

이식신 계획생검 및 재생검에서 Kidney Injury Molecule-1 표현과 이식신 기능 변화

연세대학교 의과대학 병리학교실¹, 외과학교실², 연세대학교 장기이식연구소³, 연세대학교 의과대학 내과학교실⁴

김연희¹ · 이아란^{2,3} · 김명수^{2,3} · 주동진^{2,3} · 김범석⁴ · 허규하^{2,3} · 김순일^{2,3} · 김유선^{2,3} · 정현주^{1,3}

Changes of Kidney Injury Molecule-1 Expression and Renal Allograft Function in Protocol and for Cause Renal Allograft Biopsy

Yonhee Kim, M.D.¹, A-Lan Lee, M.D.^{2,3}, Myoung Soo Kim, M.D.^{2,3}, Dong Jin Joo, M.D.^{2,3}, Beom Seok Kim, M.D.⁴,
Kyu Ha Huh, M.D.^{2,3}, Soon Il Kim, M.D.^{2,3}, Yu Seun Kim, M.D.^{2,3} and Hyeon Joo Jeong, M.D.^{1,3}

Departments of Pathology¹ and Surgery², Yonsei University College of Medicine, Research Institute for Transplantation, Yonsei University³, Department of Internal Medicine⁴, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Kidney injury molecule-1 (KIM-1) is known as a good ancillary marker of acute kidney injury (AKI) and its expression has also been observed in acute rejection and chronic graft dysfunction. We tested usefulness of KIM-1 as an indicator of acute and chronic renal graft injury by correlating KIM-1 expression with renal graft function and histology.

Methods: A total of 133 zero-time biopsies and 42 follow-up biopsies obtained within 1 year posttransplantation were selected. Renal tubular KIM-1 staining was graded semiquantitatively from 0 to 3 and the extent of staining was expressed as the ratio of KIM-1 positive/CD10 positive proximal tubules using Image J program.

Results: KIM-1 was positive in 39.8% of zero-time biopsies. KIM-1 positive cases were predominantly male and had received grafts from donors with older age, deceased donors, and poor renal function at the time of donation, compared with KIM-1 negative cases. KIM-1 expression showed correlation with delayed graft function and acute tubular necrosis. In comparison of KIM-1 expression between stable grafts (n=23) and grafts with dysfunction (n=19) at the time of repeated biopsy, the intensity/extent of KIM-1 staining and renal histology at zero-time did not differ significantly between the two groups. Histologically, KIM-1 expression was significantly increased with both acute and chronic changes of glomeruli, tubules and interstitium, peritubular capillaritis, and arteriolar hyalinosis.

Conclusions: KIM-1 can be used as an ancillary marker of AKI and a nonspecific indicator of acute inflammation and tubulointerstitial fibrosis. However, KIM-1 expression at zero-time is not suitable for prediction of long-term graft dysfunction.

Key Words: Kidney injury molecule-1, Acute kidney injury, Graft dysfunction, Histology

중심 단어: 신손상분자-1, 급성신손상, 이식신기능부전, 조직생검

서론

Received May 20, 2014

Revised August 7, 2014

Accepted August 10, 2014

Corresponding author: Hyeon Joo Jeong

Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine,
50-1, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel: 82-2-2228-1766, Fax: 82-2-362-0860
E-mail: jeong10@yuhs.ac

Kidney injury molecule-1 (KIM-1)은 1형 막횡단 단백질 (transmembrane protein)로 사람에서는 약 90 kD의 분자량을 가지고 있다. KIM-1은 정상 신장에서는 표현되지 않으나 신장에 허혈손상이 가해지면 토리쪽곰슬세관의 꼭대기

쪽 막(apical membrane)에 선택적으로 표현된다. KIM-1은 비교적 허혈의 초기부터 요세관에 발현되고 민감도가 높아, 신장이식 환자(1) 또는 심장 수술 환자(2)의 소변에서 KIM-1을 측정함으로써 급성 신장 손상(acute kidney injury, 이하 AKI)을 조기에 진단할 수 있는 표지자로 이용되어왔다. KIM-1은 요세관의 자가 용해에 영향을 받지 않으며, 요세관의 형태학적 손상이 분해되기 전에 표현될 수 있어(3), 조직 상태가 좋지 않은 사체의 신장 조직에서도 AKI를 검출해 낼 수 있는 장점이 있다(1,4).

최근 KIM-1 발현이 AKI외에도 여러 종류의 신장 손상에서 보고되었으며, 예후인자로서의 유용성이 기술되었다. 시클로스포린(5)이나 겐타마이신(6), 카드뮴(7), 시스플라틴(8) 등 약물이나 중금속에 의한 실험 동물의 요세관 손상에서 KIM-1 표현이 증가되어 약물 독성에 대한 모니터링에 유용한 표지자로 이용될 수 있음이 보고되었다(6,9). 이식 환자에서는 소변 내 KIM-1 수치가 신장 기능 저하율이나(10) 이식신 소실에 대한 예측인자로 보고되었을 뿐 아니라(11), 이식신 조직 내 KIM-1 표현이 급성 거부반응이나 만성 이식신 기능 부전과도 관련 있다고 하였다(12). 이외에도 KIM-1은 사구체질환이나 대사성 신증에서도 표현될 수 있다. 아드리아마이신에 의해 유도된 신증(13)이나 단백질과부하신증(14) 등 실험적으로 유도한 사구체신염과 사람의 immunoglobulin A (IgA) 신염(15,16), 요산염콩팥병(17)에서도 소변 내 KIM-1 배설과 단백뇨와의 관련성이 보고된 바 있다. 최근 루프스신염 환자(18)나 IgA신염 환자(19)에서 소변과 조직 내 KIM-1 표현간의 상관성이 보고되었으며, KIM-1의 표현 정도가 신장 기능 및 예후와 관련된다고 하였다. 이 결과들을 토대로 추정하면 KIM-1은 신장이식 환자에서 AKI, 면역억제제 독성, 거부반응 등 다양한 급, 만성 신장 손상(20)의 진단에 보조적으로 이용할 수 있으며, 발현여부 및 정도가 이식신의 예후와 관련될 가능성이 있다. 그러나 이식환자에서 KIM-1에 대한 자료는 아직 충분치 않으며, 대부분 이식 초기에 소변의 KIM-1을 측정한 결과이다. 소변은 채취가 쉽고 반복하기 좋으나 신장 혈류에 영향을 받으므로, 실제 병변이 발생하는 신조직의 상태를 정확히 대변할 수 없으며, 특히 만성 병변의 평가에는 적합하지 않다. 최근 사체이식이 늘어나면서 이식 당시 신장생검을 하는 빈도가 늘어나고 있고 계획생검도 증가하므로 이를 이용한다면 요세관의 KIM-1 변화를 전체 신장 조직 변화의 맥락에서 해석할 수 있는 장점이 있다. 따라서 본 연구에서는 신장이식 당시(영시, zero time)와 이식 후 1년 또는 그 이내 시행한 이식신의 계획생검 및 재생검 조직에서 KIM-1의 표현을 비교

하고 이식신 기능과의 상관성을 검토하여 이식신의 AKI 및 기능 부전에 대한 표지자로서 KIM-1의 유용성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 자료 및 대상

2010년 10월부터 2012년 12월까지 133명에서 신장이식 당시 공여신의 영시생검(zero time biopsy)이 시행되었다. 이 중 42명에서 이식 1년째 또는 그 이내 1회 이상 재생검이 시행되었다. 본 연구에서는 일차로 영시생검 조직을 대상으로 KIM-1과 AKI와의 연관성에 대한 분석을 하였고, 2차로 영시생검과 재생검이 동시에 시행된 조직을 대상으로 이식신의 기능 부전에 대한 표지자로서 KIM-1의 유용성을 분석하였다. 연구에 대한 자료 선정 및 연구 방법에 대하여는 기관의 생명윤리위원회의 심의를 통과하였다.

2. 신장조직 검사

광학 현미경검사를 위해 신장 조직은 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 다음 3 μ m로 박절하여 절편을 만든 후, hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff, aldehyde fuchsin orange G와 methenamine silver 염색을 시행하였다. 각 생검 조직에서 포함된 전체 사구체의 개수, 전구성 및 분절경화의 유무 및 비율을 계산하였다. 사구체염, 요세관염, 간질염, 요세관 주변 모세혈관염 등 급성 염증 소견과 세뇨관 위축, 간질 섬유화, 혈관의 섬유화 및 초자양화 등 만성 손상의 유무 및 정도는 Banff 분류에 따라 분류하였다. 요세관 급성 손상의 진단은 광학 현미경에서 토리쪽굽슬세관 상피가 납작해지고 솔변연이 소실되며, 요세관 핵이 소실되고, 요세관강이 확장되어 있는 경우로 판정하였다. 거부반응은 최근 개정된 2007 Banff 분류에 따라 분류하였으며(21), C4d염색은 형광 현미경 검사용의 신선한 조직이 있는 경우에 한하여 생검 당시에 간접면역형광 염색을 시행하였다. 면역형광현미경 검색으로 요세관 주변 모세혈관의 50% 이상에서 C4d가 선상으로 염색되는 경우에 양성으로 판정하였다.

3. 면역조직화학염색

포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 신장 조직을 3 μ m로 박절하여 절편을 만든 후, 파라핀을 제거하고 탈수, 침수 과정을 거쳐 표적복구용액(target retrieval solution, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA)을 이용하여 항원을 복구하였다. 신장 절편조직은 사람 KIM-1에 대한 항체

(R & D Systems, Minneapolis, MN, USA; 1:100 희석)와 토리콥솜슬세관 확인을 위해 사용된 CD10에 대한 항체(Novocastra, Newcastle upon Tyre, UK; 1:1,000 희석)를 상온에서 각각 1시간씩 배양하였으며, 이후 이차항체(peroxidase-labeled goat antimouse; Envision kit, DakoCytomation)를 30분간 도포하였다. 발염제로 DAB (3,3'-diaminobenzidine)를 10분간 도포하였다.

4. 면역염색의 평가 및 형태계측

면역염색의 결과 판독 및 형태계측은 임상 소견에 대한 정보 없이 진행하였다. 판독은 두 명의 병리의사가 판정하여 동의를 구하였고, 형태계측은 한 명의 병리의사가 전담하였다.

KIM-1과 CD10으로 염색된 슬라이드는 콩팥결절에 해당하는 부분을 200배와 400배로 모두 스캔하여 Image-J software를 이용하여 형태계측하였다. KIM-1 양성 요세관 수의 계측은 위축되지 않은 요세관에서 시행하였으며, 위축된 요세관에서 드물게 KIM-1이 염색된 경우 염색 여부를 따로 기록하였다. 요세관에서 염색되는 강도는 Schröppel 등(1)에 따라 0~3으로 반 정량적으로 나누었다(0, 음성; 0.5, 부분적으로 약한 과립상 염색; 1, 전반적으로 약한 과립상 염색; 2, 중등도의 과립상 염색; 3, 강도의 큰 과립상 염색) (Fig. 1). KIM-1 양성 요세관의 비율은 KIM-1 양성 요세관 수를 CD10 양성 요세관 수로 나눈 값의 백분율로 구하였다.

5. 임상 소견의 수집

나이, 성별, 면역억제제, 생검 당시의 혈청 크레아티닌치와 단백뇨 등의 이식 및 생검과 관련된 기본 검사 소견

과 생존 유무 등의 소견은 병력지를 통해 수집하였다. 이식 후 이식신의 기능회복 지연(delayed graft function, 이하 DGF)은 이식 후 1주 내 투석이 필요한 경우로 정의하였다. 추정 사구체여과율(estimated glomerular filtration rate)은 Modification of Diet in Renal Disease 공식[$175 \times \text{혈청 크레아티닌}^{-1.154} \times \text{나이}^{-0.203}$ (여자는 $\times 0.742$)]에 의해 구하였다.

6. 통계

결과의 측정치는 “평균±표준 편차”로 표시하였다. KIM-1 염색과 환자의 임상 소견 간의 비교는 Fisher exact test, Mann-Whitney U test, Student t-test와 chi-square test, 면역염색 유무 및 정도 비교는 Mann-Whitney U test와 Kruskal-Wallis test, 광학현미경 소견과 KIM-1 염색간의 상관관계는 Fisher exact test를 이용하였다. *P*값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 영시생검의 KIM-1 표현에 따른 임상 소견 비교

영시생검이 시행된 총 133명의 이식 환자 중 남자는 78명, 여자는 55명이었으며, 평균 나이는 47.4세였다. 공여자는 78명(58.6%)에서 생체 공여자였고 55명이 사체 공여자였으며 남녀비는 1:1.18이었다.

KIM-1은 53명(39.8%)에서 양성이었다. 영시생검의 KIM-1 표현에 따라 양성군과 음성군으로 나누었을 때, KIM-1 양성군은 음성군에 비해 공여자의 나이가 많고 사체 공여자와 남성 공여자의 빈도가 높았으며, 이식 당시 혈액요소질소와 혈청 크레아티닌 치가 높았으며 사체 공여자의 비율

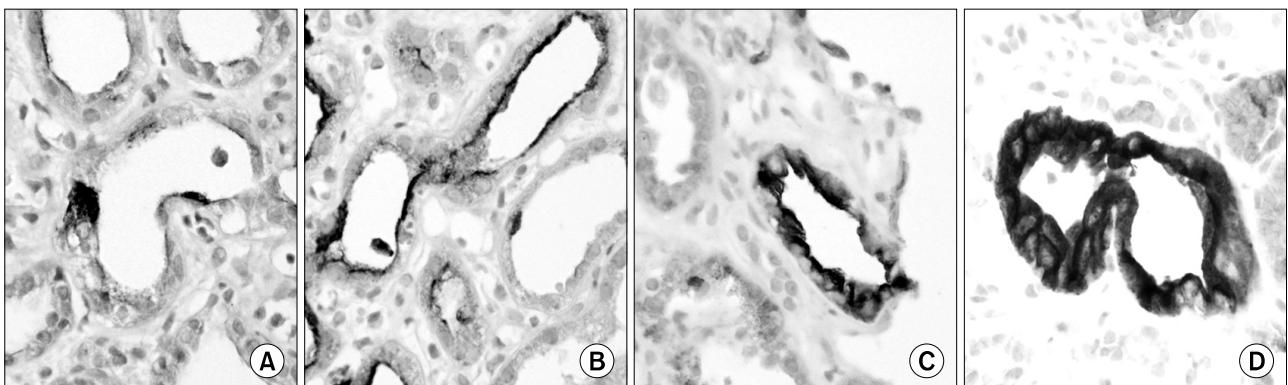


Fig. 1. Scoring of renal tubular kidney injury molecule-1 expression: (A) 0.5, focal staining, (B) 1, weak and entire staining, (C) 2, moderate and entire staining, and (D) 3, strong and entire staining ($\times 400$).

이 의미있게 높았다. KIM-1 양성인 수여자군에서는 이식 당시와 이식 후 1주에 측정한 혈액요소질소와 이식 후 1주째 혈청 크레아티닌 치가 높았으며, DGF 빈도가 현저히 높았다(Table 1). KIM-1의 표현 정도에 따라 나누었을 때, 사체 공여자, DGF, 이식 후 1주째 혈액요소질소와 이식 당시와 이식 후 1주에 측정한 혈청 크레아티닌 치가 높아짐에 따라 염색 정도와 강도가 증가하였다(Table 2).

2. 영시생검의 조직 소견과 KIM-1 표현 비교

광학현미경 소견에서 급성세뇨관 괴사가 13예 관찰되었으며, 이 중 92.3%인 12예에서 KIM-1이 요세관에 양성이었다. 급성세뇨관 괴사가 관찰되지 않은 120예에서는 34.2%에서만 KIM-1이 염색되어 급성세뇨관 괴사와의 관련성이 뚜렷하였다($P<0.001$). 이식신의 조직 소견과 KIM-1 표현을 비교하기 위해 Banff 분류에 따라 나누어

Table 1. Patient's demography according to zero-time KIM-1 expression

Parameter	KIM-1 positive (n=53)	KIM-1 negative (n=80)	P-value
Donor			
Age, yr	50.0 (19.0~70.0)	43.5 (18.0~63.0)	0.005
Male/Female	35/18	26/54	<0.001
BUN (mg/dL) at Tx	20.0 (2.0~84.3)	12.4 (6.1~52.2)	<0.001
Serum creatinine (mg/dL) at Tx	0.9 (0.2~5.1)	0.7 (0.5~2.6)	<0.001
Type of donor (deceased/living)	40/13	15/65	<0.001
Recipient			
Age, yr	45.0 (11.0~70.0)	49.0 (15.0~65.0)	0.238
Male/Female	26/27	52/28	0.068
BUN (mg/dL)			
At time of Tx	46.0 (20.3~96.5)	52.2 (25.1~95.1)	0.028
At 1 wk post-Tx	25.6 (11.8~106.3)	20.8 (9.2~75.5)	0.007
Serum creatinine (mg/dL)			
At time of Tx	8.7 (3.1~17.4)	8.4 (2.4~16.6)	0.760
At 1 wk post-Tx	1.4 (0.5~7.5)	1.3 (0.5~5.9)	0.018
Graft function: DGF/IGF	12/41	7/73	0.025

Data are presented as median (range).

Abbreviations: KIM-1, kidney injury molecule-1; BUN, blood urea nitrogen; Tx, transplantation; DGF, delayed graft function; IGF, immediate graft function.

Table 2. Patient's demography according to zero-time KIM-1 staining intensity

Variable	Grades of KIM-1 staining					P-value
	0 (n=80)	0.5 (n=20)	1 (n=22)	2 (n=8)	3 (n=3)	
Donor type						<0.001
Living	65 (81.3)	8 (40.0)	4 (18.2)	1 (12.5)	0 (0.0)	
Deceased	15 (18.7)	12 (60.0)	18 (81.8)	7 (87.5)	3 (100.0)	
Graft function						0.017
IGF	73 (91.3)	14 (70.0)	20 (90.9)	5 (62.5)	2 (66.7)	
DGF	7 (8.7)	6 (30.0)	2 (9.1)	3 (37.5)	1 (33.3)	
Serum creatinine (mg/dL)						
At time of Tx	8.35 (2.41~16.56)	7.25 (3.96~12.18)	8.66 (3.10~14.90)	14.01 (9.03~17.37)	12.89 (12.76~14.19)	0.001
At 1 wk post-Tx	1.26 (0.52~5.89)	1.42 (0.50~5.75)	1.21 (0.77~5.52)	2.1 (1.27~7.50)	1.42 (0.81~5.01)	0.039
BUN (mg/dL)						
At time of Tx	52.15 (25.1~95.1)	41.2 (20.3~69.9)	44.9 (23.9~96.5)	52.45 (33.4~73.5)	52 (39.3~52.5)	0.126
At 1 wk post-Tx	20.8 (9.2~75.5)	21.8 (11.8~97.9)	27.45 (12.6~83.1)	31.25 (19.8~91.8)	23.7 (16.4~106.3)	0.048

Data are presented as number (%) or median (range).

Abbreviations: KIM-1, kidney injury molecule-1; IGF, immediate graft function; DGF, delayed graft function; Tx, transplantation; BUN, blood urea nitrogen.

구체, 요세관, 간질, 혈관의 각 구성부위와의 상관성을 보았을 때, KIM-1 양성군에서 사구체경화, 요세관 위축, 간질의 섬유화 및 세동맥 초자양화가 KIM-1 음성군보다 더 빈번히 관찰되었다(Table 3).

3. 영시생검의 KIM-1 표현에 따른 추적생검의 KIM-1 변화와 임상 소견의 관련성

영시생검과 추적생검이 모두 시행된 42예에서 영시생검의 KIM-1 표현을 중심으로 두 군으로 나누었다. 영시생검에서 KIM-1 양성은 5명, 음성은 37명이었다. 영시생검

KIM-1 양성군은 추적생검에서 KIM-1의 염색 강도가 증가하는 경향이였으며, 영시생검 KIM-1 음성인 군에서도 추적생검 시 59.5%의 환자에서 KIM-1 양성이었다. 그러나 영시생검의 KIM-1 표현에 따른 추적생검 시의 혈청 크레아티닌 치나 조직 소견과의 상관성은 관찰되지 않았다. 영시생검에서 KIM-1 양성군에서 혈청 크레아티닌 치는 추적생검 시 5.9 mg/dL에서 1.5 mg/dL로 현저히 감소하였으나 KIM-1 표현 정도나 조직 소견의 변화를 보이지 않았으며(Table 4), KIM-1 음성군에서도 혈청 크레아티닌 치는 추적생검 시 8.5 mg/dL에서 1.7 mg/dL로 현저히 감소하였

Table 3. Correlation between KIM-1 expression and light microscopic features

Variable	KIM-1 positive	KIM-1 negative	P-value
Global sclerosis (%)	3.1 (0.0~34.1)	0.0 (0.0~50.0)	0.036
g0/g1/g2/g3	53/0/0/0	80/0/0/0	>0.999
t0/t1/t2/t3	52/1/0/0	79/1/0/0	>0.999
i0/i1/i2/i3	50/3/0/0	79/1/0/0	0.301
v0/v1/v2/v3	53/0/0/0	80/0/0/0	>0.999
cg0/cg1/cg2/cg3	52/1/0/0	80/0/0/0	0.399
ct0/ct1/ct2/ct3	15/38/0/0	53/27/0/0	<0.001
ci0/ci1/ci2/ci3	45/8/0/0	79/1/0/0	0.003
cv0/cv1/cv2/cv3	43/9/1/0	71/9/0/0	0.293
ah0/ah1/ah2/ah3	42/10/0/1	74/6/0/0	0.039
mm0/mm1/mm2/mm3	52/1/0/0	80/0/0/0	0.399
ptc0/ptc1/ptc2/ptc3	53/0/0/0	80/0/0/0	>0.999

Data are presented as median (number).

Abbreviation: KIM-1, kidney injury molecule-1.

Table 4. Changes of renal function and histology in KIM-1 positive cases at zero-time (n=5)

Parameter	Time zero biopsy	Repeat biopsy	P-value
KIM-1 positivity	5 (100)	4 (80)	0.421
Staining intensity of 1 or more	2 (40)	4 (80)	0.310
KIM-1 staining extent			0.421
Less than 5%	3 (60)	0	
5~10%	1 (20)	1 (20)	
More than 10%	1 (20)	3 (60)	
BUN (mg/dL)	39.8±19.2	24.6±12.3	0.310
Serum creatinine (mg/dL)	5.9±4.0	1.5±1.0	0.016
eGFR (mL/min/1.73 mm ²)	10.1±6.3	39.3±28.0	0.151
Acute rejection within 1 yr		2	
Graft histology			
Global glomerulosclerosis (%)	1.8±4.1	0	0.317
Tubular atrophy	0.8±0.4	0.6±0.5	0.690
Interstitial fibrosis	0.6±0.5	0	0.151
Arterial fibrous intimal thickening	0	0	0.151

Data are presented as number (%) or mean±SD.

Abbreviations: KIM-1, kidney injury molecule-1; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

Table 5. Changes of renal function and histology in KIM-1 negative cases at zero-time (n=37)

Parameter	Time zero biopsy	Repeat biopsy	P-value
KIM-1 positivity	0	22 (59.5)	<0.001
Staining intensity of 1 or more	0	15 (40.5)	<0.001
KIM-1 staining extent			<0.001
Less than 5%	0	11 (29.7)	
5~10%	0	3 (8.1)	
More than 10%	0	8 (21.6)	
BUN (mg/dL)	51.5±15.0	22.3±11.8	<0.001
Serum creatinine (mg/dL)	8.5±3.5	1.7±1.4	<0.001
eGFR (mL/min/1.73 mm ²)	10.6±10.7	54.2±22.1	<0.001
Acute rejection within 1 yr		3	
Graft histology			
Global glomerulosclerosis (%)	4.8±9.9	3.4±8.8	0.536
Tubular atrophy	0.3±0.5	0.6±0.6	0.015
Interstitial fibrosis	0	0.2±0.5	0.033
Arterial fibrous intimal thickening	0.1±0.3	0.3±0.7	0.105

Data are presented as number (%) or mean±SD.

Abbreviations: KIM-1, kidney injury molecule-1; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

으나 KIM-1 표현 정도는 증가하였고 세뇨관위축과 간질 섬유화는 진행되었다(Table 5).

4. KIM-1 표현과 추적생검 시 이식신장 기능의 관련성

추적생검 당시 이식신장의 기능 저하 소견이 없었던 예와 이식신장의 기능 저하가 있었던 예로 나누어 KIM-1 표현 및 광학현미경 소견과의 관련성을 살펴보았다. 이식신장의 기능 저하가 있었던 예들은 없었던 예들에 비해 KIM-1 표현 빈도가 증가하였고(Fig. 2), 사구체염, 요세관염, 간질염, 혈관염 등 급성 염증 소견과 세뇨관 위축, 간질 섬유화 등 만성 염증 소견이 모두 증가되어 있었다(Table 6).

고 찰

신장 기능을 측정하는데 사용되는 일반적인 표지자는 혈청 크레아티닌이다. 그러나 혈청 크레아티닌 치는 민감도가 낮아 신장의 손상을 일찍 검출해 내지 못하는 단점이 있어 최근 다양한 요세관 상피손상의 표지자들이 개발되어 왔다. 보고된 표지자들로 KIM-1, interleukin-18, clusterin, osteopontin, neutrophil gelatinase associated lipocalin 등(22-24)이 있으며, 이 중 KIM-1이 가장 많은 모델에서 그 유용성이 검증된 바 있다(25). 신장이식 환자에서도 소변 또는 신조직에서 KIM-1의 표현을 측정함으로써 AKI를 진단하는데 도움을 받았을 뿐 아니라(12), 더 나아가

KIM-1의 표현이 이식신 기능 부전(20) 또는 신장 재생(12,26)에 관련될 수 있다는 보고도 있었다.

본 연구에서는 KIM-1의 발현을 AKI, 이식신 기능의 저하 유무, 그리고 조직 소견에 따른 변화와 관련시켜 분석해보고자 하였다. 이식 당시의 영시생검 조직에서 AKI가 진단된 13예 중 12예에서 요세관 내 KIM-1표현이 관찰되어 92.3%의 민감도를 보였으며, KIM-1의 염색 정도도 대부분 1+ 이상의 강도를 보여 KIM-1 표현이 AKI 진단에 유용함을 확인할 수 있었다. 그러나 AKI의 진단은 KIM-1이 염색되는 범위와는 상관성이 없었다. 이는 본 연구에 포함된 예들 대부분에서 AKI 정도가 경미하기 때문인 것으로 해석하였다. KIM-1이 공여자의 나이가 많거나 사체 공여자인 경우에 흔히 표현된다는 점은 허혈손상과 관련이 있는 것으로 판단되었다. 또한 공여자의 신기능이 좋지 않았던 경우 수여자에서도 신기능이 좋지 않아 이식 후 1주일까지는 공여자 신장 손상의 영향이 지속되는 것으로 판단되었다.

잘 알려진 AKI와의 상관성 외에, 이식 당시의 KIM-1 표현이 이후 이식신 기능에 미치는 영향을 알기 위해 영시생검과 추적생검이 모두 시행된 42예를 검사하였다. 이 중 33예는 신기능의 이상 없이 계획생검이 시행된 예였다. 먼저 영시생검 조직 내 KIM-1 양성 유무가 추적생검의 KIM-1 양성도, 염색 강도나 범위, 이식신기능을 예측할 수 있는 지 알기 위해 영시생검의 KIM-1 결과에 따라 두 군으로 나누었는데, 결과적으로 상관성은 발견되지 않았다.

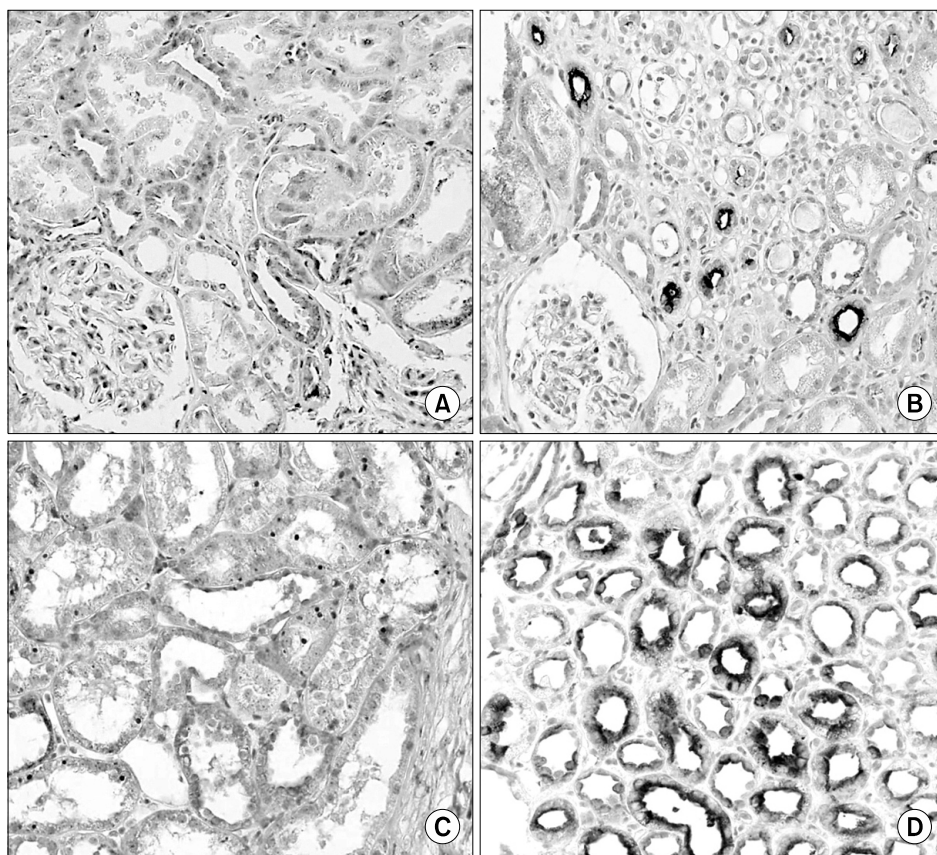


Fig. 2. Renal tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) expression in patients with stable graft function and dysfunction ($\times 200$). (A, B) In a patient with stable renal function, tubular KIM-1 expression increased in the repeat biopsy (B, score 2) compared with zero time (A, score 0.5). (C, D) Tubular KIM-1 expression became prominent in the repeat biopsy (D, score 3) in a patient with graft dysfunction, who showed negative KIM-1 staining at zero time (C).

Table 6. KIM-1 positivity and renal histology according to graft dysfunction at repeat biopsy

Parameter	Stable function (n=31)		Graft dysfunction (n=11)		P-value	
	Time-zero	Repeat biopsy	Time-zero	Repeat biopsy	Time-zero	Repeat biopsy
KIM-1 positivity	4 (12.9)	15 (48.4)	1 (9.1)	9 (81.8)	0.607	0.056
Serum creatinine (mg/dL)	8.1 \pm 3.7	1.1 \pm 0.2	8.5 \pm 3.5	3.2 \pm 1.9	0.714	<0.001
Graft histology						
Global GS	5.0 \pm 10.3	2.9 \pm 7.7	2.8 \pm 6.3	3.3 \pm 10.4	0.632	0.778
Glomerulitis	0	0.16 \pm 0.58	0	0.5 \pm 0.7	1	0.211
Tubulitis	0.03 \pm 0.18	0.65 \pm 1.02	0	1.1 \pm 0.99	0.888	0.124
Interstitial inflammation	0.03 \pm 0.18	0.42 \pm 0.85	0	1.2 \pm 1.03	0.888	0.054
Vasculitis	0	0.1 \pm 0.4	0	0.2 \pm 0.4	1	0.592
Tubular atrophy	0.32 \pm 0.48	0.52 \pm 0.51	0.36 \pm 0.5	0.8 \pm 0.79	0.844	0.308
Interstitial fibrosis	0.06 \pm 0.25	0.1 \pm 0.3	0.09 \pm 0.3	0.4 \pm 0.84	0.91	0.632
Arteriolar hyalinosis	0.16 \pm 0.37	0	0	0	0.445	1.
Arterial thickening	0.06 \pm 0.25	0.42 \pm 0.72	0.09 \pm 0.3	0	0.91	0.117

Data are presented as number (%) or mean \pm SD.

Abbreviation: KIM-1, kidney injury molecule-1.

즉 영시생검에서 KIM-1이 양성이었던 5예 중 4예에서 추적생검에서 KIM-1 양성이 지속되었으며 1+ 이상의 염색 강도도 60%로 유지되었으나, 영시생검에서 KIM-1이 음성

인 37예 중 59.5%인 22예에서도 추적생검에서 KIM-1 양성이었고 40.5%에서 1+ 이상의 염색 강도를 나타내어 영시생검 조직의 KIM-1 염색 결과로 추적생검 결과를 예측

할 수 없었다. 영시생검에서 KIM-1 양성군 및 음성군에서 혈청 크레아티닌 치는 추적생검 시 모두 현저히 감소하였으나($P=0.016$, $P<0.001$) KIM-1 표현 정도는 유지되거나(KIM-1 양성군) 오히려 의미 있게 증가하였다(KIM-1 음성군). 또한 세뇨관위축과 간질 섬유화도 KIM-1 양성군에서는 의미 있는 변화가 없었으나 KIM-1 음성군에서는 진행되었다(Tables 4, 5). 다음으로 추적생검 당시 이식신 기능의 저하유무에 따라 군을 나누어 보았다. 신기능이 저하된 군에서는 추적생검 당시 KIM-1의 염색 빈도가 81.8%로 기능저하가 없었던 군의 48.4%보다 높았으며, 사구체염, 세뇨관염, 간질염의 급성 염증 지표와 요세관 위축, 간질의 섬유화 등 만성 지표 모두 기능저하가 없었던 예들보다 높았다. 그러나 혈청 크레아티닌 수치를 제외하고($P\leq 0.001$) 통계적인 의미는 관찰되지 않았으며, 두 군간의 영시생검 결과도 마찬가지로 의미가 없었다(Table 6). KIM-1이나 조직 소견이 기능저하와 상관성이 없었던 이유는 연구에 포함된 예가 적었기 때문일 가능성도 있다. 이 결과들로 미루어 영시생검 당시의 KIM-1은 장기적인 이식신 기능을 예측하는 지표로 유용도가 떨어진다고 생각하였다.

Banff score에 따라 점수화된 사구체, 요세관, 간질, 혈관의 조직 소견과 KIM-1표현을 비교해보면, 염증 소견이 없는 영시생검에서는 KIM-1 양성군에서 사구체경화, 요세관 위축, 간질의 섬유화 및 세동맥 초자양화가 더 빈번히 관찰되었다. 그러나 추적생검을 포함시켰을 때, 급성 염증 소견인 사구체염, 요세관염, 간질염이 있는 경우에서도 요세관 내 KIM-1의 표현이 증가하였다. 따라서 급, 만성 변화 모두에서 KIM-1의 표현 정도가 올라가므로 영시생검에서도 염증 소견이 동반된다면, 허혈성 변화 없이도 KIM-1의 표현이 증가될 수 있을 것이라고 추정하였다. 요세관 위축이 있는 예에서도 KIM-1은 대부분 위축되지 않은 요세관에서 염색되며, 위축된 요세관은 극히 일부에서만 염색되므로, KIM-1이 요세관 위축과 직접 관련이 있다기보다는 위축된 요세관 주변의 요세관염 또는 허혈성 요세관 손상을 나타내는 요세관 손상의 활동성 지표일 가능성이 높다고 추정된다. 최근 Humphrey 등(27)이 transgenic 생쥐 모델에서 신장 손상 없이도 KIM-1의 표현이 지속적인 간질염과 섬유화를 일으킨다고 보고하여 간질염과 KIM-1 표현간의 관련성을 시사하고 있다. KIM-1 표현이 천천면역을 활성화시키고 염증세포를 침윤시키는데 관여하여 지속적인 손상을 유도한다면 요세관 위축 및 간질 섬유화로의 진행에 기여할 것이다. 또한 간질염증은 원발성 요세관질환이 아닌 사구체질환이나 대사성 신질환에서

도 흔히 동반되므로, KIM-1이 다양한 질환에서 나타나는 요세관 간질 손상의 지표로서 쓰일 수 있는 근거가 될 것으로 사료된다.

결론

신장이식 환자에서 신조직 내 KIM-1의 발현은 초기 AKI의 지표로서 유용할 뿐 아니라, 요세관염 또는 간질염증이 있거나, 요세관 위축 또는 간질 섬유화 등 비특이적인 급성 및 만성 손상의 부수적인 지표로 이용될 수 있다고 생각된다. 그러나 이 변화들이 신손상 기전이나 진행에 어떻게 관련되는 지는 앞으로 더 연구되어야 할 과제로 생각한다.

감사의 글

이 논문은 2012년도 대한이식학회 연구비로 시행되었다.

REFERENCES

- 1) Schröppel B, Krüger B, Walsh L, Yeung M, Harris S, Garrison K, et al. Tubular expression of KIM-1 does not predict delayed function after transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:536-42.
- 2) Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:873-82.
- 3) Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002;62:237-44.
- 4) Nijboer WN, Schuur TA, Damman J, van Goor H, Vaidya VS, van der Heide JJ, et al. Kidney injury molecule-1 is an early noninvasive indicator for donor brain death-induced injury prior to kidney transplantation. *Am J Transplant* 2009;9:1752-9.
- 5) Hong ME, Hong JC, Stepkowski S, Kahan BD. Correlation between cyclosporine-induced nephrotoxicity in reduced nephron mass and expression of kidney injury molecule-1 and aquaporin-2 gene. *Transplant Proc* 2005;37:4254-8.
- 6) Rouse RL, Zhang J, Stewart SR, Rosenzweig BA, Espandiani P, Sadrieh NK. Comparative profile of commercially available urinary biomarkers in preclinical drug-induced kidney injury and recovery in rats. *Kidney Int* 2011;79:1186-97.
- 7) Prozialeck WC, Vaidya VS, Liu J, Waalkes MP, Edwards

- JR, Lamar PC, et al. Kidney injury molecule-1 is an early biomarker of cadmium nephrotoxicity. *Kidney Int* 2007;72: 985-93.
- 8) Vinken P, Starckx S, Barale-Thomas E, Looszoza A, Sonee M, Goeminne N, et al. Tissue Kim-1 and urinary clusterin as early indicators of cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Toxicol Pathol* 2012;40:1049-62.
 - 9) Hoffmann D, Adler M, Vaidya VS, Rached E, Mulrane L, Gallagher WM, et al. Performance of novel kidney biomarkers in preclinical toxicity studies. *Toxicol Sci* 2010; 116:8-22.
 - 10) Szeto CC, Kwan BC, Lai KB, Lai FM, Chow KM, Wang G, et al. Urinary expression of kidney injury markers in renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:2329-37.
 - 11) van Timmeren MM, Vaidya VS, van Ree RM, Oterdoom LH, de Vries AP, Gans RO, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. *Transplantation* 2007;84:1625-30.
 - 12) Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, Blasick TM, Potdar S, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney Int* 2008;73:608-14.
 - 13) Kramer AB, van Timmeren MM, Schuur TA, Vaidya VS, Bonventre JV, van Goor H, et al. Reduction of proteinuria in adriamycin-induced nephropathy is associated with reduction of renal kidney injury molecule (Kim-1) over time. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F1136-45.
 - 14) van Timmeren MM, Bakker SJ, Vaidya VS, Bailly V, Schuur TA, Damman J, et al. Tubular kidney injury molecule-1 in protein-overload nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291:F456-64.
 - 15) Xu PC, Zhang JJ, Chen M, Lv JC, Liu G, Zou WZ, et al. Urinary kidney injury molecule-1 in patients with IgA nephropathy is closely associated with disease severity. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3229-36.
 - 16) Peters HP, Waanders F, Meijer E, van den Brand J, Steenbergen EJ, van Goor H, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3581-8.
 - 17) Nepal M, Bock GH, Sehic AM, Schultz MF, Zhang PL. Kidney injury molecule-1 expression identifies proximal tubular injury in urate nephropathy. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38: 210-4.
 - 18) Nozaki Y, Kinoshita K, Yano T, Shiga T, Hino S, Niki K, et al. Estimation of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in patients with lupus nephritis. *Lupus* 2014;23:769-77.
 - 19) Kwon SH, Park MY, Jeon JS, Noh H, Choi SJ, Kim JK, et al. KIM-1 expression predicts renal outcomes in IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol* 2013;17:359-64.
 - 20) van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H, Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *J Pathol* 2007; 212:209-17.
 - 21) Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008;8: 753-60.
 - 22) Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F517-29.
 - 23) Waikar SS, Bonventre JV. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Nephron Clin Pract* 2008;109:c192-7.
 - 24) Ting YT, Coates PT, Walker RJ, McLellan AD. Urinary tubular biomarkers as potential early predictors of renal allograft rejection. *Nephrology (Carlton)* 2012;17:11-6.
 - 25) Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, Collings FB, Ramirez V, Troth S, et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nat Biotechnol* 2010;28:478-85.
 - 26) Lim AI, Tang SC, Lai KN, Leung JC. Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells? *J Cell Physiol* 2013;228:917-24.
 - 27) Humphreys BD, Xu F, Sabbiseti V, Grgic I, Naini SM, Wang N, et al. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *J Clin Invest* 2013;123:4023-35.