## 사구체신염의 병리 - 표본제작 및 기본병변 -

영남대학교 의과대학 병리학교실

### 김 용 진

= Abstract =

# Pathology of Glomerulonephritis - Specimen Preparation and Basic Pathologic Changes -

Yong-Jin Kim, M.D.

Department of Pathology, Yeungnam University College of Medicine, Daegu, Korea

To understand the course of renal diseases well, we must have basic knowledges of histologic procedures of renal biopsy samples as well as basic pathologic changes. This article describes the method of dividing the biopsy samples, fixatives for various pathologic examinations and basic pathologic changes of glomerular diseases. For light microscopic examination, color changes of glomerular structures in PAS, trichrome and PAM stains, normal glomerular patterns compared to various glomerulopathies are introduced. While describing typical staining patterns and intensities of fluorescence in membranous glomerulopathy and IgA nephropathy, basic interpretation of immunofluorescent microscopic examination is described.

To understand electron microscopic pictures of renal diseases, preference locations of electron dense deposits in various glomerulonephrites are described with schema. This article is the introduction part of the renal pathology and for the further detail changes of specific entities, we should reference the renal pathology textbooks or articles. (J Korean Soc Pediatr Nephrol 2011;15:29-37)

**Key Words:** Glomerulonephritis, Pathology, Renal biopsy, Light microscopy, Immunofluorescence microscopy, Immunohistochemistry, Electron microscopy

신장염의 조기 진단을 위한 조직검사는 1901년 미국에서 이루어졌다고 하지만 이는 개복술에 의한 조직검사로서 현재에 사용하는 침생검(needle biopsy)과는 다르다. 몸 밖에서 침을 이용한 조직검사 는 간장에서 먼저 실시되어 1939년에 진단적 가치 를 인정받게 되었다. 신장의 경우는 미국의 Nils Alwall이 13명의 유분증환자의 신침생검 결과와 부 검소견을 비교 발표한 1952년부터 라고 한다[1].

Vim-Silverman 침으로 시행되면서 개량되어 오다가 최근에는 초음파의 도움과 스프링이 장착된 생검용 총(gun)이 개발되면서 1980년대 이후에는 거의 부작용이 없는 안전한 조직검사가 시행되고 있다.

접수: 2011년 2월 11일, 수정: 2011년 3월 17일

승인: 2011년 3월 18일

책임저자: 김용진, 대구시 남구 대명5동 317-1

영남대학교 의과대학 병리학교실

Tel: 053) 620-3331 Fax: 053) 622-8432

E-mail: yyjjkim@ynu.ac.kr

### 조직검사 과정 요약

### 1. 적절한 침의 구경

신장조직검사에 필요한 부위는 사구체를 포함한 신장의 피질이다. 일반적인 성인의 신장 피질의 두께 는 10 mm 이며 생검총이 채취할 수 있는 조직의 총 길이가 1 cm 정도라는 것을 감안한다면 기술적으로 침의 끝이 신장표면에 닫는 그 지점에서 조직검사가 이루어져야 할 것이다.

사구체의 직경은 신생아의 경우 100 μm이며, 점점 커져서 8세경부터 성인과 비슷한 크기인 200-250 μm에 이른다. 18 게이지 침은 외경이 300-400 μm 이며 내경은 그 보다 좁지만 소아의 경우 충분하다. 그러나 성인의 경우는 좋은 검체를 얻기 위해서는 16 게이지(외경 600-700 μm) 혹은 14 게이지(외경 900-1000 μm)의 침이 좋다[2].

### 2. 신장조직 나누기

침생검으로 채취된 조직은 즉시 광학, 면역형광 및 전자현미경용으로 나누어야 한다. 과거 Vim-Silverman 침으로 조직검사를 하였을 때 조직의 직경은 1,900 µm 정도였기 때문에 한 개의 core를 세로로 잘라서 광학 및 형광현미경용으로 나눌 수 있었다. 그러나 요즘 사용하는 18 게이지 혹은 16 게이지의 조직은 약 600 µm 이하여서 세로로 나누기에는 어려우며, 그 과정에서 조직이 상하거나 마를 가능성이 많다. 따라서 Fig. 1과 같이 나누는 것이 좋다.

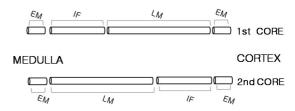
조직은 날카로운 면도날이나 매스로 잘라야 하며 찌그러지거나 마르지 않도록 주의하면서 재빨리 고 정액에 넣어야 한다. 마른 거즈에 올려서 조직을 처리하면 마를 가능성이 높다. 핀셋으로 조직을 집는 것도 피해야 한다. 치과용 왁스판 위를 생리식염수로 적시고 그 위에 조직을 놓고 18 게이지 주사바늘이나 이쑤시게를 사용하여 조심스럽게 취급해야 한다.

# 3. 고정액과 운반액(fixative and transport medium)

1) 광학현미경용으로는 10% 포르말린이 가장 좋다. 고정이 잘 되며 실온에서 보관되므로 사용에 편리하다. 또한 면역복합체의 면역성을 잘 유지하기 때문에 면역조직화학 검사가 가능하여 경우에 따라서는 형광현미경 검사를 대치할 수 있다. 꼭 필요한 경우는 재처리과정을 통해서 질은 좋지 않지만 전자현미경 검사도 가능하다.

과거 가장 많이 쓴 Dubosq-Brasil 용액은 포르 말린에 picric acid를 혼합한 용액으로서 사구체의 세밀한 구조와 핵을 잘 유지해 주는 장점이 있어서 훌륭한 광학현미경 표본을 제작할 수 있었다. 그러나 용액을 따로 만들어야 하며, 사용 직전 소량의 초산 을 혼합해야하는 등 취급에 다소 신경을 써야 한다. 또한 면역조직화학 염색이 잘 안 되는 단점이 있어서 점차 포르말린으로 대치되고 있다. 그러나 멋진 광학 현미경 표본을 원하는 병리의사의 기호는 아직도 이 용액을 선호하고 있다.

2) 면역형광현미경 검사를 위해서는 조직을 냉동용 튜브(cryotube)에 넣어서 액체 질소 혹은 드라이아이스를 채운 보온통에 넣어서 병리과로 가져가는 것이 가장 좋다. 그러나 한 병원에서 20분 내에조직을 얼릴 수 있는 병리과가 있는 경우는 생리식염수로 적신 거즈에 마르지 않게 조직을 싸서 보내도된다. 그러나 그 이상의 시간이 소요되는 경우나 외



**Fig. 1.** The sectioning schema of renal biopsy cores for light microscopy (LM), immunofluorescence (IF), and electron microscopy (EM).

부에 의뢰해야 하는 경우, Michel 혹은 Zeus 등[3] 의 특수 완충 용액(buffer solution)으로 만들어진 운반 용액(transport solution)을 사용해야 안전하다. 이 용액 속에서 신장조직은 실온에서도 1주일까지 항원성을 잘 유지할 수 있다. 따라서 빠른우편이나 택배를 이용해서 우리나라 어느 곳으로도 샘플을의뢰할 수 있다. 단 어떤 용액을 사용하였다는 것을 병리과에 알려주어야 한다. 병리과에서는 이 용액에보관된 조직은 면역형광검사를 위한 절편을 만들기위해 첫 번째 과정인 얼리기 전에 꼭 그에 맞는 완충용액으로 씻는 과정을 거쳐야 한다.

3) 전자현미경 검사를 위해서는 1-3%의 glutaraldehyde를 사용한다. 이 고정액은 제조 후 냉장 보관해서 사용해야 하며 제조 후 무색인 용액이 연한 황색으로 변하면 폐기해야 한다. 그러나 1-2개월 까지는 변질이 없다. 약 4℃ 정도의 고정액에 조직을 넣은 후 1-2시간 후에는 고정액을 완충액(buffer solution)으로 교체해 주어야 한다. Glutaraldehyde 에 오래 보관된 조직은 처리과정을 거치는 동안 잘 부스러진다. 가장 좋은 방법은 조직을 glutaraldehyde 용액에서 약 20-30분 정도 고정 한 후 완충용액으로 교체해서 운반하는 것이다. 완충용액 속에서 조직은 실온에서 3-4일 까지는 미세구조의 변성이 없으며 냉장 보관을 한다면 한 달 까지도 안전하다. 생검된 조직은 즉시(수 초 이내) 고정액에 넣어야 하는데,이 과정이 미세구조를 보존하는데 가장 중요하다.

Paraformaldehyde도 전자현미경 검사를 위한 아주 좋은 고정액이지만 사용 전에 즉시 만들어야 하 는 번거로움이 있어서 선호하지 않는다.

이상으로서 검사 방법에 따른 조직 고정액이 다르다는 점을 명심해야 하며 고정액이 서로 바뀐 경우는 구조나 항원의 복원이 안 되므로 생검 전에 반드시용액을 잘 점검하고 표시를 해서 실수가 없도록 해야한다.

고정된 조직은 병리과에서 각각 다른 방법의 기술이 적용되어 표본이 완성된다.

### 기본적 사구체 병변[4]

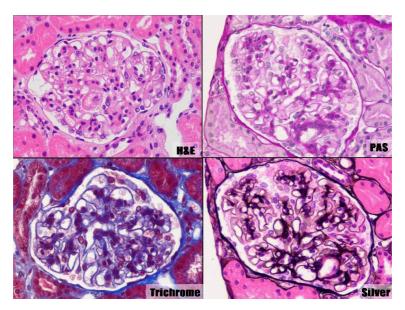
### 1. 광학현미경 소견

조직 처리과정은 다른 장기들의 병리표본 제작과 정과 같으나 현미경표본의 두께가 1-2 µm으로서 다른 조직표본 보다 두 배 이상 얇아야 하므로 숙련 된 병리기사가 필요하다. 얇은 표본만이 사구체의 세 포 증식, 기저막의 변화 등 세밀한 변화를 관찰할 수 있다.

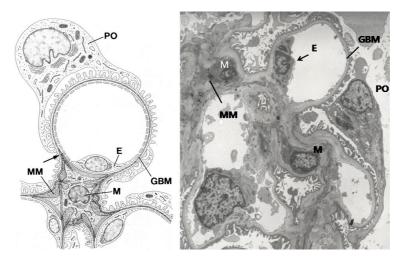
두꺼운 표본으로는 신장병리의 판독은 이루어 지 지 않는다.

관찰을 위해서는 기본적으로 네 가지 염색을 하며 특징은 다음과 같다(Fig. 2).

- · hematoxylin-eosin (H&E): 전체 구조를 파악하기에 좋으며 사구체 세포의 증식 정도, 침윤된 염증세포의 종류, 바이러스 봉입체 등을 감별하는데 좋다. 세뇨관과 간질 부위 그리고 혈관의 변화 등도이 염색으로서 관찰하는 것이 좋다.
- periodic acid-Schiff (PAS): 세포 기저막을 선택적으로 붉게 염색되게 하여, 사구체의 구조를 관 찰하는데 좋으며 사구체 혈관벽의 비후나 혈관간부 (mesangium)의 확장 등을 확인 할 수 있다. 특히 이식신장의 변화를 관찰하기에 유용하다.
- · Jones periodic acid silver methenamine (PAM, silver): 세포 기저막을 검게 염색 시켜서 막성 사구체신병증에서 "spike"를 확인하거나, 막증식성 사구체신염에서 사구체 혈관벽이 2층으로 된 것을 확인하는데 좋다.
- · trichrome: 기저막은 푸르게, 세포질은 오렌지 색으로 염색된다. 단백질 물질이 오렌지색으로 염색 되므로 섬유소의 침착, 혈전의 존재, 특히 면역 복합 체의 침착을 광학현미경으로 확인할 수 있다는 점으 로 유용하게 쓰인다.
  - 1) 정상사구체를 판단 할 수 있는 기준은? 광학 현미경에서 정상적인 사구체는 사구체를 구



**Fig. 2.** Special stainings for renal biopsy. On PAS stain(right upper), mesangium and basement membrane stain pink, blue on trichrome (left lower) and black on silver (PAM, right lower). ×200



**Fig. 3.** Normal glomerular structure seen on the electron microscope.

성하는 모세혈관의 내강이 잘 열려져 있다. 기저막이 두꺼워 지거나, 세포의 증식이 있는 경우는 내강이 좁아져 있거나 막혀 버린 것 같이 보인다(Fig. 3-5).

사구체의 세포수는 모세혈관 내강 한 개를 기준으로 혈관내피세포 1개, 족세포 1개 이면 혈관 내강 2-3개 사이에 혈관간부 세포는 1-2개이다(Fig.

4). 그러나 이것을 일일이 세는 것은 불가능하며 또한 병리학적 의미도 없다. 오히려 세포증식에 의해 내강이 밀려서 좁아지는 현상을 중심으로 보는 것이 더 의미가 있다. 실제 막증식성 사구체신염에서 세포의 증식에 의해 내강이 좁아져 있는 현상(Fig. 5)이 가장 뚜렷하게 보이는 현상이며, 막성 사구체신염에

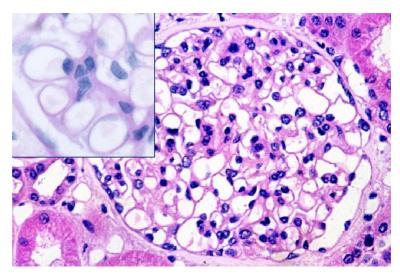
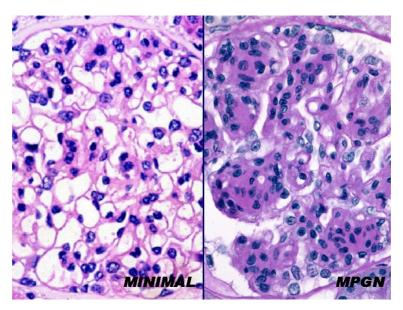


Fig. 4. Normal glomerular structure seen on the light microscope.



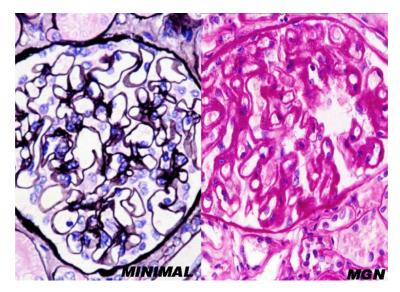
**Fig. 5.** Normal glomerulus (left) and membranoproliferative glomerulonephritis (right). Capillary lumina are closed or narrow because of cellular proliferative effect.  $\times 400$ .

서도 기저막이 두꺼워 짐으로서 정상과 비교해 보면 내강이 좁아진 현상(Fig. 6)을 잘 알 수 있다.

2) 병변이 침범하는 범위에 따라 생검 된 사구체수의 50% 이상이 병변을 가질 때 미만성(diffuse), 그 이하 일 때 국소성(focal) 이라고 한다. 또한 한 개의 사구체 내에서도 일부에서만 병변이 있을 때를

분절성(segmental)이라고 하고 전부를 침범 한 경우를 구형성(global)이라고 부른다(Fig. 7).

미만성 병변은 미세변화 신질환, 막성 사구체신 염, 막증식성 사구체 신염이 대표적이며 IgA 신증과 루푸스 신염의 미만성 형태를 제외하고는 대부분의 신염이 국소성 변화이며 국소성 분절성 사구체신염



**Fig. 6.** Normal glomerulus (left) and membranous glomerulopathy (right). Capillary lumina are narrow because of wall thickening.  $\times 400$ .

# Diffuse vs Focal Global vs Segmental

Diffuse: A lesion involving most (≥50%) glomeruli Focal: A lesion involving <50% of glomeruli

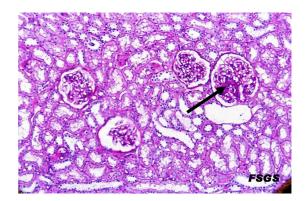
Fig. 7. Schematic explanation of diffuse and focal as well as segmental and global.

이 대표적이다(Fig. 8).

### 2. 면역형광현미경 검사

동결절편기를 이용하여 -20℃ 이하에서 조직을 2-4 µm 정도로 얇게 절편을 만든다.

염색은 기본적으로 IgG, IgM, IgA 면역 글로불린과 C3, C1q 보체를 염색한다. 질환에 따라 특징적인모습과 침윤되는 부위의 차이, 그리고 침윤되는 종류



**Fig. 8.** Focal segmental glomerulosclerosis. There are four glomeruli in this picture. Left side three glomeruli look normal; no cellular proliferation or sclerosis. The right glomerulus (arrow) is enlarged and segmental occlusion of capillary lumina (sclerosis). ×100.

에 따라 진단의 열쇄를 제공한다. IgA 신증인 경우 IF 검사에 의해서 발견되었고, 루푸스 신염의 경우이 다섯 가지 성분이 모두 침착된다고 하여 "full house pattern" 이라고 부른다.

면역형광현미경을 통해서 관찰하여 침착된 물질의 형광 발광도에 따라 0, 1+, 2+, 3+로 구별한다. 어떤 병리과에서는 4+를 쓰기도 한다. 이런 강도의

정도와 침착이 일어난 위치가 진단에 단서를 제공해 준다. 막성 사구체신염의 경우 IgG가 사구체 모세혈 관을 따라서 침착됨이 특징이며 IgA신증인 경우는 IgA가 혈관간부에 침착되는 것으로 진단한다(Fig. 9).

다발성 골수암(multiple myeloma), 유전분증 (amyloidosis), 경쇄 침착성 신병증(light chain deposition disease) 등의 진단과 감별을 위해서는 κ 및 λ chain 염색을 시행하며 섬유소의 침착, 혈전의 확인 및 반월상(crescent) 등의 확인에는 fibrin 염색이 유용하다.

이식신장에서는 항체 매개성 거부반응(antibody mediated rejection)을 진단하기 위해서 C4d를 필수로 염색하고 있다. IgA 신병증이 면역형광현미경 검사가 있어야 진단할 수 있듯이 항체 매개성 거부반응은 C4d가 세뇨관 주변 모세혈관벽(peritubular capillary)에 침착됨이 관찰되어야 확진할 수 있다.

### 3. 면역조직화학 검사

이 검사를 위해서는 광학현미경용으로 제작한 파라핀 블록을 사용하면 된다. 면역형광 현미경 검사에서 관찰하는 여러 가지 항체를 파라핀 절편에 염색할

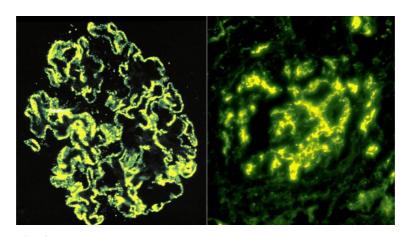
수 있다. 그러나 염색의 안정성이 다소 떨어지고 주변과 대비가 잘 되지 않는 경우들이 있어서 아직도 항체 조사를 위해서는 면역형광현미경 검사를 선호하고 있다. 따라서 필수 검사라기보다는 면역형광 현미경 검사용 조직에서 사구체가 없는 경우, 혹은 부득이 면역용으로 조직을 채취하지 못한 경우 등에서 대체용으로 이용되고 있다(Fig. 10).

그러나 이식 신장 표본에서 BK virus 감염의 진단을 위한 SV40 염색, CMV 등의 바이러스 감염을 진단하기 위한 항체염색 등은 면역조직화학 검사로시행되고 있다.

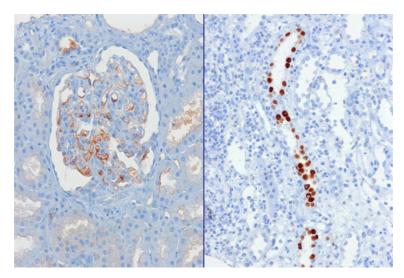
파라핀 블록은 조직을 반영구적으로 보관할 수 있으므로, 각종 항체에 후향적(retrograde) 연구를 위해 면역조직화학 검사는 중요하게 활용되고 있다.

### 4. 전자현미경 검사

사구체의 미세 구조를 관찰하기 위한 전자현미경 검사를 위해서는 조직을 50-80 nm로 얇게 잘라야 한다. 이렇게 하기 위해서는 glutaraldehyde라는 특수한 고정액을 비롯하여 여러 정교한 조직처리과 정을 거친다. 최종적으로 epoxy 혼합물(epon mix-



**Fig. 9.** Immunofluorescence pictures. The left shows granular deposits along the capillary wall, which is characteristic feaures of membranous glomerulo-nephropathy (IgG,  $\times$ 200). The right shows mesangial deposits in IgA nephropathy. It looks like branching of tree (IgA,  $\times$ 200).



**Fig. 10.** Imumohistochemistry of Ig A nephropathy (left,  $\times$ 200). Brown pigments are in mesangium, which are corresponding to IgA deposition. Right picture shows intranuclear positive of tubular epithelium. These are staining for BK virus antibody. ( $\times$ 200).

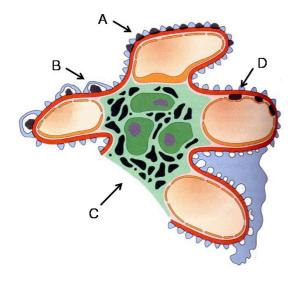


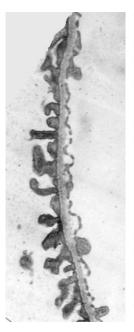
Fig. 11. Schema of preference sites of electron dense deposits for various glomerulopathies. A; epimembranous, membranous glomerulonephropathy, B; subepithelial, postinfectious glomerulonephritis, C; mesangial, IgA nephrotpathy, D; subendothelial, membranoproliferative glomerulonephritis, type I.

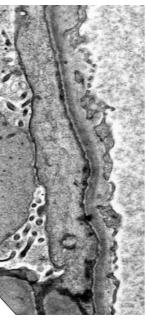
ture) 이란 수지에 조직을 포매하여 유리 및 다이아 몬드 칼로 절편을 만든다. 관찰 배율은 특수한 경우 이외에는 보통 3,000-5,000배이다. 전자현미경을 통해서 면역복합체의 침착이 어디에 어떤 형태로 일어났는가를 잘 관찰 할 수 있고 주로 잘 침착되는 부위와 관련된 질환은(Fig. 11)에 정리하였다. 모든 부위에 침착이 일어나는 질환은 루푸스 신염이다.

미세변화 신질환에서 나타나는 장측 상피세포의 족돌기(foot process)의 소실, 초박 사구체기저막 병(thin glomerular basement membrane disease)의 얇은 기저막 두께, Alport 증후군에서의 기저막 분열 등은 전자현미경으로만 진단 할 수 있다(Fig. 12). 루푸스 신염에서의 여러 가지 구조물, 유전분 증의 아밀로이드 세사의 확진, 바이러스 구조의 확인 등도 전자현미경으로 가능하다.

### 요 약

신장질환은 같은 병명의 환자 일지라도 개개인의 증상과 치료에 대한 반응 정도가 다를 수 있기 때문 에 신장병을 전공하는 임상의사는 신장병리에 대한 폭 넓은 지식이 치료에 많은 도움을 줄 수 있다. 이 논문에서는 생검 현장에서의 조직을 나누는 방법부





**Fig. 12.** Left shows glomerular basement membrane (GBM) of thin glomerular basement membrane disease. The thickness of GBM is about 150 nm. The foot processes are preserved well (×10,000). The right picture shows diffuse fusion of foot processes of minimal change disease. The thickness of GBM is in normal range; about 350 nm. (×10,000).

터 기본적인 조직처리 과정까지를 설명함으로써 병리의 이해를 넓히고자 하였다. 광학현미경 판독을 위해서는 기본적인 특수 염색의 색깔 감별, 정상 사구

체와 비정상 사구체의 감별점 등을 설명하였다. 면역 형광 현미경 소견의 이해를 돕기 위하여 전형적인 막 성사구체신병증과 IgA 신증의 침착 형태를 대표적 으로 설명하였다. 전자현미경 판독을 위해서 면역 복 합체인 고전자 밀도의 침착이 잘 생기는 부위를 질환 별로 설명하여 참고가 되도록 하였고 전자현미경으 로만 감별 가능한 질환들을 설명하였다.

이 논문은 신장질환의 병리학적 이해를 돕기 위한 소개에 불과하므로, 개별 질환의 판독을 위해서는 다 른 신장병리 교과서나 문헌을 참고하여야 한다.

### References

- 1) Walker PD. The renal biopsy. Arch Pathol Lab Med 2009;133:181-8.
- 2) Van Damme B, Van Damme-Lombaerts R, Water M. Biopsy device for obtaining kidney specimens. Pediatr Nephrol 1990;4:94-5.
- 3) Michel B, Milner Y, David K. Preservation of tissue-fixed immunoglobulins in skin biopsies of patients with lupus erythematousus and bullous diseases-preliminary report. J Invest Dermatol 1972;59:449-52.
- 4) Jennett JC, Olson JL, Silva FG, 6th ed. Heptinstall's pathology of the kidney. philadelphia, Pen: Lippincott Wiliams & Wilkins Co, 2003:100-8.