

실험적 급성 신우신염이 유발된 이유기 백서에서 methylprednisolone이 TGF- β 1, 세포고사 및 신반흔에 미치는 영향

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실*
황수자, 성순희*, 이승주

= Abstract=

Effects of Methylprednisolone on TGF- β 1, Apoptosis and Renal Scarring in Experimental Acute Pyelonephritic Weaning Rats

Soo Ja Whang M.D., Soon Hee Sung* M.D., Seung Joo Lee M.D.

Department of Pediatrics and Pathology,
Ewha Womans University, College of Medicine*

Purpose: Acute pyelonephritis of growing kidneys may result in renal scarring. TGF- β 1, inflammatory cytokine, has been suggested to play an important role in promoting renal scarring through apoptosis, suppression of cellular proliferation and fibrosis. We observed the effects of a potent anti-inflammatory agent, methylprednisolone on apoptosis and renal scarring in experimentally induced acute pyelonephritic weaning rats.

Materials and Methods: To induce ascending pyelonephritis a saline solution containing Escherichia coli type ATCC No. 25922, pili-form (107 bacteria/mL) was infused into the bladder through the 16-gauge silicone cannula for 48 hours to 102 three-week-old Sprague-Dawley rats (50-60g). Experimental groups were divided into three groups according to the treatment protocols, group I (ceftriaxone only, n=31), group II (methylprednisolone+ceftriaxone n=28), control group (n=43) was not treated. Histopathologic scores of inflammatory changes, fibrosis and tubular atrophy, the apoptosis index and TGF- β 1 expression score were observed at post-infection 1 and 3 week. Datas were analysed using ANOVA test and *P* value below 0.05 was interpreted as significant.

Results: The mortality rate (21.4%) of group II was not different to the control group (41.9%) and group I (32.3%). The inflammatory score of group II (0.8 ± 0.87) at week 1 was significantly lower than those of the control group (2.3 ± 0.87) and Group I (1.7 ± 0.79) ($P < 0.05$). Apoptosis index of group II (2.9 ± 2.15) at week 1 was significantly lower than those of the control group

(10.0±1.95) and group I (8.3±2.53) ($P<0.05$). TGF- β 1 expression score of group II (0.8±0.72) at week 1 was significantly lower than those of the control group (1.9±0.68) and group I (1.8±0.60) ($P<0.05$). The fibrosis score of group II (1.1±1.10) at week 3 was significantly lower than that of the group I (1.8±0.83) ($P<0.05$)

Conclusion: Conclusion : Combined treatment with methylprednisolone and ceftriaxone reduced inflammation, fibrosis, apoptosis and TGF- β 1 expression in acute pyelonephritic weaning rats, compared to ceftriaxone alone. Anti-inflammatory agent supplemented to antibiotics could prevent renal scarring more effectively. (J Korean Soc Pediatr Nephrol 2002 ; 6 : 75-84)

Key Words : methylprednisolone, TGF- β 1, apoptosis, renal scar, pyelonephritic weaning rat

서 론

소아에서의 급성 신우신염은 성인과 달리 10-40%에서 신반흔으로 진행된다. 신반흔의 형성은 방광 요관 역류의 정도, 나이, 세균독성, 치료지연 및 반복감염 등과 관련되며 소아에서 말기 신부전과 고혈압의 중요한 원인이 된다^{1,3}. 방광 요관 역류에서의 신반흔(역류성 신병증) 형성에는 어린 나이의 복합유두와 관련된 신장내 역류(intrarenal reflux)가 중요하지만⁴⁻⁷, 방광 요관 역류 없이 발생한 급성 신우신염의 신반흔 형성에는 E. coli의 fimbriae, verotoxin등이 독성요소로 작용하여 세포고사(apoptosis)와 신장의 성장장애를 유도한다고 하였다^{8,13}. 따라서 신반흔을 예방하려면 신속하고 효과적인 항생제 치료가 중요하나 적절한 항생제 투여로도 신우신염의 40%는 여전히 신반흔을 형성한다고 하였다¹⁴. 최근에는 신반흔의 형성에 세균의 독성요소뿐 아니라 감염시 국소에서 일어나는 숙주 반응(염증반응과 면역반응)의 산물인 cytokine(TGF- β 1, IL-6, IL-8, TNF- α)의 역할이 제시되고 있다¹⁵⁻¹⁷. 특히 섬유화를 유도하는 cytokine으로 알려진 TGF- β 1은 급성신우신염의 국소 병변에

서 분비되어 세포증식을 억제하고 세포고사를 증가시키며 사구체와 간질의 섬유화를 유도한다고 하였다^{18,19}. 즉 급성 신우신염의 치료에서 항생제만으로는 숙주의 면역반응에 의한 cytokine 분비와 이에 의한 섬유화를 효과적으로 예방하지 못한다고 하였다²⁰. 항산화제가 신반흔의 형성을 억제할 수 있다고 하였고²¹⁻²³ 항염증제의 역할도 제시되었다^{24,25}. Haraoka 등²⁶과 Pohl등²⁹은 치료가 지연된 신우신염 흰쥐에게 항생제와 cytokine 분비를 억제하는 항염증제를 병용투여한 결과 신반흔의 형성을 의미있게 감소시킬 수 있었다고 하였다. 강력한 항염증제인 스테로이드는 면역억제기능 때문에 종종 세균성 감염에서의 사용이 매우 제한되어 왔으나 최근에는 면역반응에 의한 조직손상을 예방하기 위하여 제한적으로 추천 되어 왔다^{26,27}.

이에 저자는 실험적 급성 신우신염을 일으킨 이유기 백서에서 항생제인 ceftriaxone 외에 항염증제인 methylprednisolone 이 세포고사, TGF- β 1과 신반흔의 형성에 미치는 치료효과를 관찰하고자 본 연구를 시행하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물

실험동물은 생후 3주된 이유기의 Sprague Dawley 백서(체중 50-60g)를 사용하였다. 생후 3주는 Sprague Dawley 백서의 이유기로서 성장기 신장에 대한

접수 : 2002년 1월 2일, 승인 : 2002년 3월 10일
책임저자 : 이승주
서울특별시 양천구 목동 911-1
이대목동병원 소아과
전화: 02) 650-5032 FAX: 02) 653-3718
E-mail : sjoolce@mm.ewha.ac.kr

신손상을 연구하기에 적합한 연령으로 알려져있다. 실험동물 102 마리는 신우신염 대조군과 실험군인 I, II 군으로 나누었다 (Table 1).

Table 1. Experimental groups

Groups	Treatment	Number
Control	None	43
Group I	Ceftriaxone (C)	31
Group II	C + methylprednisolone	28

2. 실험 약제

투여 약제는 항생제로는 ceftriaxone(Triaxone[®] 한미약품), 항염증제로는 methylprednisolone(Solu-Medrol[®] 파마시아 & 업존 제약)을 사용하였다.

3. 급성 신우신염의 유발

ATCC No. 25922, pili 형성 E. coli를 계대배양하여 108mL의 농도로 만들어 -80℃에서 냉동 보관하고 37℃에서 해동한 후 3000rpm에서 2회 원심분리하여 생균기준 107mL의 농도로 생리 식염수에 희석하였다.

실험 백서를 ketamine으로 전신마취 후 16 gauge의 silicone 도관을 방광내 삽입하여 생리 식염수에 희석한 E. coli 107mL를 0.6 mL/min 속도로 5 mL씩 방광내에 주입하여 사람의 상행성 급성 신우신염과 유사한 실험적 급성 신우신염을 유발하고 24시간 후에 소변배양에서 105집락수/mL 이상의 E. coli를 확인하였다.

4. 약제투여 방법

E. coli 감염 48시간 후 각 군별로 약제를 투여하였다. 실험 I군에게는 triaxone 50 mg/kg을 1일 2회 7일간 복강내 주사하였고, II군에게는 methylprednisolone 2 mg/kg을 ceftriaxone과 병행하여 1일 1회 7일간 복강내 주사하였다.

5. 실험동물의 희생

실험동물은 실험약제 투여 1주후에 1차 희생시켰고

(대조군 12마리, I군 11마리, II군 12마리) 3주후에 나머지를 2차 희생을 시켰다,

6. 병리 조직학적 검색

희생후 적출한 양측 신장을 10% 완충 formalin 용액에 24시간 고정 후 신장의 장축을따라 양분 후 통상적인 조직제조 과정을 거치고 파라핀에 포매하여 rotatory microtome으로 3μ 두께로 세절하여 hematoxylineosin 염색과 Massontrichrome염색을 시행하였다.

병리 조직학적 변화로 첫째, 염증점수는 신세뇨관 및 간질의 염증 정도를 반정량적인 방법으로 등급화하여 염증이 없을 때를 0점, 신유두부, 신배에 염증이 국한되어 있을 때를 1점, 신세뇨관내 및 주위에 염증이 파급되었을 때를 2점, 세뇨관을 파괴시키면서 농양을 형성하였을 때를 3점으로 하였다.

섬유화점수는 섬유화의 정도를 반정량적인 분석방법으로 등급화하여 섬유화가 없을 때 0점, 신우 신배 주위 및 세뇨관 주위의 경미한 섬유화는 1점, 신우 신배 주위 및 세뇨관 주위의 중등도의 섬유화는 2점, 세뇨관의 파괴를 동반한 반흔 형성은 3점으로 하였다.

7. 세포고사 지수 측정

In situ TUNEL방법¹²⁾을 이용하여(ApopTag; Oncor. Gaithersburg, MD, USA) 세포고사 지수를 측정하였다. 즉 3μ 두께로 세절한 신조직을 poly-L-lysine 처리한 슬라이드에 부착하고 65℃ 오븐에서 20분간 처리 후 xylene 용액에 탈파라핀 시켰다. 100%, 90%, 80%, 70% 에틸 알코올에서 각각 5분간 흡수과정을 거친 후 Tris buffer 용액에 행구었다. Proteinase K 1 μL에 10 mm Tris pH 8 용액 99 μL를 넣고 희석하여 슬라이드에 20분간 실온에서 반응 시켰다. 30% H₂O₂를 1:10으로 메타놀에 희석한 후 떨어뜨려 5분간 방치하여 내인성 peroxidase를 불활성화 시켰다. 이후 1X TdT Eq buffer 100 μL를 슬라이드에 떨어뜨려 20분간 실온에서 처리 후 60 μL의 TdT labelling mixture를 가한 후 30℃ 가슴상태에서 1시간 30분간 반응시키고 AEC(Zymed Co.)로 발색하

고 hematoxylin-eosin으로 대조 염색하였다. 세포고사 지수는 신극부위 신피질 영역을 선택하여 근위 세뇨관 세포부위를 200배 시야 10부위를 검정하여 핵에 양성 반응을 보이는 세포고사 세포를 측정하여 수치화 하였다

8. TGF-β1 단백질발현에 대한 면역 조직화학적 염색

3μ 두께로 절절한 신조직을 poly-L-lysine 처리한 슬라이드에 부착 후 탈파라핀, 함수과정을 거친 후 citrate 완충용액 내에서 15분간 가열하여 항원 노출을 용이하게 한 후 labelled streptavidin biotin 방법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였고 TGF-β1 (Immunotech Co. 1:100 희석)에 대한 1차 항체를 사용하였다. 발색제는 AEC(Zymed Co.)를 이용하였으며 Hematoxlin으로 대조 염색하여 crystal mount로 포매하였다.

TGF-β1 단백질발현 점수는 염색이 음성인 경우 0 점, 경미한 경우 1점, 중등도인 경우 2점, 심한경우 3점으로 등급화하였다.

9. 통계 방법

통계는 SAS®를 이용한 ANOVA로 시행하였으며 유의수준은 P<0.05로 하였다.

결 과

1. 사망률

실험동물 102마리 중 사망한 백서의 수는 34마리 (33.3%)였다. 신우신염 대조군은 41.9% (18/43), I군은 32.3% (10/31), II군은 21.4% (6/28)로 세군간에 유의한 차이는 없었다 (Table 2).

Table 2. Death rates

Experimental groups	No	Number of Death (%)
Control	43	18 (41.9)
Group I	31	10 (32.3)
Group II	28	6 (21.4)
Total	102	34 (33.3)

P>0.05

2. 염 증

실험 1주의 염증 소견은 대조군에서 신극부위에 심한 염증세포의 침윤이 있었고 신세뇨관 내강과 주위에는 중성구 침윤과 미세농양을 형성하였다. I군에서는 신세뇨관을 파고드는 염증세포 침윤이 심하였으며, 염증의 정도가 대조군에 비하여 큰 차이가 없었다. 그러나 II군에서는 염증세포 침윤은 현저히 감소하여 주로 신우신배 근접부위에만 국한되어 있었다. 세뇨관의 광범위한 파괴를 동반한 농양의 형성과 같은 심한 염증 반응은 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 염증 점수는 실험 1주에 II군이 0.8±0.87로 대조군의 2.3±0.87, I군 1.7±0.79에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05) (Fig. 2).

3. 세포고사

실험 1주의 TUNEL 양성세포는 대조군과 I군에서는 염증부위의 염증세포와 세뇨관 세포 모두에서 상당히 증가되어 있는 반면 II군에서는 약간만 증가되어 있었다(Fig. 3). 세포고사 지수는 II군이 2.9±2.15로 대조군의 10.0±1.95, I군의 8.3±2.53에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05)(Fig. 4).

4. TGF-β1 단백질 발현

실험 1주의 TGF-β1 단백질발현은 주로 염증 및 섬유화 부위에서 염색이 되었으며 II군에서는 대조군과 I군에 비하여 상당히 감소되어 있었다 비염증 부위의 세뇨관 세포에서는 발현되지 않았다 (Fig. 5). TGF-β1 단백질발현 점수는 II군이 0.8±0.72로 대조군의 1.9±0.67, I군의 1.8±0.60에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05)(Fig. 6.)

5. 섬유화

실험 3주의 섬유화는 대조군에서는 심한 섬유화가 주로 신극부위의 신피질에서 관찰되었으나 II군에서는 현저히 감소되었다 (Fig. 7). 섬유화 점수는 II군이 1.1±1.10으로 대조군의 1.8±0.83 군에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05) (Fig. 8).

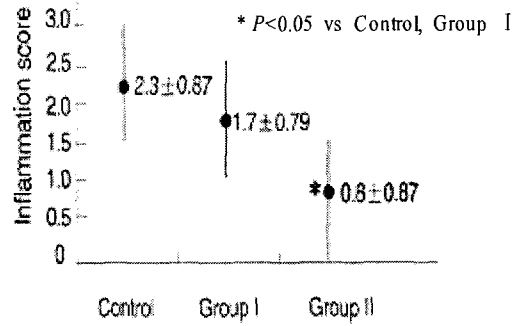


Fig. 2. Inflammation scores at the first week

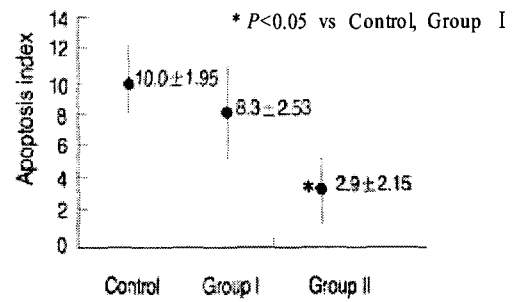


Fig. 4. Apoptosis indices at the first week

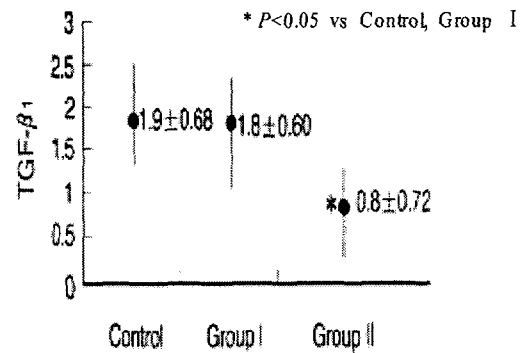


Fig. 6. TGF-β1 expression score at the first week

Control

Group I

Group II

Fig. 1. Comparison of inflammatory change on LM(H&E) at the first week. Heavy inflammatory infiltration by geographic pattern (arrows) is seen in the pole of both renal cortex and medulla in the pyelonephritic control group. Degree of inflammation is slightly decreased in group I and markedly decreased in group II.

Control

Control

Group I

Group I

Group II

Group II

Fig. 3. Comparison of TUNEL positive apoptotic cells at the first week.

Apoptotic cells are frequently found in the control group and group I and less frequently in group II

Fig. 5. Comparison of the immunochemical staining of TGF- β 1 protein at the first week.

TGF- β 1 protein expression is confined to the inflammatory area. Its intensity is strong in the control group and group I and less strong in group II.

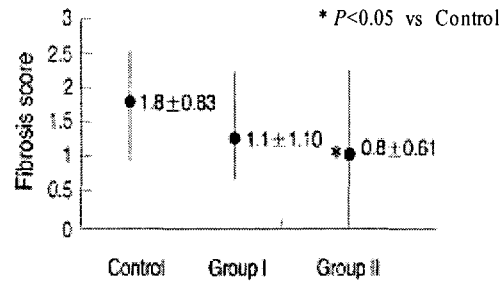


Fig. 8. Fibrosis scores at the third week

Control

고찰

Group I

Group II

급성신우신염의 병변이 세포고사와 신반흔으로 진행되는 과정에는 감염균의 내독소, verocytotoxin, lipopolysaccharide(LPS)등에 의한 직접적인 손상과, 감염시 증가하는 cytokine인 IL-6와 IL-8, TNF-α, TGF-β1, 신허혈-재관류시 생성되는 산소자유기(2-3), cytokine을 매개로 활성화되는 Fas/Fas ligand 2), 세포주기 조절 단백질 등 다양한 원인이 제시되어 있다. Verocytotoxin 1은 용량과 시간에 비례하여 세포고사를 유발하며 TNF-α를 동시에 접중하면 세포고사가 더 심해진다고 하였다¹³. Cytokine은 말초 혈액에서 생성되어 신사구체로 침윤되기도 하지만 주로 신사구체의 메산지움 세포, 내피세포및 상피 세포 등에서 직접 생산 분비되어 세포 손상을 촉진시킨다고 하였다. TNF-α에 의한 세포고사가 LPS에 의한 세포고사보다 더 심각하다고 하였다. 급성 신우신염을 앓는 환자의 소변에서 IL-6, IL-8이 증가하며 이중 급성기 소변의 IL-6/creatinine 비가 신반흔 형성의 중요한 위험인자라고 보고하였다¹⁶. TGF-β1은 면역 억제 인자일 뿐 아니라 조직 재생을 시작하고 마치는데 결정적 역할을 하는 cytokine으로 알려져 있다¹⁸. Khali등¹⁵도 급성 신우신염을 유발한 생쥐의 신장 조직에서 TGF-β1 mRNA 증가를 관찰하였고 Serlachius등¹²은 실험적 신우신염을 유발한 백서의 신피질 병변에서 TGF-β1이 증가되었고 이는 세포고사를 유도하였으며, 세포고사가 심한 곳에서 섬유화의 증가가 관찰되었다고 하였다.

Fig. 7. Comparison fibrosis at the third week. Fibrotic scar(arrows) is confluent in the control group, slightly decreased in the group I and markedly decreased in the group II

따라서 급성신우신염이 신반흔으로 진행되는 것을 예방하기 위하여서는 세균을 제거하는 항생제 외에 숙주의 염증반응과 면역반응을 조절하는 강력한 항염증제의 역할이 필요하다고 하였다. 스테로이드는 세균 감염시 숙주면역반응에 의한 cytokine 의 생성과 유리에 관여하여 강력한 면역 억제효과를 초래한다²⁹⁾ 세포질의 수용체와 결합한 스테로이드-수용체 복합체는 유전자 전사(transcription)가 일어나는 핵으로 전좌(translocation)되어 IL-, TNF- α 및 TGF- β1 등의 독성 cytokine 유전자의 발현을 억제하여 조직손상에 관여하는 lipocortin-1의 전사를 유도하고 면역반응을 조절한다고 하였다³⁰⁾ Haraoka등²⁹⁾은 E coli (HM32균주)로 상행성 급성신우신염을 유발한 6-8주 백서에게 치료를 신속히 시행한 경우에는 항생제만으로도 신반흔이 형성되지 않아 prednisolone의 병용투여가 필요 없지만 치료가 지연된 경우에는 항생제만으로는 50%에서 신반흔이 형성되었으나 항생제외에 prednisolone을 병용치료한 경우에는 12.5%로 유의하게 감소시킬 수 있었다고 하였다. Pohl등²⁾도 실험적으로 방광요관 역류를 유발한 돼지에게 실험적 급성 신우신염을 일으킨 후 항생제와 prednisolone(2 mg/kg) 으로 치료한 결과 항생제와 스테로이드의 병용투여군에서 효과적이었다고 하였다. 스테로이드와 항생제 병용 투여군의 신반흔 형성율은 49%로 항생제 단독 투여군에서는 60%와 유의한 차이가 없었으나 심한 신우신염을 보인 경우만을 비교하면 항생제와 스테로이드의 병용 투여군에서의 신반흔 형성율이 72%로 항생제 단독 투여군의 91%에 비하여 매우 효과적이었다고 보고하였다.

본 연구에서는 신반흔이 잘 생기는 생후3주의 이유기 백서에서 신반흔에 관여한다고 알려진 TGF- β1, 세포고사와의 관련성을 함께 조사하였다. Methyl-prednisolone과 ceftriaxone 병용 투여군은 치료를 하지 않은 대조군보다 염증, 세포고사 및 TGF- β1발현 및 섬유화가 모두 유의하게 감소되었고 ceftriaxone 단독 투여군보다는 염증, 세포고사 및 TGF- β1발현이 유의하게 감소되었다.

결론적으로 성장기 백서의 실험적 급성 신우신염에

서 항생제 외에 항염증제의 병용치료로 신반흔을 감소시킬 수 있으므로 치료지연등 신반흔의 위험인자가 있는 경우에 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

한 글 요 약

목적 : 성장기 신장에서의 급성신우신염은 신반흔으로 진행된다. 신반흔의 형성에는 세균자체보다도 숙주의 염증반응과 면역반응의 산물인 TGF- β1이 세포고사를 증가시키고 세포증식을 억제함으로써 섬유화를 촉진한다고 하였다. 이에 저자는 항염증제인 methyl-prednisolone (MP)이 실험적으로 급성신우신염을 일으킨 이유기 백서에서 신반흔 형성에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

대상 및 방법 : 생후 3주(체중 50-60g)된 이유기 Sprague-Dawley 백서의 방광에 삽입된 16 gauge의 실리콘 도관내로 107mL 농도의 E coli (ATCC No. 25922, pili형)를 5 mL씩 주입하여 급성신우신염을 유발하였다. 실험군은 1군 (ceftriaxone 단독투여, n=31)과 2군 (MP와 ceftriaxone투여, n=28)으로 나누었고 대조군 (n=43)에는 약제를 투여하지 않았다. 실험 1주와 3주에 실험동물을 희생하여 병리 조직학적 소견상 염증점수, 세포고사 지수와 TGF- β1 발현점수 및 섬유화 점수를 관찰하였다.

결과 : 사망률은 II군이 21.4%였으나 대조군 41.9%, I군 32.3%와 유의한 차이는 없었다. 염증 점수는 실험 1주에 II군에서 0.8±0.87로 대조군의 2.3±0.87, I군의 1.7±0.79에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05). 세포고사 지수는 실험 1주에 II군에서 2.9±2.15로 대조군의 10.0±1.95, I군의 8.3±2.53에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05). TGF- β1발현도 실험 1주에 II군에서 0.8±0.72로 대조군의 1.90±.67, I군의 1.8±0.60에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05). 섬유화 지수는 실험 3주에 II군에서 0.8±0.63로 대조군의 1.8±0.83에 비하여 유의하게 낮았다 (P<0.05)

결론 : 성장기 백서의 실험적 급성 신우신염에서 MP는 ceftriaxone 단독 투여에 비하여 염증 반응, 세포고사, TGF- β1발현, 섬유화를 모두 감소 시켰다. 즉

항생제 외에 항염증제의 병용투여가 신반흔의 정도를 감소시킬 수 있으므로 치료지연등 신반흔의 위험인자가 있는 경우에 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Smellie JM, Ransley PG, Normand I.C.S, Prescod N, Edward D. Development of new renal scars: A collaborative study. *BMJ* 1985; 290:1957-60
2. Rushton HG, Majd M, Jantusch B, Wiedermann BL, Belman AB. Renal scarring following reflux and non-reflux pyelonephritis in children: Evaluation with 99m Tc-DMSA. *J Urol* 1982;147: 1327-32
3. 황수자, 이승주. 소아 급성 신우신염에서 신반흔의 위험요소, 소아과 1999; 42: 545-52
4. Hodson CJ, Maling TMJ, McManamon PJ, Lewis MG. The pathogenesis of reflux nephropathy (chronic atrophic pyelonephritis). *Br J Radiol* 1975;48 (suppl 13): 1-26
5. Ransley PG, Ridson RA. Renal papillary morphology in infants and young children. *Urol Res* 1975; 3: 111-3
6. Tamminen TE, Kapiro EA. The relation of the shape of renal papillae and of collecting duct openings of intrarenal reflux. *Br J Radiol* 1977; 49: 345-53
7. Ransley PG, Ridson RA. Reflux and renal scarring. *Br J Radiol* 1978; 51(suppl 14): 1-35
8. Svanborg EC, Hanson CA, Jodal U, Lindberg U, Sohl AA. Variable adherence to normal human urinary tract epithelial cells of *E. coli* strains associated with various forms of urinary tract infection. *Lancet* 1976; 2: 490-2
9. Källenius G, Svenson SB, Hultberg H. Occurrence of P-fimbriated *E. coli* in urinary tract infection. *Lancet* 1981; 2: 1369-72
10. Marild S, Wettergren B, Jodal O, Lincoln K, Orskov I. Bacterail virulence and inflammatory response in infants with febrile urinary tract infection or screening bacteriuria. *J Pediatrics* 1988; 112: 348-54
11. Majd M, Rushton HG, Jantusch B. Relationship among vesicoureteral reflux, P-fimbriated *E. coli*, and acute pyelonephritis in children with febrile urinary tract infection. *J Pediatrics* 1991; 119: 578-85
12. Serlachius E, Sundelin B, Eklof A., Jahnke M, Laestadius A., Aperia A. Pyelonephritis provokes growth retardation and apoptosis in infant rat renal cortex. *Kidney Int* 1997; 51: 1855-62
13. Kodama T, Nagayma K, Yamada K, Ohba Y, Akeda Y, Honda T. Induction of apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by *Escherichia coli* verocytotoxin 1 in vitro. *Med Microbiol Immunol* 1999;188: 73-8
14. Ransley PG, Ridson RA. Reflux nephropathy: Effect of antimicrobial therapy on the evolution of the early pyelonephritic scar. *Kidney Int* 1981; 20: 733-42
15. Khali A, Brauner A, Bakhiet M, Burman LG, Jaremko G, Wretling B, Tullus K. Cytokine gene expression during experimental *Escherichia coli* pyelonephritis in mice. *J Urol* 1997;158:1576-682
16. Tullus K, Fituri O, Burman LG, Wretling B, Brauner A. Interleukin-6 and interleukin-8 in the urine of children with

- acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 280-4
17. Udo KM, Verena AB, Josef P. Tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide induce apoptotic cell death in bovine glomerular endothelial cell. *Kidney Int* 1999;66: 2322-37
18. Yoshioka K, Takemura T, Murakami K, Okada M, Hino S, Miyamoto H, Maki S. Transforming growth factor- β protein and mRNA in glomeruli in normal and diseased human kidneys. *Lab Invest* 1993;68: 154-63
19. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331: 1286-92
20. Glauser MP, Lyons JM, Braude AI. Prevention of chronic experimental pyelonephritis by suppression of acute suppuration. *J Clin Invest* 1978;61:403-8
21. Roberts JA, Roth JK, Dominique G, Lewis RW, Kaack B, Baskin G. Immunology of pyelonephritis in the primate model. Effect of superoxide dismutase. *J Urol* 1982;128: 1394-400
22. Roberts JA, Kaack B, Fussel EN, Baskin G. Immunology of pyelonephritis: Effect of allopurinol. *J Urol* 1986;136:960-3
23. Meylan PR, Markert M, Bille J, Glauser M. relationship between neutrophil mediated oxidative injury during acute experimental pyelonephritis and chronic renal scarring. *Infect Immunol*.1989;57:2196-202
24. Haraoka M, Matsumoto T, Takahashi K, Kubo S, Tanaka M, Kumazawa J. Suppression of renal scarring by prednisolone combined with ciprofloxacin in ascending pyelonephritis in rats. *J Urol* 1994;151:1078-80
25. Pohl HG, Rushiton HG, Park J, Chandra R, Majd M. Adjunctive oral corticosteroids reduce renal scarring: The piglet model of reflux and acute experimental pyelonephritis. *J Urol* 1999;162: 815-20
26. Joyce DA, Steer JH, Abraham LJ. Glucocorticoid modulation of human monocyte/macrophage function: control of TNF- α secretion. *Inflamm Res* 1997;46: 447-51
27. Saez-Lorens X, McCracken GH Jr. Antimicrobial and anti-inflammatory treatment of bacterial meningitis. *Infect Dis Clin North Am* 1999;13:619-36
28. Jeffrey RS, Nnenna N, Jeffrey BK, Ronald PC. Fas-dependent fratricidal apoptosis is a mechanism of tubular epithelial cell deletion in chronic renal failure. *Lab Inv* 1998;78: 813-24
29. Ortiz A, Lorz C, Catalan MP, Donoff TM, Yamasaki Y, Egido J, Neilson EG. Expression of apoptosis regulatory proteins in tubular epithelium stressed in culture or following acute renal failure. *Kidney Int* 2000;57:, 969-81
30. Goulding NJ, Guyre PM. Glucocorticoids, lipocortins and the immune response. *Curr Opin Immunol* 1993;5: 108-1