

간이식 후 이식거부반응 평가에서 ImmuKnow Assay의 유용성을 경험한 증례

부산대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실¹, 외과학교실², 메리놀병원 진단검사의학과³

김남희¹ · 이선민¹ · 주종우² · 김병창³ · 김형회¹

Usefulness of the ImmuKnow Assay in a Case of Suspected Acute Rejection after Liver Transplantation

Namhee Kim, M.D.¹, Sun Min Lee, M.D.¹, Jong Woo Joo, M.D.², Byung Chang Kim, M.D.³ and Hyung Hoi Kim, M.D.¹

Departments of Laboratory Medicine¹, Surgery², Pusan National University School of Medicine,
Department of Laboratory Medicine, Maryknoll Medical Center³, Busan, Korea

We report on the usefulness of the ImmuKnow assay in a case of suspected acute cellular rejection after liver transplantation. A 58-year-old male with hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis caused by chronic hepatitis C had undergone tumorectomy 2 months previously. Following surgery, the underlying cirrhosis and hepatic encephalopathy were aggravated. The patient had been listed for liver transplantation and underwent cadaveric donor liver transplantation. Approximately 11 days after discharge, the patient developed mild fever and diarrhea and was rehospitalized. A liver biopsy showed histologic features associated with cellular rejection. According to the histopathologic diagnosis, the dosage of tacrolimus was increased from 5 to 7 mg twice daily. After changing the dose, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase were elevated, findings not corresponding to the former diagnosis. Hepatitis C virus (HCV) quantitative assay and ImmuKnow assay were performed for further evaluation. High HCV viral load and a very low ATP level detected using the ImmuKnow assay were suggestive of recurrent HCV rather than acute cellular rejection. Two weeks after reducing the immunosuppressant dosage and treating with antiviral therapy using ribavirin, the patient showed clinical improvement with a decrease in HCV viral load and a normal ATP level. Due to overlapping histologic features, acute cellular rejection can be difficult to distinguish from recurrent HCV. As in this case, the ATP level detected using the ImmuKnow assay is considered a reliable marker of cellular immune status. Immune monitoring of transplant patients may assist in making a differential diagnosis and in minimizing the adverse events of immunosuppression.

Key Words: Liver transplantation, Rejection, Hepatitis C

중심 단어: 간이식, 거부반응, C형 간염

서 론

급성 거부반응은 간이식 후 약 30~60%에서 발생하며 비가역적인 이식편 손상을 초래할 수 있다(1). 급성 거부반응의 적절한 진단은 이식 성공을 결정짓는 중요한 요

소이나 현재까지는 병리조직검사 외에는 진단을 위한 정립된 검사방법이 없는 실정이다.

ImmuKnow assay (Cylex Inc., Columbia, MD, USA)는 환자의 CD4 양성 림프구 활성도를 측정함으로써 환자의 세포면역 상태를 평가할 수 있는 검사로 진단에 추가적인 근거를 제시해 줄 수 있다. 저자들은 본 증례를 통해 ImmuKnow assay가 간이식 후 발생한 합병증의 감별진단에 유용함을 경험하였기에 보고하는 바이다.

증 례

환자는 58세의 남자로 약 20년 전 C형 간염(유전자 2형)으로 인한 간경화를 진단받고 정기적으로 추적관찰을

책임저자 : 김형회, 부산시 서구 구덕로 179
부산대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실, 602-739
Tel: 051-240-7414, Fax: 051-247-6560
E-mail: hhkim@pusan.ac.kr

접수일 : 2013년 10월 30일, 심사일 : 2014년 2월 20일
게재승인일 : 2014년 2월 20일

본 연구는 2013 이식학회, 2013 진단검사의학회 추계학술대회 포스터 발표되었음.

하고 있었다. 추적관찰 중 복부 전산화 단층촬영(computed tomography, CT)에서 간세포암이 발견되어 우후 구역절제술을 받았다. 수술 후 복수가 조절되지 않고 간성혼수가 지속되어 간이식이 계획되었다. 간이식 전 Child-Pugh score는 10점, model for end-stage liver disease score는 18점, Korean Network for Organ Sharing (KONOS) status는 2A였다. 우후구역절제술 후 약 2개월 뒤 뇌사자 간이식수술을 통해 기증자의 전체 간이 이식되었다. 간이식 후 면역억제를 위하여 methylprednisolone 20 mg과 tacrolimus 0.025 mg/kg를 매일 정맥 내 투여하였다. Tacrolimus의 약물 최저농도는 10 ng/mL로 유지하였다. 수술 후 10일부터는 tacrolimus 2 mg과 mycophenolate 250 mg를 하루 2회 경구 투여하였다. 특이 소견 없이 경과 호전되어 수술 후 41일에 퇴원하였다.

외래를 통해 추적관찰 하던 중 수술 후 47일부터 발열과 설사 증상이 발생하여 수술 후 52일에 재입원하였다. 입원 당시 신체검사상에서 발열과 설사 이외에 다른 증상은 없었고, C 반응성 단백질 5.91 mg/dL, 백혈구 수가 24,120/ μ L로 증가되어 있었다. 간기능 검사에서는 특이 소견이 없었고 C형 간염바이러스 리보핵산 정량 검사 결과는 5.75×10^6 IU/mL이었다. 혈액, 소변 및 대변 배양 검사에서 병원균은 동정되지 않았다.

그러나 입원 이후 지속적으로 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) 및 total bilirubin 이 증가하는 소견을 보였다. 이에 따라 급성 거부반응, C형 간염바이러스 재감염, 쓸개관 협착 등을 감별 진단하기 위하여 추가적인 검사를 시행하였다. 복부 CT 촬영에서 문맥 주위 저음영(periportal low density)과 함께 간 내 전반적인 림프부종(lymphedema)이 의심되는 소견을 보였다. 내시경적 역행성 담췌관조영술에서는 특이소견이 없었다. 간 생검 병리조직검사 결과 중등도 문맥염증, 중등도 쓸개관 손상 및 경도의 정맥 내피 염증 등 중등도 급성 거부반응에 부합하는 소견이 관찰되었다.

이에 따라 급성 거부반응 진단 하에 tacrolimus 용량을 5 mg에서 7 mg까지 단계적으로 증량하였다. 그러나 tacrolimus 증량 이후에도 증상 호전은 없었고 AST, ALT 수치는 지속적으로 증가하였다(Fig. 1). 추가적으로 고용량 스테로이드 충격요법을 시행하였으나 반응이 없었다.

환자의 치료반응 및 임상 경과가 진단에 부합하지 않아 추가적인 감별진단이 필요하였다. 수술 후 66일에 C형 간염바이러스 리보핵산 정량 추적 검사와 함께 ImmuKnow assay를 추가로 시행하였다. C형 간염바이러스 리보핵산 정량 검사 결과는 정량범위 이상인 $>10 \times 10^8$ IU/mL이었다. 이는 2주전 입원 시 시행한 검사 결과에

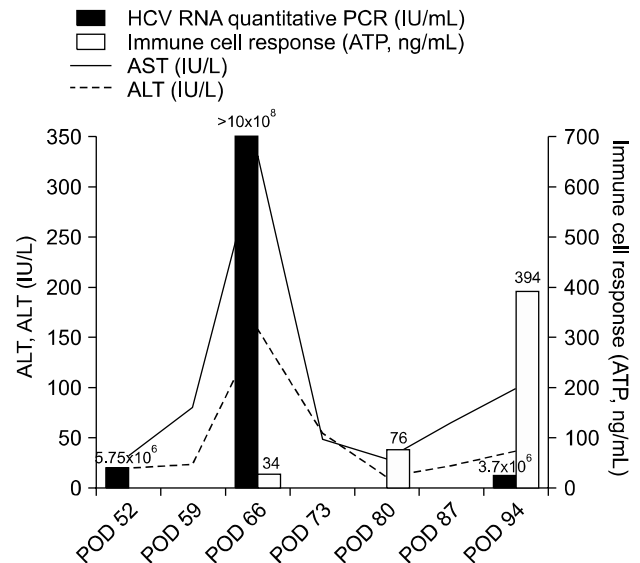


Fig. 1. Changes in liver enzymes, ATP levels and serum HCV RNA levels during treatment. Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; POD, postoperation day; HCV, hepatitis C virus; PCR, polymerase chain reaction.

비해서 매우 증가한 수치로 C형 간염바이러스 재감염을 시사하였다. ImmuKnow assay에서 CD4 양성 림프구의 활성도를 반영하는 ATP 수치는 34.25 ng/mL로 참고치 (226~524 ng/mL)에 비해 낮았다. 이는 환자의 세포면역이 억제되어 있음을 나타내는 결과로 환자가 현재 급성 거부반응 상태에 있다고 보기는 어려운 소견이었다.

이에 따라 면역억제에 따른 C형 간염바이러스 재감염으로 진단하고 수술 후 68일부터 tacrolimus 용량을 7 mg에서 2 mg으로 감량하고 mycophenolate는 투약 중단하였으며 ribavirin 100 mg을 하루 3회 경구 투여하였다.

치료 변경 이후 환자의 증상이 호전되었고 AST, ALT 수치가 감소하기 시작하였다. 치료 변경 약 2주 뒤(수술 후 80일) 환자의 증상은 완전히 소실되었고 AST, ALT 수치는 참고치 범위 이내로 감소하였으며 ImmuKnow assay 추적 검사에서 ATP 수치는 75.94 ng/mL로 증가하였다. 치료 변경 약 1개월 후(수술 후 94일) 시행한 ImmuKnow assay 추적 검사에서 ATP 수치는 394.27 ng/mL로 증가하여 참고치 범위 이내였고 C형 간염바이러스 리보핵산 정량 검사 결과는 3.7×10^6 IU/mL로 감소하였다(Fig. 1).

고 찰

간이식에 있어서 급성 거부반응은 면역억제제의 발달에도 불구하고 여전히 이식 성공 여부에 중대한 영향을 미치는 요인이다. 그러나 현재까지는 병리조직검사 외에

는 진단에 근거가 될만한 정립된 검사방법이 없어 진단 시 병리조직검사 결과에 전적으로 의존하는 경우가 대부분이며 추적 관찰 시에도 정기적인 간생검 병리조직검사를 통해 조직변화를 관찰할 것을 권장하고 있다(2).

그러나 이식 거부반응과 C형 간염바이러스 재감염은 조직학적 소견이 유사하여 감별이 어렵다(3,4). C형 간염바이러스 감염 환자에서 시행한 간이식 후에 대부분의 환자들이 면역이 억제된 상태에서 C형 간염바이러스에 재감염된다. 간이식 후 C형 간염바이러스가 재감염되면 자연경과가 빠르게 진행되므로 C형 간염바이러스 감염 환자에 대한 간이식은 C형 간염바이러스 감염이 없는 환자들보다 장기적인 이식 성적이 좋지 않은 것으로 알려져 있다(2). 병리조직검사 외에 급성 이식거부반응과 C형 간염바이러스 재감염을 감별하는 데 근거가 될 수 있는 검사를 추가적으로 시행한다면 빠르고 정확한 진단에 도움이 될 것이다.

또한 본 증례와 같이 병리조직검사 결과가 임상 양상과 부합하지 않아 추가적인 감별진단이 필요한 경우나 병리조직검사를 시행하기가 어려운 경우 등에서는 진단에 근거가 될 수 있는 다른 검사가 필요하다.

ImmuKnow assay는 환자의 면역상태를 객관적인 수치로 나타내줌으로써 이식 거부반응의 감별진단에 추가적인 근거를 제시해 줄 수 있는 검사이다. 이전 연구결과에 따르면 ImmuKnow assay에서 측정되는 림프구 내 ATP 농도는 환자의 세포면역상태를 유의하게 반영하였다. ImmuKnow assay 에서 강한 림프구 활성화(높은 ATP 수치)을 보인 환자에서 이식 거부반응의 위험이 높았고 약한 림프구 활성화(낮은 ATP 수치)를 보인 환자 군에서 상대적으로 감염의 위험이 높았다(5-9).

106명의 간이식 환자를 대상으로 한 연구에서 이식 후 감염이 발생한 환자군이 감염이 없었던 환자들이나 건강인 대조군보다 평균 ATP 수치가 낮았다. ATP 수치가 130 ng/mL 이하인 환자들은 그렇지 않은 환자들보다 12배 더 감염이 발생하였다. 연속 검사를 시행한 17명의 환자들에서 감염 전의 평균 ATP 수치보다 감염이 진단된 이후의 평균 ATP 수치가 감소하였고 감염에서 회복되었을 때 평균 ATP 수치는 다시 증가되었다(10).

ImmuKnow assay는 정량적인 수치를 제공해주기 때문에 감별진단 뿐만 아니라 환자의 면역상태 변화를 모니터링하는 데도 유용하였다. 또한 간 생검을 통한 병리조직검사는 침습적인 검사로 여러 번 시행하기는 현실적으로 어려움이 있는 반면 ImmuKnow assay는 환자에게 소량의 혈액을 채취하여 체외에서 세포 내 ATP의 농도를 측정하므로 비침습적이고, 연속적인 검사가 가능하다. 검사의 방법적 측면에서 볼 때, 다른 림프구 기능 검사에

비해 비교적 간단한 장비만 갖추면 임상 검사실에서 직접 시도해 볼 수 있는 장점도 갖추고 있다.

본 증례와 같이 이식 거부반응이 의심되는 환자를 평가할 때 병리조직검사, 면역혈청학적 검사와 함께 ImmuKnow assay를 시행한다면 감별진단에 도움이 될 뿐만 아니라 치료 이후에도 환자의 면역상태를 모니터링하여 치료의 적정성을 확인할 수 있으므로 면역 억제로 인해 발생할 수 있는 위험을 최소화할 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, Seaberg EC, Lake JR, Zetterman RK, et al. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology* 1998;28:638-45.
- 2) Choi YR, Lee KW. The management of HCV recurrence after liver transplantation. *J Korean Soc Transplant* 2013; 27:37-41. (최영록, 이광웅. 간이식 후 HCV 치료 및 면역억제제. *대한이식학회지* 2013;27:37-41.)
- 3) Petrovic LM, Villamil FG, Vierling JM, Makowka L, Geller SA. Comparison of histopathology in acute allograft rejection and recurrent hepatitis C infection after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1997;3:398-406.
- 4) Regev A, Molina E, Moura R, Bejarano PA, Khaled A, Ruiz P, et al. Reliability of histopathologic assessment for the differentiation of recurrent hepatitis C from acute rejection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2004;10: 1233-9.
- 5) Alkhouri N, Hanounch IA, Lopez R, Zein NN. Monitoring peripheral blood CD4+ adenosine triphosphate activity in recurrent hepatitis C and its correlation to fibrosis progression. *Liver Transpl* 2010;16:155-62.
- 6) Cabrera R, Ararat M, Soldevila-Pico C, Dixon L, Pan JJ, Firpi R, et al. Using an immune functional assay to differentiate acute cellular rejection from recurrent hepatitis C in liver transplant patients. *Liver Transpl* 2009;15:216-22.
- 7) Israeli M, Klein T, Sredni B, Avitzur Y, Mor E, Bar-Nathan N, et al. ImmuKnow: a new parameter in immune monitoring of pediatric liver transplantation recipients. *Liver Transpl* 2008;14:893-8.
- 8) Kowalski RJ, Post DR, Mannon RB, Sebastian A, Wright HI, Sigle G, et al. Assessing relative risks of infection and rejection: a meta-analysis using an immune function assay. *Transplantation* 2006;82:663-8.
- 9) Millán O, Sánchez-Fueyo A, Rimola A, Guillen D, Hidalgo S, Benitez C, et al. Is the intracellular ATP concentration of CD4+ T-cells a predictive biomarker of immune status in stable transplant recipients? *Transplantation* 2009;88(3 Suppl):S78-84.
- 10) Xue F, Zhang J, Han L, Li Q, Xu N, Zhou T, et al. Immune cell functional assay in monitoring of adult liver transplantation recipients with infection. *Transplantation* 2010;89:620-6.