Original article

J Korean Soc Pediatr Nephrol 2012;16:73-79
DOI: http://dx.doi.org/10.3339/jkspn.2012.16.2.73

ISSN 1226-5292 (print)
ISSN 2234-4209 (online)

소아 IgA 신병증 환자에서 미토콘드리아 DNA 돌연변이 분석

인제대학교 의과대학 부산백병원 소아청소년과학교실, 심혈관 대사질환 센터*, 레고켐 바이오사이언스†

엄태민 · 장창한* · 김형규* · 김나리* · 정윤서† · 한 진* · 정우영

Mutational Analysis of Mitochondria DNA in Children with IgA Nephropathy

Tae Min Eom, M.D., Chang-Han Jang*, Hyoung Kyu Kim, Ph.D.*, Nari Kim, M.D., Ph.D.*, Yun Seo Chung†, Jin Han, M.D.,Ph.D.*, and Woo Yeong Chung, M.D.,Ph.D.

Department of Pediatrics, Cardiovascular and Metabolic Disease Center*, Busan Paik Hospital, Inje University, Busan, Korea
Legochem Bioscience† , Dae Jeon, Korea

Corresponding Author: Woo Yeong Chung
Department of Pediatrics, Busan Paik Hospital, Inje University, Busan, Korea
Tel: 051)890-6280, Fax: 051)896-4515
E-mail: chungwy@chol.com

This work was supported by Grant from Inje University, 2009

Received: 3 September 2012
Revised: 17 September 2012
Accepted: 19 September 2012

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http:// creativecommons.org/licenses/bync/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Purpose: The association of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations, deletions and copy number with progressive changes in patients with some glomerular disease and end-stage renal disease have been reported. In this study, we performed mtDNA mutation analysis in children with IgA nephropathy to investigate its role in progressive clinical course.

Methods: Seven children with IgA nephropathy were involved in this study. MtDNA isolated from platelet was amplified by PCR and sequenced entirely.

Results: The mean age at renal biopsy was 11.5±2.2 year and the mean age at latest evaluation was 17.9±3.2 year. The mean follow-up period were 7.8±3.1 years. Patients was divided into 2 groups according to the amount of proteinuria at presenting manifestation. Group 2 patients were nephrotic syndrome. Renal function reveals within normal range in all patients. In group 2 patients, the mean serum albumin level was significantly lower than those of group 1 (3.7± 0.6 g/dL vs. 4.7±0.2 g/dL, P=0.0241) and the mean total cholesterol level was significantly higher than those of group 1 (222.7±35.7 mg/dL vs. 148.3±29.1 mg/dL, P=0.0283). In Group 2 patients, total amount of protein of 24 hour collected urine also significantly higher than those of group 1 (1,466.0±742.5 mg vs. 122.5±48.1 mg, P=0.0135). Pr/Cr ratio in random urine sample was also higher in group 2 than those of group 1 but the statistical significance was not noted (1.8±1.6 vs. 0.2±0.2, P=0.0961). Deletion of mtDNA nt 8272-8281 were observed in two patients, one patient in each groups, respectively. This is non-coding lesion. No patients demonstrated the mtDNA mutations.

Conclusions: We have identified a deletion of mtDNA nt 8272-8281 in two children with IgA nephropathy. Further studies are needed to clarify the role of mitochondrial function in the progressive change of IgA nephropathy.

Key Words: IgA nephropathy, Proteinuria, Mitochondria DNA, Deletions, Children

Copyright © 2012 The Korean Society of Pediatric Nephrology

서론

미토콘드리아는 세포내 소기관으로서 체내 각 세포에 존재하며 세포기능유지에 필수적인 ATP의 생산에 관여한다. 또한 각종세포에서 면역반응유도에 관여할 뿐 아니라 세포내 · 외부적 신호전달에 의해 일어나는 cytochrome C 방출 등을 통해 세포의 유연성과 기능조절에도 영향을 미친다[1]. 미토콘드리아는 적혈구를 제외한 모든 세포내에 존재하므로 미토콘드리아의 기능 이상은 필연적으로 다양한 장기에 영향을 미치게되며 또한 미토콘드리아 단백질 생산, 대사 중간 물질의 분해와 합성, 활성 산소의 생성 등에도 변화를 야기한다[2].

미토콘드리아 기능 이상 혹은 질환은 대부분 미토콘드리아 DNA (mt DNA)의 point mutation 혹은 deletion에 기인한다[3]. 일반적으로 핵 DNA 돌연변이는 유아기에 발현되지만, 미토콘드리아 DNA 돌연변이는 늦은 유년기 혹은 성인기에 나타난다. 미토콘드리아 질환 발생시 대부분의 경우에서는 복합적인 임상양상을 보이는데 특히 신경계 혹은 근육계 전체에 동시다발적으로 현저한 영향을 나타낸다. 신장 침범은 5% 정도로 보고되어 있다[4].

일부 사구체 질환 그리고 말기 신부전 환자를 대상으로 한 연구들에서 미토콘드리아 DNA 특정부위에서의 돌연변이, deletion 그리고 mtDNA copy 수 등이 질환의 예후적인 경과와 관련 있음이 보고되었다[5-9]. Yamagata 등[5]은 일차성 초점성 분절성 사구체 경화증(FSGS) 환자와 IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS 환자들을 대상으로 신장 조직을 이용한 mtDNA 분석 연구에서 사구체 상피세포의 3243A→G point 돌연변이와 common deletion (nt 8470-13,447 사이의 4977 bp deletion)이 사구체 상피세포의 손상과 관련이 있다고 주장하였다. Lim 등[6]은 만성 요독증을 앓고 있는 말기 신부전 환자들의 골격근에서 common deletion이 일반인에 비해 높은 빈도로 관찰되며, 나이가 많은 환자군에서 젊은 환자군에 비해 발생빈도가 더 높다고 하였다. Rao 등[7]도 혈액투석을 받고 있는 180명의 환자들을 대상으로 한 연구에서 $mtDNA^{4977}$ deletion 돌연변이와 mtDNA copy 수가 환자의 생존 예후를 예견해 줄 수 있는 유용한 생물학적 마커라고 주장하였다.

IgA 신병증은 소아 연령에서 가장 흔히 발견되는 사구체 질환중의 하나로 반복성 육안적 혈뇨, 무증상성 현미경적 혈뇨 , 단독 단백뇨, 신증후군 등의 다양한 임상 소견을 보인다. 소아 IgA 신병증은 초기에는 양성경과를 취하는 것으로 간주되었으나 장기적인 예후 관찰 결과들이 보고되면서 소아에서도 성인에서와 같이 점진적인 신기능 저하로 진행될 수 있다는사실이 증명되었다[10-12]. 소아 IgA 신병증의 경과 및 예후를 임상적으로 예측할 수 있는 요인들로는 진단당시의 나이, 성별, 혈청 크레아티닌 치, 단백뇨의 정도, 고혈압, 병리 조직학적 변화 등이 인정되고 있는데, 특히 심한 단백뇨는 많은 연구자들에 의해 다변량 변수 분석을 실시했을 때 가장 강력한 예후 인자임이 밝혀졌다[13, 14].

연구자들은 소아 IgA 신병증 환자를 대상으로 혈소판을 이용한 미토콘드리아 DNA 전체 염기서열 분석을 실시하였다. 특히 단백뇨 정도와 미토콘드리아 mtDNA 돌연변이 사이에 연관성이 있는지를 살펴보았다.

대상과 방법

1. 대상

인제의대 부산백병원 소아청소년과에서 신생검을 실시하여 IgA 신병증으로 확진된 7명의 환자를 대상으로 하였다. 세명의 환자는 신증후군의 임상양상을 보였고, 나머지 4명은 2년 이상의 현미경적 혈뇨와 육안적 혈뇨를 보여 신장조직검사를 시행하였다. 대상 환아들은 동반된 전신질환이 없고 가족력상 신장질환이 없는 경우로 국한 하였다. 신생검 당시 혈청 크레아티닌 치와 사구체 여과율은 모두에서 정상 범위였으며, 각각의 연령 대에 정상 범위의 혈압을 보였다. 환자의 성별은 남자 4명 여자 3명 이었다.

본 연구는 부산백병원 임상시험위원회의 심사 승인을 받았으며, 환자 및 보호자로부터 동의서를 취득하였다.

2. 방법

1) 미토콘드리아 DNA 염기서열 분석

IgA 신병증 환자의 혈액 10-20 mL에 4.6 mM의 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 를 넣어 원심분리하였다 (1,400×g, 3분). 상층액을 다른 튜브에 옮겨 다시 원심분리 (2,250×g, 15분) 후 상층층액 제거 후 침전물은 세척용액 (4.3 mM K_2HPO_4, 4.3 mM Na_2HPO_4, 113 mM NaCl, 4.4 mM NaH_2PO_4, and 5.5 mM glucose, pH 6.5) 10 mL에 재부유시킨 다음 다시 원심분리하였다(120×g, 7분). 상층액을 다른 튜브에 옮겨 다시 원심분리(2,000×g, 15분) 후 상층액 제거 후 침전물(혈소판 분획)은 1 mL의 세척 용액에 재부유시켰다. 미토콘드리아는 IgA 신병증으로 확진된 7명의 환자 혈소판에서 순수분리하였다. 50 mg 혈소판을 얼음에 보관한 용액(10 mM HEPES (pH 7.5), 1 mM EGTA, 200

mM mannitol, 60 mM sucrose, 5 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, protease inhibitors)에 넣고 균질분쇄 후 원심분리하였다 (1,000×g, 1분, 4℃). 상층액을 원심분리한 후 (10,000×g, 10분, for 10 min, 4℃) 미토콘드리아 분획을 얻었다. 순수 분리한 미토콘드리아는 10 mL DNase I와 RNase 용액(각각 61 U per 100 mL)과 반응시켰다. 남아있는 DNase의 활성을 억제하기 위해 2 mL 0.1 M trichloroacetic acid와 2분 간 반응시킨 후 HEPES-버퍼용액으로 2회 세척하였다. 최종적으로 미토콘드리아 DNA는 mtDNA extractor kit (Waco Chemicals GmbH, Germany)를 사용하여 추출하였다. 최종 미토콘드리아 농도는 260 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 순수분리된 미토콘드리아의 DNA는 Takara LA Taq DNA Polymerase (Takara Shuzo Co., Ltd., Japan)과 합성주문한 PCR 프라이머 (Bioneer, Korea)를 사용하여 증폭하였다. PCR 프라이머 염기서열은 Table 1과 같다. 템플릿 DNA 용액을 만들기 위해 순수분리한 미토콘드리아 DNA 샘플을 50 ng/μL으로 만들었다. 중합효소연쇄반응은 95℃에서 1분간 전변성(pre-denaturation), 94℃ 30초, 53℃ 30초, 72℃ 3분 변성을 32회 , 55℃에서 30초 annealing, 최종적으로 72℃에서 80초간 반응하였다. 유전자 염기서열 분석은 마크로젠 (Seoul, Korea)에 의뢰하여 분석하였다.

2) 통계분석

연구결과 얻어진 자료는 평균치±표준편차의 형태로 표기하였다. 평균치의 통계적인 유의성 분석은 student's t-test를 사용하였다. 모든 자료의 분석은 MediCalc (MediCalc Software, ver 11.02, Belgium)을 이용하였으며, 통계적인 검증의 유의수준은 $P<0.05$ 로 하였다.

결과

1. 환자의 임상적 특징

신생검 당시 환자들의 평균 나이는 11.5±2.2세 였으며 최종 추적검사 당시의 나이는 평균 17.9±3.2세 였다. 환자들의 추적관찰 기간은 평균 7.8±3.1년 이었다. 환자들은 입원당시의 단백뇨 정도에 따라 2군으로 분류하였다. 1군은 입원당시 단백뇨가 동반되지 않았던 환자들이며 2군은 신증후군의 임상 양상을 보인 환자들이었다.

최종 추적 관찰 당시 양군의 혈청 크레아티닌 치, BUN 치는 모두에서 정상 범위였다. 혈청 알부민 치는 2군에서 3.7±0.6 g/dL로 1군의 4.7±0.2 g/dL에 비해 유의하게 낮았으며(P=0.0241), 혈청 콜레스테롤치는 2군에서 222.7±35.7 mg/dL로 1군의 148.3±29.1 mg/dL 보다 유의하게 높았다(P=0.0283) (Table 2). 24시간 채집뇨상의 총단백량도 2군에서 1,466.0±742.5 gm으로 1군의 122.5±48.1로 유의하게 높았다(P=0.0135). 단회 소변을 이용한 단백/크레아티닌 비는 2군에서 1.8±1.6으로 1군의 0.2±0.2에 비해 높았으나(P=0.0961), 통계적인 유의성은 없었다.

2. 미토콘드리아 DNA 염기서열 분석

2 명의 환자에서 8272-8281 (CCCCCTCTA) 부위에서 염기서열 누락이 있음이 관찰되었다. 단백뇨 정도에 따라 분류한 두군 모두에서 각각 한명씩 염기서열 누락이 있었다(Fig. 1). 누락된 부위는 미토콘드리아 유래 발현되는 단백질 서열 등에 관련 없는 비부호화부위(non coding region) 이었다.

Table 1. Synthesized Primers used for PCR, Cloning and Sequencing

Primer set	Primer Name	sequence	PCR product size (bp)
1	Mito_PCR-1F	GAGCACCCTATGTCGCAGTA	2332
	Mito_PCR-1R	CCTGTGTTGGGTTGACAGTG	
2	Mito_PCR-2F	CTTTGCAAGGAGAGCCAAAG	3094
	Mito_PCR-2R	CAACTGCCTGCTATGATGGA	
3	Mito_PCR-3F	CACCTATCACACCCCATCCT	2135
	Mito_PCR-3R	GCAGCTAGGACTGGGAGAGA	
4	Mito_PCR-4F	GCCAGGCAACCTTCTAGGTA	2914
	Mito_PCR-4R	ATGGGGATAAGGGGTGTAGG	
5	Mito_PCR-5F	CGGGGGTATACTACGGTCAA	2854
	Mito_PCR-5R	TGTGAGGGGTAGGAGTCAGG	
6	Mito_PCR-6F	ACCCCTACCATGAGCCCTAC	2803
	Mito_PCR-6R	TGGAGTAGGGCTGAGACTGG	
7	Mito_PCR-7F	CATCCCTGTAGCATTGTTCG	2933
	Mito_PCR-7R	GTTTAAGGGGTTGGCTAGGG	
8	Mito_PCR-8F	ACATCGGCATTATCCTCCTG	1437
	Mito_PCR-8R	ATGGCCCTGAAGTAGGAACC	

8272-8281 부위를 제외한 미토콘드리아 DNA 염기서열은 모두 정상이었다.

고찰

포유류의 모든 세포들은 세포 기능을 유지하기 위해서

Table 2. Clinical and Laboratory Data in Children with IgA Nephropathy

	Group1(n=4)	Group2(n=3)	*P* value
Sex (M/F)	3/1	1/2	
Age at discovery of illness (years)	10.6±3.5	9.6±3.4	
Age at biopsy (years)	11.4±2.6	11.7±1.8	
Age at final follow-up (years)	17.1±5.0	18.7±2.9	
Duration of illness before biopsy (mos)	0.7±0.5	2.1±1.8	
Total duration (yr)	6.5±2.6	9.0±4.6	
BUN (mg/dL)	10.0±4.2	15.0±4.6	
Creatinine (mg/dL)	0.8±0.1	0.98±0.1	
Protein (g/dL)	7.4±0.5	6.8±0.5	
Albumin (g/dL)	4.7±0.2	3.7±0.6	0.0241
Total Cholesterol (mg/dL)	148.3±29.1	222.7±35.7	0.0283
IgG (mg/dL)	1,180.5±105.3	1,056.7±77.1	
IgA (mg/dL)	242.4±101.4	374.8±118.9	
IgM (mg/dL)	87.7±25.2	185.7±69.0	
Pro/cr	0.2±0.2	1.8±1.6	
Ccr (ml/min)	110±19.3	98.2±13.5	
24hr urine protein (gm/day)	122.5±48.1	1,466.0±742.5	0.0135

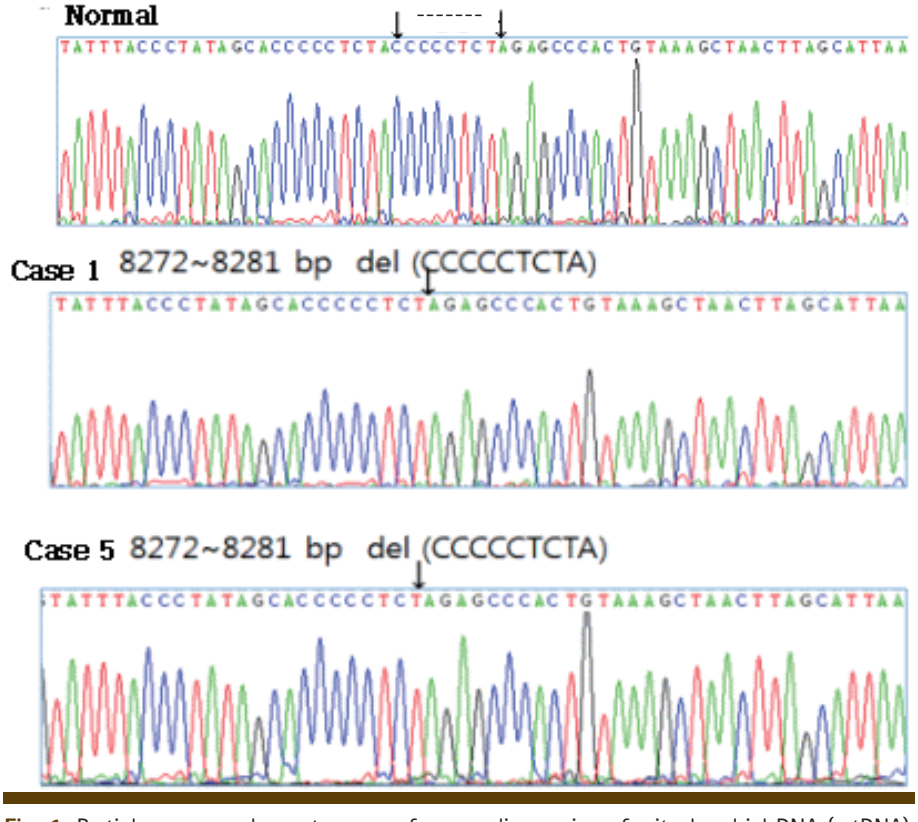

Fig. 1. Partial sequence chromatograms of non-coding region of mitochondrial DNA (mtDNA). Deletion (8272~8281 bp) were detected by direct sequencing of PCR-amplified products in patients with IgA nephropathy (case 1 and 5). Nucleotide changes were confirmed by replicate PCR amplification and sequence analysis from the same platelet mitochondrial mtDNA samples.

는 adenosine 5′-triphosphate (ATP)를 사용해야만 한다. ATP 생산은 미토콘드리아 세포 내막에서 산화적 인산화 과정을 필요로 하는데 산화적 인산화 과정을 통한 정상적인 ATP 생산은 두 개의 게놈, 즉 핵 DNA와 mtDNA, 발현을 필요로 하는 복잡한 과정을 거치게 된다. 산화적 인산화 과정에는 83종의 각각 다른 protein subunit들이 관여하는데 이중 13개의 단백질은 mtDNA에 의해 encode 된다. 이런 산화적 인산화에 관여하는 효소이외에도 mtDNA는 22 tRNAs와 2 rRNAs도 encode 한다. 인간의 mtDNA는 16,569 bp 길이를 가지며 37개 encoding regions들이 intron 없이 조밀하게 연결되어 있다[2].

미토콘드리아를 다른 세포 소기관으로부터 구분 짓게 되는 독특한 생물학적인 특징은 유일하게 자신의 DNA를 가지고 있다는 점이다. 미토콘드리아는 단지 13개의 단백질만을 전사하는 조밀한 환형의 DNA를 가지고 있으며, 자신의 mtDNA를 전사 복제하고, 중요한 단백질들은 핵 DNA 산물을 이용한다. 미토콘드리아의 DNA polymerase, 전사기전, 리보좀 단백질들은 여러 가지 세포 구역에 작용하는 유전자를 생산하는 기능을 가진다. 이러한 유전적인 양분성이 핵과 미토콘드리아 유전자 발현의 미묘한 조절을 필요로 하게 된다. 그러나 이러한 유전자 조절에 대하여서는 알려진 바가 매우 적으며, 특히 질병의 상태에서는 조절의 불균형이 나타날 것으로 보인다.

미토콘드리아의 기능 이상 혹은 질환은 대부분 미토콘드리아 DNA (mt DNA)의 point mutation 혹은 deletion에 기인한다[3]. 1988년초 Scholte 등에 의해 미토콘드리아 기능을 조절하는 핵 유전자 결손에 의한 질환이 60건 이상 보고되었다[15]. 1988년 myoclonus epilepsy with ragged red fibers(MERRF)로 알려진 질환이 mtDNA 돌연변이에 의한다는 사실이 증명된 이후부터 인간 mtDNA 돌연변이에 대한 연구가 본격화되었다[16]. 현재까지 미토콘드리아 호흡전달계 이상과 관련된 30개 이상의 돌연변이와 다양한 질환들에서 mtDNA 돌연변이와의 연관성이 밝혀져 있다.

미토콘드리아 기능 이상 혹은 질환은 때로 신장 기능 이상을 초래할 수 있다. 미토콘드리아 질환에서 관찰되는 신장 병변은 대부분 환자들에서 신장에 국한되지 않고 복합장기 이상의 임상 양상을 흔히 나타낸다. 보고된 신장의 이상은 대부분 proximal tubulopathy 이지만 tubulointerstitial nephritis, 사구체 질환 혹은 신증후군 등도 있다[17]. 이중 proximal tubulopathy가 가장 흔히 관찰되는데 대부분은 Fanconi 증후군에 동반된다[9]. Tubulointerstitial nephritis 는 현재까지 소수만이 보고되어 있는데 이 중 일부 환자는 2.6-2.7 kb deletion이 동반되었으며, 모계 유전을 보인 3명의 환자는 noncoding nucleotide 부위의 point mutation이 있었다[18, 19]. 그러나 이 부위에서의 point mutation의 의의에 대해서는 논란이 있다. Tzen 등[20]은 가족력이 있는 한 가족에서 2명의 소아가 발육장애, 경련 그리고 신부전이 동반된 임상 양상을 보이면서 신장조직검사에서 tubulointerstitial nephritis의 병리조직 소견을 나타내며 mtDNA A608G mutation이 증명된 증례를 보고하였다. 사구체 질환은 대부분 초점성 분절성 사구체 경화증(FSGS) 환자에서 보고되었다. Yamagata 등[5]은 일차성 FSGS 환자와 IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS 환자들을 대상으로 신장 조직을 이용한 mtDNA 분석 연구에서 상피세포의 3243A→G point 돌연변이와 common deletion (mt 8470-13,447 사이의 4,977 bp deletion)이 사구체 상피세포의 손상과 관련이 있다고 주장하였다. mtDNA point mutation은 familial FSGS 환자에 국한되었으며 일차성 FSGS나 IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS 환자들에서는 관찰 되지 않았다. MtDNA common deletion은 일차성 FSGS의 58.8%, IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS의 43.8%에서 동반되었다. 특히 IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS 환자들의 경우 common deletion이 있는 경우에서 사구체에 segmental 병변이 유의하게 증가되어 있으며, 단백뇨도 더 많았다. 그러나 common deletion이 있는 환자들의 나이가 더 많아서 연령이 common deletion에 미치는 영향을 고려하면 IgA 신병증을 동반한 이차성 FSGS 환자들에서 common deletion의 명확한 역할의 규명은 제한적 이었다.

Simononetti 등[21]은 고령의 정상인에서 채취한 신조직에서 mtDNA common deletion은 관찰되지 않았다고 보고하였고, Lie 등[22]도 37세 미만의 정상인 신조직에서 mtDNA common deletion은 관찰되지 않으며 최대 돌연변이 비율은 0.001%라고 하였다. 그러나 Hayashi 등[23]은 cytochrome c oxidase activity를 저하시켜 미토콘드리아의 기능이상을 초래할려면 >60% common deletion이 필요하다고 주장하였다. 따라서, 위의 IgA 신병증 연구에서 보이는 common deletion이 연령에 의한 것일 가능성은 적다 하겠다. 한편 Inoue 등[24]은 mtDNA deletion mouse model을 이용한 실험에서 신조직에서 >80% deletion mutation이 야기되면 중증의 신부전이 일어나고 6개월 이내에 사망한다는 결과를 보고하면서 mouse model에서 mtDNA 돌연변이의 영향을 가장 민감하게 받는 곳이 신장이라고 하였다.

미토콘드리아 돌연변이 연구에서 사용하는 검체에 따른 검사결과의 일치성에 대한 연구는 매우 제한적이다.

Yamagata 등[5]의 연구는 신조직을 이용하였으나 본 연구는 혈소판을 이용하였다. Feigenbaum A 등[25]은 mtDNA novel mutation을 보고하면서 환자 및 가족들의 혈액, 신장, 근육, 모낭, 구강점막세포 등을 이용한 돌연변이 검사에서 돌연변이 검출 빈도의 차이는 있으나 동일한 결과를 얻었다고 하였다. Amyotrophic lateral sclerosis 환자와 multiple sclerosis 환자에서도 혈소판을 이용하여 mtDNA를 입증하였다[26, 27].

미토콘드리아 단백질과 중간 대사산물들은 에너지 대사에 관여할 뿐만 아니라 다양한 세포내에서 다양한 대사과정에도 관여한다. 미토콘드리아 oxidant production도 혈관 병태생리에 참여하는 다양한 인자들에 의해 영향을 받는다. 이중에서 안지오텐신 II는 미토콘드리아 oxidant 분비를 자극하여 에너지 대사를 저하시킨다[28]. 미토콘드리아 oxidant 생성을 억제시키면 안지오텐신 II 억제가 야기되어 에너지 생성을 증가시키며 미토콘드리아의 형태 변형을 보호해준다. 이는 안지오텐신 II 억제가 고혈압, 당뇨 그리고 노화에 있어서 도움이 되는 기전의 하나로 여겨진다. 따라서 신장질환의 경과에 있어서 미토콘드리아의 중요성에 대한 연구가 필요하다고 생각한다.

본 연구에서는 IgA 신병증의 불량한 예후 인자로 잘 알려진 단백뇨의 정도를 기준으로 2군으로 나누어서 미토콘드리아의 염기서열을 분석하였다. 모든 환자에서 염기서열의 돌연변이는 관찰되지 않았다. Common deletion 부위에 해당하는 8,272-8,281 bp의 deletion이 관찰되어 28.6%의 빈도를 보였다. 그러나 양 군 모두에서 각각 1명씩의 환자에서 deletion이 관찰 되었다. 지금까지 보고된 IgA 신병증 환자들의 나이에 비해 매우 어린 나이임을 감안해 보면 mtDNA common deletion이 나이에 의해 영향을 받았을 가능성은 매우 낮다고 생각한다.

비록 본 연구가 분석한 환자의 증례 수가 적으며, mtDNA 염기서열 분석을 혈소판을 이용했다는 제한점을 가지고 있지만 소아 IgA 신병증에서도 mtDNA common deletion이 증명됨으로해서 향후 소아 IgA 신병증에서 미토콘드리아의 기능 이상이 임상적 경과에 미치는 영향에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각한다.

요약

목적: 일부 사구체 질환 그리고 말기 신부전 환자를 대상으로 한 연구들에서 특정 부위의 돌연변이와 deletion 그리고 미토콘드리아 DNA copy 수 등이 예후적인 경과와 관련이 있다는 주장이 제기되었다. 연구자들은 소아 IgA 신병증 환자를 대상으로 혈소판을 이용한 미토콘드리아 DNA 전체 염기서열 분석을 실시하였다.

방법: 인제의대 부산백병원 소아청소년과에서 신생검을 실시하여 IgA 신병증으로 확진된 7명의 환자를 대상으로 하였다. 대상 환아들은 동반된 전신질환이 없고 가족력상 신장질환이 없는 경우로 국한 하였다. 신생검 당시 혈청 크레아티닌 치와 사구체 여과율은 모두에서 정상 범위였으며, 각각의 연령 대에 정상 범위의 혈압을 보였다. 환자의 성별은 남자 4명 여자 3명 이었다. 환자들은 단백뇨의 정도에 따라 두 군으로 분류하였다.

결과: 신생검 당시 환자들의 평균 나이는 11.5±2.2세 였으며 최종 추적검사 당시의 나이는 평균 17.9±3.2세 였다. 환자들의 평균 추적관찰 기간은 평균 7.8±3.1년 이었다. 환자들은 입원당시 단백뇨의 정도에 따라 2군으로 분류하였다. 1군은 입원당시 단백뇨가 동반되지 않았던 환자들이며 2군은 신증후군의 임상 양상을 보인 환자들이었다. 최종 추적 관찰 당시 양군의 혈청 크레아티닌 치, BUN은 모두 정상 범위였다. 혈청 알부민 치는 2군에서 3.7±0.6 g/dL로 1군의 4.7±0.2 g/dL에 비해 유의하게 낮았으며(P=0.0241), 혈청 콜레스테롤치는 2군에서 222.7±35.7 mg/dL로 1군의 148.3±29.1 mg 보다 유의하게 높았다(P=0.0283). 24시간 채집뇨상의 총단백량도 2군에서 1,466.0±742.5 gm으로 1군의 122.5±48.1 gm에 비해 유의하게 높았다(P=0.0135). 단회 소변을 이용한 단백/크레아티닌 비는 2군에서 1.8±1.6으로 1군의 0.2±0.2에 비해 높았으나(P=0.0961), 통계적인 유의성은 없었다. 2명의 환자에서 8,272-8,281 (CCCCCTCTA) 부위 염기서열 누락을 관찰되었다. 단백뇨 정도에 따라 분류한 두군 모두에서 각각 한명씩 염기서열의 누락이 있었다. 누락된 부위는 미토콘드리아 유래 발현되는 단백질 서열 등에 관련 없는 비부호화부위(non coding region) 이었다. 8,272-8,281 부위를 제외한 미토콘드리아 DNA 염기서열은 모두 정상이었다.

결론: 소아 IgA 신병증에서도 mtDNA common deletion이 증명됨으로해서 향후 소아 IgA 신병증에서 미토콘드리아의 기능 이상이 진행성 임상적 경과에 어떠한 영향을 미칠 수 있는 지에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각한다.

References

1) Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. Science 2004;305:626-9.

2) Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981;290:457-65.

3) Holt IJ, He J, Mao CC, Boyd-Kirkup JD, Martinsson P, Sembonqi H et al. Mammalian mitochondrial nucleoids: organizing an independently minded genome. Mitochondrion 2007;7:311-21.

4) Rotig A. Renal disease and mitochondrial genetics. J Nephrol 2003;16:286-92.

5) Yamagata K, Muro K, Usui J, Hagiwara M, Kai H, Arakawa Y, et al. Mitochondrial DNA mutations in focal segmental glomerulosclerosis lesions. J Am Soc Nephrol 2002;13:1816-23.

6) Lim PS, Cheng YM, Wei YH. Large-scale mitochondrial DNA deletions in skeletal muscle of patients with end-stage renal disease. Free Radical Biology & Medicine 2000;29:454-63.

7) Rao M, Li L, Demello C, Guo D, Jaber BL, Pereira B et al. Mitochondrial DNA injury and mortality in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 2009;20:189-96.

8) Lee JE, Park HS, Ju YS, Kwak MH, Kin JI, Oh HY, et al. Higher mitochondrial DNA copy number is associated with lower prevalence of microalbuminuria. Exp Mol Med 2009;41:253-8.

9) Au KM, Lau SC, Mak YF, Lai WM, Chow TC, Chen ML, et al. Mitochondrial DNA deletion in a girl with Fanconi`s syndrome. Pediatr Nephrol 2007;22:136-40.

10) D´Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy and factors predictive of disease outcome. Semin Nephrol 2004;24:179-96.

11) Schena FP. A retrospective analysis of the natural history of primary IgA nephropathy worldwide. Am J Med 1990;89:209-15.

12) Wyatt RJ, Kritchevsky SB, Woodford SY, Miller PM, Roy S III, Holland NH. IgA nephropathy: long-term prognosis for pediatric patients. J Peditr 1995;127:913-9.

13) Droz D, Kramar A, Nawar T, Noel LH. Primary IgA nephropathy: prognostic factors. Contrib Nephrol 1984;40:202-7.

14) Remuzzi A, Perticucci E, Ruggenenti P, Mosconi L, Limona M, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy. Kidney Int 1991;39:1267-73.

15) Scholte HR. The biochemical basis of mitochondrial diseases. J Bioenerg Biomembr 1988;20:161-91.

16) Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. Science 1999;283:1482-8.

17) Buemi M, Allegra A, Rotig A, Gubler MC, Aloisi C, Corica F et al. Renal failure from mitochondrial cytopathies. Nephron 1997;76:249-53.

18) Szabolcs MJ, Seigle R, Shanske S, Bonilla E, DiMauro S, D´Agati V. Mitochondrial DNA deletion: a cause of chronic tubulointerstitial nephropathy. Kidney Int 1994;45:1388-96.

19) Rotig A, Goutieres F, Niaudet P, Rustin P, Chretien D, Guest G et al. Deletion of mitochondrial DNA in patient with chronic tubulointerstitial nephritis. J Pediatr 1995;126:597-601.

20) Tzen CY, Tsai JD, Wu TY, Chen BF, Chen ML, Lin SP, et al. Tubulointerstitial nephritis associated with a novel mitochondrial point mutation. Kidney International 2001;59:846-54.

21) Simonetti S, Chen X, DiMauro S, Schon EA. Accumulation of deletions in human mitochondrial DNA during normal aging: analysis by quantitative PCR. Biochim Biophys Acta 1992;1180:113-22.

22) Lie VW, Zhang C, Nagley P. Mutations in mitochondrial DNA accumulate differentially in three different human tissues during ageing. Nucleic Acids Res 1998;26:1268-75.

23) Hayashi J, Ohta S, Kikuchi A, Takemitsu M, Goto Y, Nonaka I. Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:10614-8.

24) Inoue K, Nakada K, Ogura A, Isobe K, Goto Y, Nonaka I, et al. Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes. Nat Genet 2000;26:176-81.

25) Feigenbaum A, Bai RK, Doherty E, Kwon H, Tan D, Sloane AQ et al. Novel mitochondrial DNA mutations associated with myopathy, cardiomyopathy, renal failure, and deafness. Am J Med Genet Part A 2006;140A:2216-22.

26) Gajewski CD, Lin MT, Cudkowicz ME, Beal MF, Manfredi G. Mitochondrial DNA from platelets of sporadic ALS patients restores normal respiratory functions in p0cells. Exp Neurol 2003;179:229-35.

27) Slee M, Finkemeyer J, Krupa M, Raghupathi R, Gardner J, Blumbergs P. A novel mitochondrial DNA deletion producing progressive external ophthalmoplegia associated with multiple sclerosis. J Clin Neurosci 2011;18:1318-24.

28) Cavanagh EMV, Inserra F, Ferder M, Ferder L. From mitochondria to disesse: role of the renin-angiotensin system. Am J Nephrol 2007;27:545-53.