Pirani CL, Okada M, Mandelanakis N, Pollak VE: Discontinuities (gaps) of the glomerular capillary wall and basement memberane in renal diseases. Lab Invest 28 : 149-169, 1973.

Temonen M, Mustonen J, Helin H, Pasternack A, Vaheri A, Holthöfer H: Cytokines, adhesion molecules, and cellular infiltration in nephopathia epidemica kidneys: an immunohistochemical study. Clin Immunol Immunopathol 78 : 47-55, 1996.

Yang HJ, Kim DH, Baik BY, La JK: Implication of dysmorphic RBCs in patient's urine. Korean J Clin Lab Scien 28 : 219-221, 1996. (Korean)

<국문초록>

전체 성인의 약 4%에서 정도 차이는 있지만 혈뇨가 있다고 볼 때 그 원인을 구명하는 일이 중요하다. 그 원인이 사구체성 신염인지 기타 그 외의 비 사구체성 원인에 따른 질환인지를 쉽게 감별하는 일이 중요하다. 본 연구자들은 혈뇨를 동반한 소아과 환자중에서 신 생검 조직검사까지 한 5명의 환자에서 혈뇨를 표본 제작하여 먼저 위상차현미경적 표본제작법을 통하여 적혈구를 감

별하였고 방법을 달리하여 주사형 전자현미경으로 요침사를 관찰하여 형태학적 고찰을 통하여 이형적혈구를 보다 명확한 3차원구조를 관찰할 수 있었다. 침생검을 통해 얻은 조직학적 소견으로는 사구체의 기저막을 통과한 혈구들의 요로를 통하여 배출과정을 광학현미경 및 투과형 전자현미경으로 확인할 수 있었다. 본 연구에서 육안적 혈뇨의 색은 유출되는 적혈구의 양과 상관관계가 있으며 용혈된 정도가 심한 경우에 콜라색 혈뇨가 있음을 알 수 있었다. 이들 결과에서 본 연구자들은 사구체성 질환을 동반한 유극적혈구 및 환형 적혈구 등과 같은 변형된 적혈구를 주사형 전자현미경으로 명확한 관찰을 함으로 사구체성 질환으로 인한 혈뇨의 감별에 주사형 전자현미경이 가장 유용한 검사 방법이라고 생각된다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Phase contrast micrograph showing dysmorphic RBCs that include spieuled (arrows) cells, the bowel-shaped (arrow head) and the bleb (white arrow) ×400

Fig. 2. Light micrograph showing histological examination of renal tissue has conformed the presence of glomerular disease and much RBCs within lumens of distal convoluted tubules. About 1 μm thick section was stained in toluidine blue. ×100

Fig. 3a. Scanning electron micrograph showing ring-formed anulocyte from the suspended in hematuria. Bar represents 2 μm.

Fig. 3b. Ring-shaped RBC has a small bleb extruding from the red cell membrane. Bar represents 1 μm.

Fig. 3c. A typical acanthocyte showing in hematuria of the glomerular disease. Bar represents 1 μm.

Fig. 3d. Ghost cells with an acanthocyte. Bar represents 1.5 μm.

Fig. 4a. Echinocytic acanthocytes (Ac) with blunt projections and ghost cells (G) are seen. Bar represents 3 μm.

Fig. 4b. Diversity of the diameter in the ring-formed anulocytes (An) and the ghost cells (G) are also seen. Bar represents 2 μm.

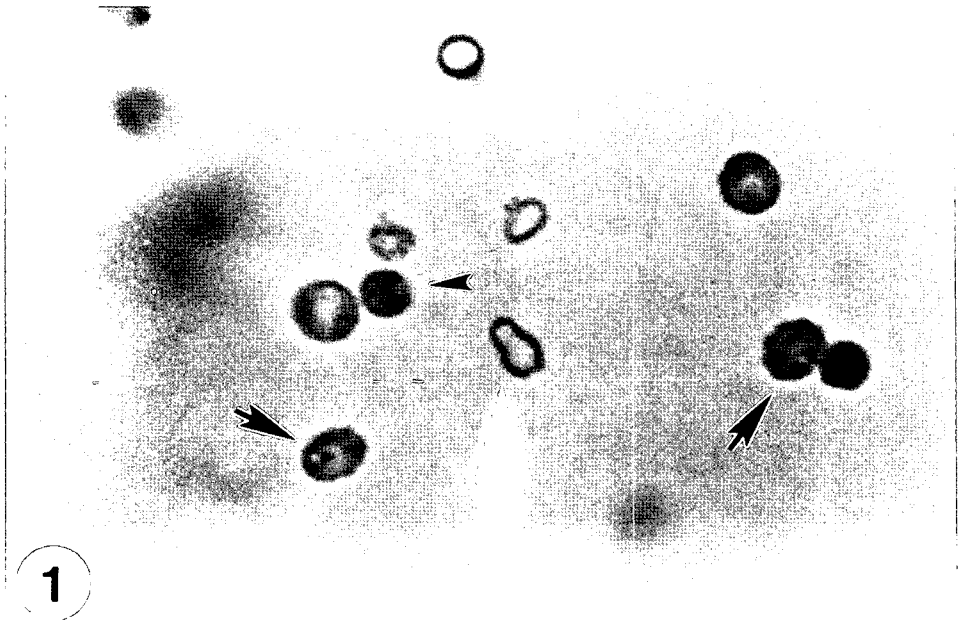
Fig. 5a. Spherocytes (R) and a sperm (Sp) reveal in the sediment of patient's hematuria. Fi; fibrin. Bar represents 3 μm.

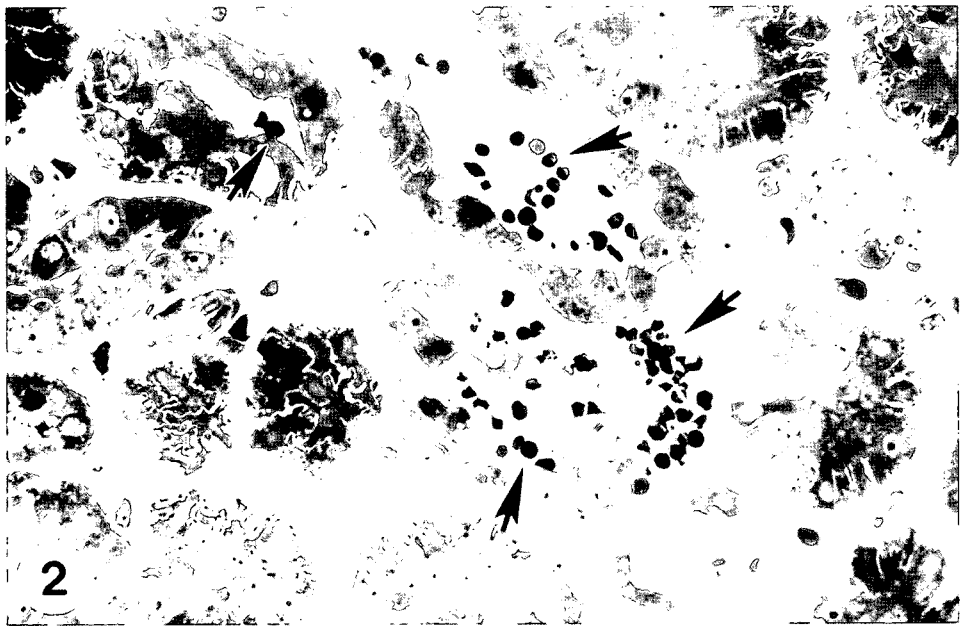
Fig. 5b. Spherocytic echinocytes (EC) with spiculate projections disclose in the sediment of coke-colored patient' hematuria. Fr; cell fragments. Bar represents 5 μm.

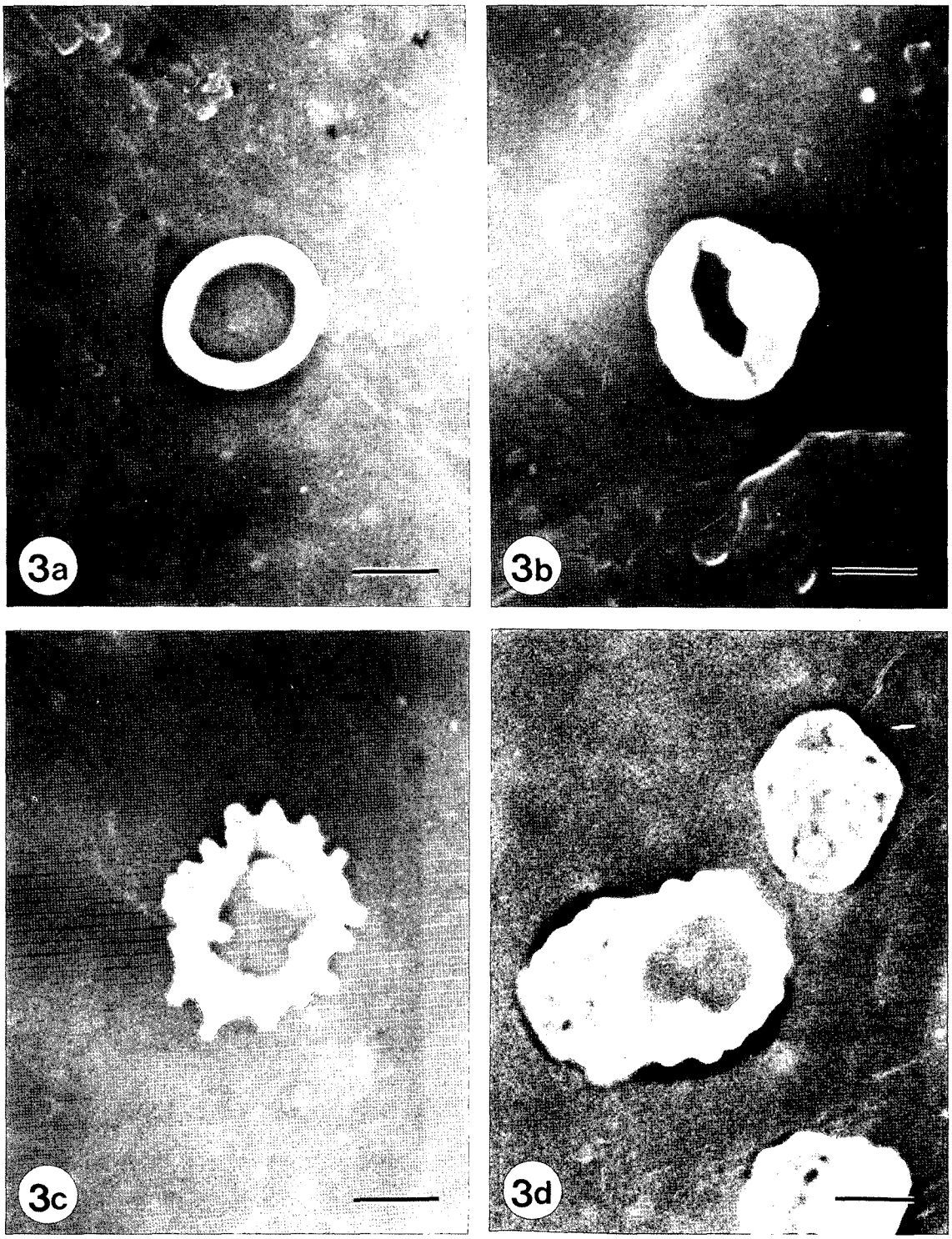
Fig. 6a, b. Urinary space in Bowman's capsule shows RBCs through a capillary of the glomerulus. Ep; epthelial cell. *; schizocyte. a; Bar represents 3 μm. b; Bar represents 2 μm.

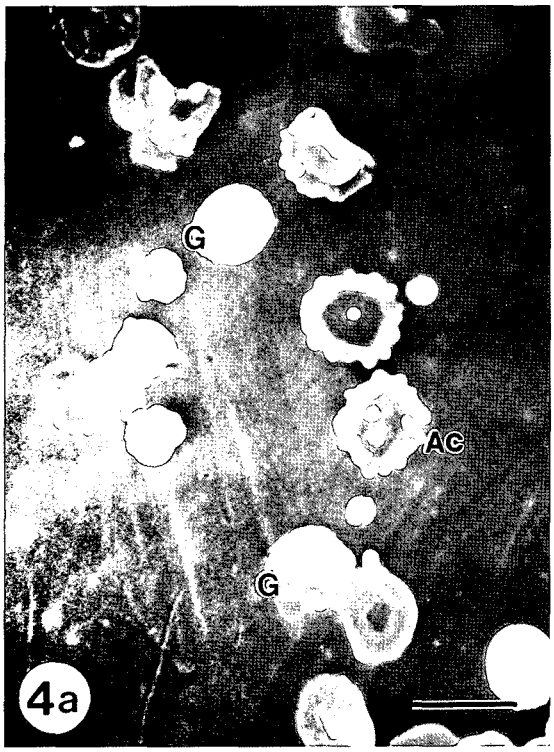
Fig. 7a. Electron micrograph of the cross section from the distal convoluted tubule discloses dysmorphic RBCs (R) with a WBC (W) in urinary cavity (UC). Bar represents 3 μm.

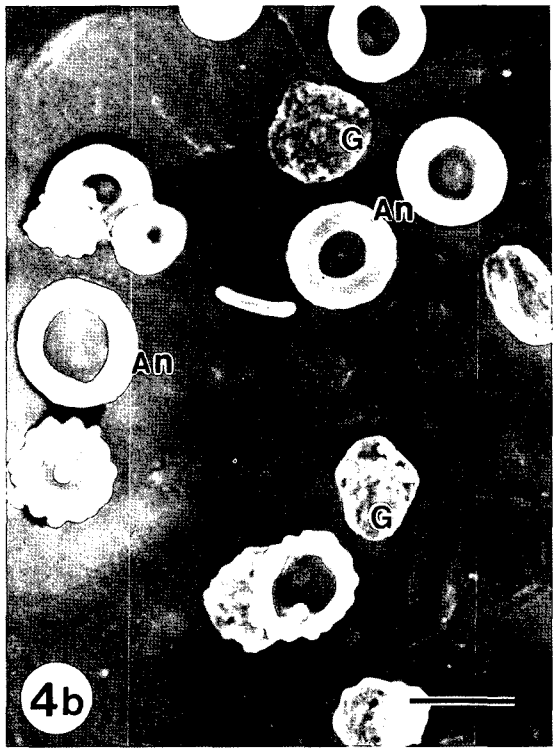
Fig. 7b. Lots of RBCs reveal swelling change with ghost cells (G) from the patient's coke-colored urine. Electron density of the urinary cavity (UC) discloses massive hemolytic hemoglobin. Hb; hemolied hemoglobin. Bar represents 2.5 μm.

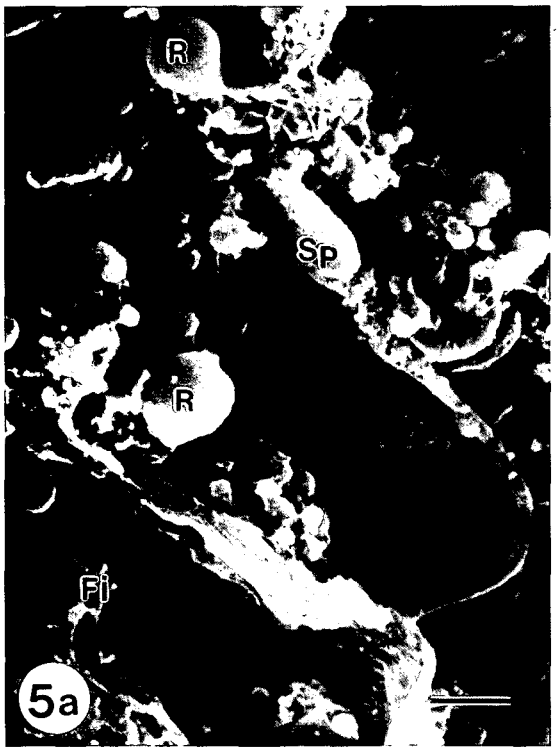

1


2

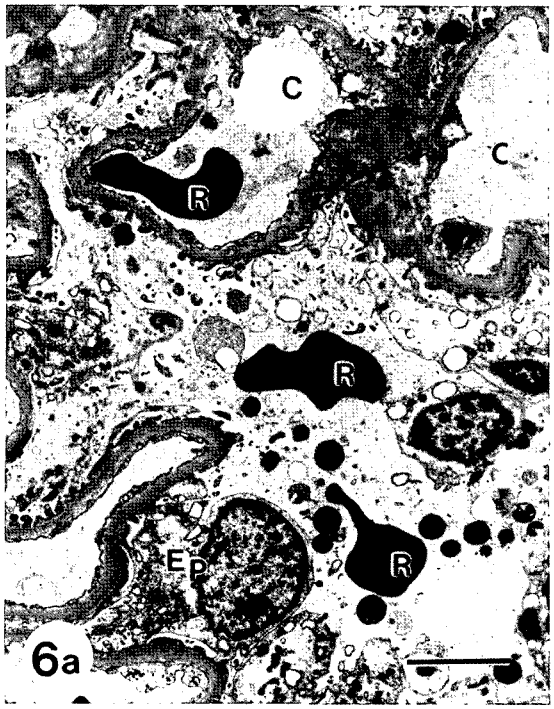

3a
3b
3c
3d

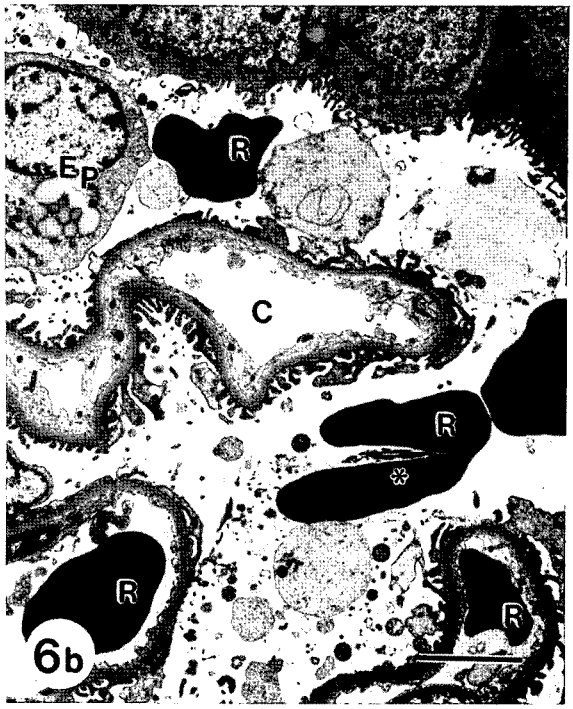

G
AC
G
4a

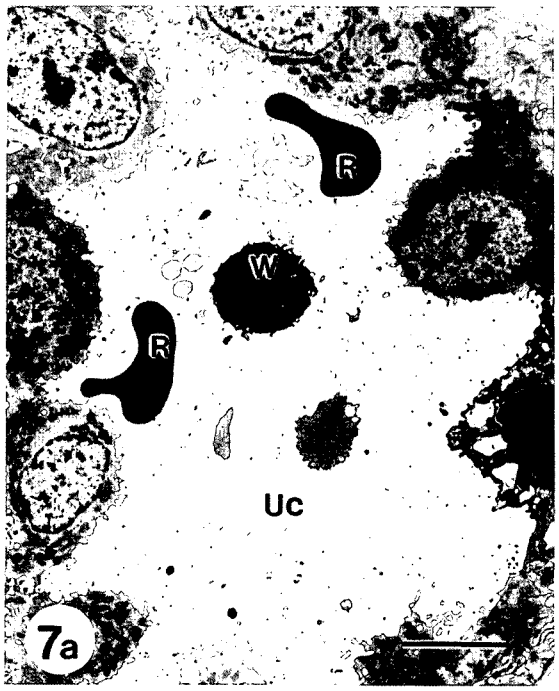

G
An
An
G
4b

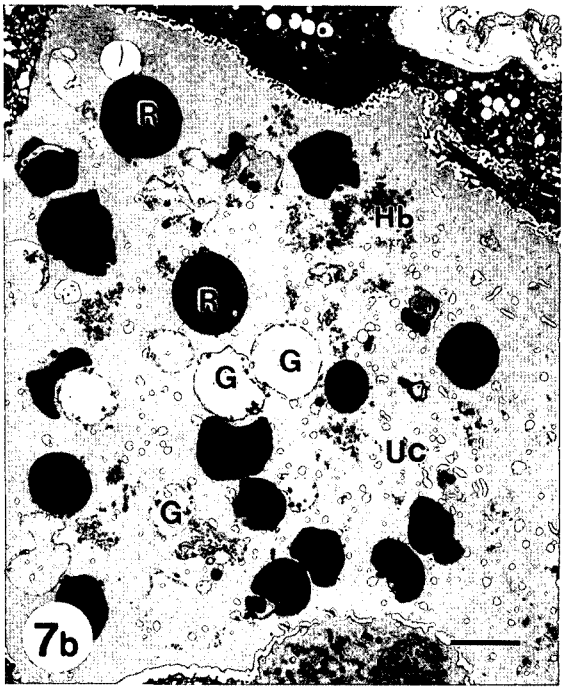

R
SP
R
Fi
5a

EC
Fr
R
5b


C
C
R
R
R
EP
R
6a


R
EP
C
R
R
R
R
6b


R
W
R
Uc
7a


R
Hb
R
G
G
Uc
G
7b