

신장이식 후 Polyomavirus 감염의 조기진단과 선행적 면역억제제의 조절효과

연세대학교 의과대학 ¹외과학교실, ²병리학교실, ³진단검사의학교실 및 ⁴장기이식연구소, ⁵관동대학교 의과대학 의과학교실

안형준¹ · 주만기¹ · 정현주^{2,4} · 김명수^{1,4} · 김현숙³ · 허규하⁴ · 이종훈^{4,5} · 김순일^{1,4} · 김유선^{1,4}

Immunologic Control for Polyomavirus Infection after Kidney Transplantation

Hyung Joon Ahn, M.D.¹, Man Ki Ju, M.D.¹, Hyeon Joo Jeong, M.D.^{2,4}, Myoung Soo Kim, M.D.^{1,4}, Hyon Suk Kim, M.D.³, Kyu Ha Huh, M.D.⁴, Jong Hoon Lee, M.D.^{4,5}, Soon Il Kim, M.D.^{1,4} and Yu Seun Kim, M.D.^{1,4}

Departments of ¹Surgery, ²Pathology, ³Laboratory Medicine, and ⁴The Research Institute for Transplantation, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, and ⁵Department of Surgery, Kwandong University College of Medicine, Goyang, Korea

Purpose: The purposes of this study were to compare the relative efficacy of urine decoy cell (UDC) and polymerase chain reaction (PCR) for the polyomavirus infection (PVI), and to search the efficacy of preemptive immunologic control for PVI in earlier stage before irreversible graft injury.

Methods: Between Mar. 2003 to Sep. 2005, 265 patients were monitored for the PVI after kidney transplantation. Of the 265 patients, the results of preemptive immunologic modifications were searched among 222 recipients who had the complete data. **Results:** Of the total 222 patients, 75 patients (33.8%) were positive for UDCs in at least one examination. Overall cumulative incidence of PVI was 32.9%. According to the episode of acute rejection, the one year incidences of PVI were 51.4% and 29.5% in recipients with and without the episode of acute rejection, respectively (P=0.0047). Using decoy cells as a marker of PV viruria, cytology has a sensitivity of 57.1% and negative predictive value of 74.1%. The specificity and positive predictive value

for viruria (not viral nephropathy) are 67.2% and 48.8%. False-negative results occurred in samples with suboptimal cellularity, and a low viral load. Three cases of PV nephropathy (PVN) were documented. From January 2001 to December 2002, when we did not prospectively monitor UDCs, 7 cases of PVN were documented among the 116 recipients. **Conclusion:** The combination test of UDC and PV PCR should be considered as screening test for PVI due to low positive predictive value of UDC. The modulation of net immunosuppression based on UDC values and PV viral loads may reduce the development of PVN. (J Korean Soc Transplant 2006;20:193-200)

Key Words: Polyomavirus infection, Urine decoy cell, Polymerase chain reaction, Kidney transplantation
중심 단어: 폴리오마바이러스, 소변 decoy 세포, 중합효소연쇄반응, 신장이식

서 론

1990년대 중반 이후부터 Polyomavirus (PV) 신병증이 이식 신장의 기능부전을 초래한다는 사실이 밝혀짐에 따라 PV 신병증에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.(1) 문헌들마다 다양한 PV 신병증의 유병률과 치료성적에 차이를 보이고 있는데, 이는 적극적인 조기진단의 여부와 다양한 검사 기법의 차이에 따른 결과라 할 수 있다. 현재까지 가장 흔히 사용되는 조기진단 방법으로는 소변에서 decoy cell를 검사하는 소변 세포학적인 방법과 소변 또는 혈액에서 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용한 정량 또는 정성 바이러스 부하 검사법(PV-PCR)이 그것이다. 저자들도 신이식 후 PV 감염에 대한 선별검사법으로 소변 내 Decoy cell의 유용성에 대하여 이미 보고한 바 있다.(2) 그러나 소변 decoy cell 검사법의 정확성에 대한 논란의 여지가 있어, 저자들은 신장이식 후 PV 감염의 조기진단을 위해 소변 decoy cell 및 PV-PCR법의 상관관계를 알아보고, PV 감염의 조기 진단을 통한 면역억제제의 선행적(preemptive)

책임저자 : 김유선, 서울시 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 의과대학 외과학교실, 120-752
Tel: 02-2228-2115, Fax: 02-313-8289
E-mail: yukim@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 2005년도 연세대학교 의과대학 위탁연구비(과제번호 7-2005-1001, 7-2005-1212)의 지원과 연세대학교 의과대학 장기이식연구소의 연구비의 지원으로 이루어졌음.

조절효과를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방 법

1) 연구 설계

2003년 3월부터 2005년 9월까지 세브란스 병원 장기이식 센터에서 신장이식 수술을 받은 환자 265명을 대상으로, 이식 후 1, 3, 6, 9, 그리고 12개월에 걸쳐 PV 감염의 조기진단을 위해 전향적으로 소변 내 decoy cell 검사를 시행하였다. 이 중에서 decoy cell 검사를 4회 미만으로 받은 환자를 제외한 222명을 연구대상으로 선행적 면역억제제의 효과를 조사하였다. 신이식 후 연구기간 중에 decoy cell이 1회 이상 검출된 경우를 소변 decoy cell 양성군(75명)으로 정의하였다. 2004년부터는 소변 decoy cell이 검출되는 경우와 PV 감염이 의심되는 경우에는 선행적으로 면역억제제를 조절하기 전에 PV-PCR를 검사하였으며, 이를 decoy cell과 함께 경과 관찰의 지침으로 사용하였다. 그리고 소변 decoy cell 및 PV-PCR의 상호 연관성을 조사하기 위해서는 동시에 동일한 검체의 검사가 가능했던 99예(59명)를 분석대상으로 하였다.

2) 소변 decoy cell 검사

Decoy cell의 검사는 소변 검체 10 mL를 cytopsin하여 Papanicolaou 염색 후 decoy cell의 수에 따라 1~3는 a few, 4~9개는 several, 그리고 10개 이상은 many로 구분하여 반정량적으로 판독하였다.

3) PV-PCR 부하검사

핵산 추출을 위해 Lysis Buffer (bioMerieux BV: Boxtel, Netherlands)와 Magnetic Extraction Reagents (bioMerieux BV: Boxtel, Netherlands)를 사용하여 제조사의 술식에 따라 혈장과 소변에서 바이러스 DNA를 분리하였다. PCR의 primer는 Bioneer (Daejeon, Korea)에 주문 제작하여 사용하였으며, probe는 TIB[®]MOLBIOL (Berlin, Germany)을 사용하였다. PCR법의 과정을 간단히 설명하면, DNA 추출 후 primer, probe, MgCl₂, LightCycler[®] FastStart DNA Master HybProbe (Roche, Mannheim, Germany)를 LightCycler[®] capillaries (Roche, Mannheim, Germany)에 넣고, 추출된 DNA를 capillary에 넣는다. 그리고 LC Carousel Centrifuge 2.0 (Roche, Mannheim, Germany)에 넣고 spin down시킨 후에 real time PC장비인 LightCycler[®] 1.5 Instrument (Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 증폭하였다. 즉, denaturation을 위해 95°C에서 10분간, amplification을 위해 95°C에서 10초, 57°C에서 10초, 72°C에서 20초간 총 45회 반복하였으며, 마지막으로 40°C에서 30초간 cooling하였다. 이때 SV40 바이러스를 제외할 수 있는 primer를 고안하여 사용하였으며 BK 바이러스와 JC바이러스는 reaction probe를 동시에 반응시켜 감별

하였다. 이때 real time PCR의 linearity range는 $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^6$ copies/mL이 되도록 하였다. 그리고 표준물질은 BK 바이러스 표준균주를 미국 ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, USA)에서 구입하여 이를 이용하여 plasmid에 cloning하여 표준 DNA를 만들어서 사용하였다.

4) 면역억제제의 사용

주면역억제제로 cyclosporine A (CsA) 또는 tacrolimus (Tac)를 사용하였다. 스테로이드는 수술 2일 전부터 prednisolone 1 mg/kg/day을 사용하고 수술 당일 methylprednisolone 1,000 mg을 정주 후 3주에 걸쳐 감량하여 prednisolone 10 mg/day을 유지 용량으로 사용하였다. 추가로 mycophenolic acid (MPA: mycophenolate mofetil 1,000~1,500 mg/day 또는 mycophenolate sodium 720~1,440 mg/day)를 사용하여 대부분 삼중면역억제요법을 기본으로 하였다. HLA 완전일치군, 백혈구 감소증, B형 간염항원 보균환자 등의 경우에는 MPA를 제외한 이중요법을 사용하였다.

5) 선행적 면역억제제의 조절

PV 감염의 전향적 감시를 통해 decoy cell이 검출되면 PV-PCR를 검사하여 양성인 경우 면역억제제를 조절하였으며, many 이상의 decoy cell이 지속적으로 검출되는 경우 비록 PV-PCR 검사에서 음성이라 할지라도 면역억제제를 조절하였다. 면역억제제의 조절은 일차적으로 MPA의 용량을 50% 감량하였으며, 혈중농도에 따라 Tac 또는 CsA의 용량을 감량하였다. 감량 후에도 decoy cell 및 PV-PCR이 양성인 경우에 MPA의 사용을 중단하였으며, Tac을 사용하는 경우 CsA으로의 약제변경도 고려하였다. 면역억제제의 조절의 효과는 매 1개월마다 소변 decoy cell 및 소변 PV-PCR을 이용한 바이러스 역가의 변화로 판정하였다.

6) 통계

위험인자의 비교를 위해 범주형 범주는 chi square test로, 연속형 범주는 ANOVA를 시행하였고, decoy cell을 이용한 PV 감염의 발생률은 Kaplan-Meier 법을 그리고 각 군 간의 비교는 log rank test를 사용하였다.

결 과

1) 연구 대상군의 임상적 특징

222명의 연구 대상군의 평균 연령은 40.2 ± 11.1 세(9~68세)이며, 성별은 남성/여성이 각각 145/77명이었다. Decoy cell이 검출된 경우는 신장이식 후 1, 3, 6, 9, 그리고 12개월에 각각 13예(6.0%), 25예(11.4%), 28예(13.1%), 41예(19.6%) 그리고 30예(15.2%)로, 수술 후 9개월에 가장 높은 PV 감염률을 보였다. 소변 decoy cell 양성군(75명)에서 이식 수술 후 조기 급성거부반응의 병력의 빈도는 24.0% (18

명)으로 음성군(147명)의 11.6% (17명)에 비해 높은 빈도를 보였다(Table 1)(P=0.020). 연구 대상군에서 decoy cell의 1년 누적 발생률은 32.9%이었다. 또한 신장이식 후 초기에 급성 거부반응의 병력이 있는 경우에 PV 감염의 1년 누적 발생

률은 51.4%로, 급성거부반응의 병력이 없는 경우 29.5%에 비해 유의하게 높았다(Fig. 1A)(P=0.0047). 그러나 주면역억제제(CsA vs Tac)의 종류 및 다른 기초임상자료에 따른 PV 감염의 발생률의 차이는 보이지 않았다(Fig. 1B).

Table 1. Univariate analysis of demographic factors related to the PV infection by means of urine decoy cell

	Urine cytology		P value
	Negative group (n=147) (%)	Positive group (n=75) (%)	
Age (year)	40.0±11.2	40.5±10.9	N.S
Duration of dialysis (months)	23.6±41.1	24.6±34.2	N.S
Mode of dialysis			N.S
Preemptive	29 (19.7)	19 (25.3)	
HD	95 (64.6)	47 (62.7)	
CAPD	23 (15.6)	9 (12.0)	
Retransplantation	16 (10.9)	7 (9.3)	N.S
Type of donor			N.S
LRD	97 (66.0)	44 (58.7)	
LURD	42 (28.6)	25 (33.3)	
Deceased	8 (5.4)	6 (8.0)	
ABO matching			N.S
Identical/compatible	130 (88.4)/17 (11.6)	67 (89.3)/8 (10.7)	
HLA mismatching	3.0±1.1	2.9±1.7	N.S
Acute rejection (no/yes)*	130 (88.4)/17 (11.6)	57 (76.0)/18 (24.0)	0.020
Main IS (CsA/Tac)	99 (67.3)/48 (32.7)	42 (56.0)/33 (44.0)	N.S
MPA (no/yes)	12 (8.2)/135 (91.8)	8 (10.7)/67 (89.3)	N.S

N.S = not significant; preemptive = HD within 1 month; HD = Hemodialysis; CAPD = Continuous ambulatory peritoneal dialysis; LRD = living related donor; LURD = living unrelated donor; IS = Immunosuppression; CsA = cyclosporine A; Tac = tacrolimus; MPA = mycophenolic acid.

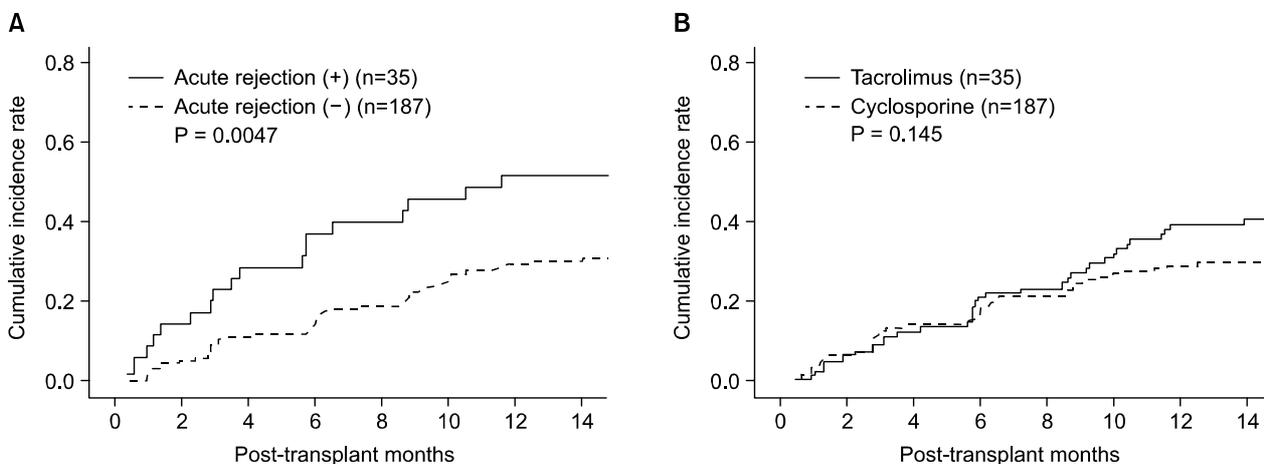


Fig. 1. Cumulative incidence of PV infection with urine decoy cell. (A) Different incidence of PV infection by the occurrence of acute rejection (AR). (B) Different incidence of PV infection by the types of immunosuppressive agents (CsA versus Tac).

Table 2. Comparison of quantitative urine polyomavirus load by semiquantitative urine decoy cell

	Number of urine decoy cell			P value*
	0	1~9	≥10	
Urine viral load	3.3×10 ⁶ ±3.1×10 ⁶ copies/mL	4.3×10 ⁶ ±4.1×10 ⁶ copies/mL	6.7×10 ⁷ ±3.9×10 ⁷ copies/mL	0.009
T [†]	a	a	b	

Urine viral load (mean±SE). *Statistical significances were tested by one way analysis of variances among groups; † The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test.

2) 소변 decoy cell 및 PV-PCR 검사의 비교

연구대상군 222명 중에서 동시에 동일한 소변 검체에서 decoy cell 및 PV-PCR 검사가 가능하였던 총 99예(59명)에서 소변 내 decoy cell과 PV-PCR 검사결과를 분석하였다. 이 중에서 소변 decoy cell이 검출 안된 경우가 58예, 1~9개가 21예, 그리고 10개 이상이 20예였다. 그리고 decoy cell 검사와 동시에 검사한 소변 PV-PCR의 평균치(±표준오차)는 각각 3.3×10⁶±3.1×10⁶ copies/mL, 4.3×10⁶±4.1×10⁶ copies/mL, 그리고 6.7×10⁷±3.9×10⁷ copies/mL으로 각 세 군간의 유의한 차이를 보였다(Table 2)(P=0.009). 총 99개의 소변 검체에서 decoy cell이 검출된 경우는 41예로 그 중 소변 PV-PCR 검사가 양성인 경우가 20예였다(Table 3). 연구대상군에서 protocol 신생검을 시행하지 않았기 때문에 정량적 PV-PCR 검사를 PV 감염증의 진단을 위한 황금기준(gold standard)으로 간주해보면, PV 신병증이 아닌 PV 바이러스노증에 대한 소변 decoy cell 검사의 양성예측도는 48.8%, 음성예측도는 74.1%, 민감도는 57.1%, 그리고 특이도는 67.2%였다.

위양성을 보인 15예를 살펴보면 음성결과 전후 1개월 내로 검사한 소변에서 decoy cell 양성을 보인 경우가 8예였으며, 낮은 바이러스 역가(10⁴ 이하)가 6예, 그리고 나머지 1예는 신체장 동시이식을 받은 환자로 이식 후 1년간 decoy cell 추적관찰에서 모두 음성소견을 보였으며, 이식 후 9개월에 소변 바이러스 역가가 10.7×10⁶ copies/mL, 혈액 내 바이러스 역가는 1,750 copies/mL이었으나 동시에 검사한 소변 decoy cell은 음성이었다. 환자는 경도의 이식신 부전증 소견을 보이거나 조직검사는 하지 않았으며, 현재 관찰 중에 있다. 위양성을 보인 21예 중에서 일과성으로 decoy cell 양성 소견을 보였던 경우가 대부분이며, 그러나 6예에서는 연속적으로 소변 decoy cell이 10개 이상으로 검출되었으나 소변 PV-PCR 검사에서는 음성이었으며, 모두 안정적인 이식신 기능을 보이고 있어 조직검사는 생략한 채 현재 추적관찰 중이다.

Table 3. Comparison of urine cytology and polymerase chain reaction

	Urine PCR (n=99)	
	Positive	Negative
UDC (+)	20	21
UDC (-)	15	43

PCR = polymerase chain reaction; UDC = urine decoy cell.

3) 바이러스 부하검사를 통한 면역억제제의 조절 (Table 4)

소변 decoy cell 검사상 양성을 보였던 75명 중 30명에서 평균 이식 후 7.8±5.6 (1~28)개월에 소변 decoy cell검사 및 PV-PCR검사의 결과에 따라 선행적 면역억제제 조절을 시작하였다. 그 중 8예는 2003년에 수술 받은 환자로 본원에서 PV-PCR를 시작하기 전에 바이러스 부하검사 없이 소변 decoy cell의 반정량적 검사 결과에 따라 선행적으로 면역억제제를 조절하였으며, 나머지 22예는 면역억제제의 조절 전에 PV-PCR를 시행하였다. 15예에서는 소변 PV-PCR에서도 양성 소견을 보여 면역억제제를 조절하였으며, 7예는 비록 PV-PCR이 음성이었으나, 10개 이상의 decoy cell이 수개월 이상 지속적으로 검출되어 면역억제제를 조절하였다. 면역억제제 조절 전에 PV-PCR 검사에서 양성소견을 보였던 15명의 바이러스 평균 역가(평균±표준편차)는 Table 4와 같다. 그 중 8예에서 선행적 면역억제제 조절 후 평균 160.3±127.4 (21~324)일만에 바이러스 역가의 음성전환을 보였다. 그러나 나머지 7예에서는 연구 종료시점에 역가는 감소 중에 있으나, 바이러스 역가의 음성전환이 이루어지지 않았다. 치료는 MPA의 용량을 50% 감소한 경우가 16예로 가장 많았다. 면역억제제를 조절한 30예는 남녀가 각각 21/9명이었고, 혈연간 생체이식이 19예, 비혈연간 생체이식이 9예, 그리고 뇌사자 이식이 2예였다. 면역억제제 조절군에서 27명은 MPA를 사용 중이었으며, 3명은 각각 HLA 완전 일치군, MPA의 위장관계 부작용, 그리고 이식 후 3개월

Table 4. Preemptive immunologic control of PV infection

Preemptive immunologic control (n=30)	
Time to initiation of preemptive immunologic control	7.8±5.6 (1~28) months
Mean viral titer at the preemptive immunologic control (± SD)	9.2E+07±2.0E+08 copies/mL
Mean time to negative conversion of urine viral load	160.3±127.4 (21~324) days
Mode of preemptive immunologic control	N=30
MPA reduction	16 (53.3%)
MPA discontinuation	2 (6.7%)
MPA reduction & discontinuation	8 (26.7%)
MPA discontinuation & minimal CNI level	3 (10.0%)
MPA discontinuation, CNI switch, & minimal CNI level	1 (3.3%)
Non preemptive immunologic control (n=45)	
Transient viruria	34
Intermittent viruria & urine PCR negative	11

MPA = mycophenolic acid; CNI = calcineurin inhibitor.

Table 5. Incidence of PV nephropathy

Period	Prospective monitoring of PV infection	n	Positive no. (%)	PVN (%)
2001~2002	No	116	27 (23.3)	7 (6.0)
2003~2005	Yes	222	75 (33.8)	3 (1.3)

No = number; PVN = polyomavirus nephropathy.

에 심한 요로계 감염이 있어 선행적 면역억제제 조절 당시 MPA를 사용하고 있지 않았으며, 치료는 사용 중이던 calcineurin 억제제의 혈중 농도를 최소로 유지하였다.

Decoy cell 양성 소견을 보인 75예 중에서 45예는 면역억제제를 조절하지 않았다. 그 중 34예는 3개 이하의 decoy cell이 일과성으로 검출되었다가 추적관찰 중 3개월 이내로 더 이상 decoy cell 이 검출되지 않았으며, 나머지 11예에서는 소량의 decoy cell 이 3개월 이상 검출 되었으나 PV-PCR 검사상 지속적으로 음성으로 나와 면역억제제를 조절하지 않았다.

연구대상군 중 3명의 환자에서 조직학적으로 PV 신병증이 진단되었다. 1 예는 이식 후 3, 6 개월에 소변 decoy cell 이 검출되었으나 면역억제제 조절 없이 추적관찰 중에 혈청 크레아티닌의 상승으로 이식 후 8개월에 조직검사를 시행한 결과 PV 신병증이 진단되었으며, 그후 면역억제제를 조절하였으나 결국 이식신이 실패하였다. 다른 1예는 이식 후 12개월에 10개 이상의 decoy cell이 검출되었으나 선행적 면역억제제의 조절을 시행하지 않고 추적관찰을 하던 중, 이식 후 24개월에 혈청 크레아티닌의 상승으로 조직검사를 시행한 결과 PV 신병증이 진단되어 면역억제제를 조절하였고, 연구종료 시점에서 소변 내 바이러스 역가는 감소하였으며, 더 이상의 혈청 크레아티닌의 상승 없이 경도의 이

식신 부전증의 소견을 보이고 있다(혈청 크레아티닌 기저치: 2.9 mg/dL). 또 다른 1예는 이식 후 14개월에 소변 decoy cell이 a few로 검출되었으나, 추가 조치 없이 지내다 이식 후 25개월에 점진적인 혈청 크레아티닌의 상승으로 조직검사를 시행한 후 PV 신병증으로 진단되었으며, 조직검사와 동시에 검사한 PV-PCR 검사상 음성이었으며, 현재 더 이상의 혈청 크레아티닌 수치의 상승 없이 외래 추적관찰 중에 있다(혈청 크레아티닌 기저치: 2.1 mg/dL).

본원의 경우 과거에 일과적으로 소변 decoy cell 검사를 하였으나 전향적 감시를 시행하지 않았던 기간(2001~2002년) 중 116명의 이식환자에서 소변 decoy cell 검사를 시행하여 그 중 27명에서 decoy cell이 검출되었으며 이 중 7명에서 병리조직 검사상 PV 신병증으로 진단되었다(Table 5).

고 찰

1990년 중반 이후에 PV 신병증이 이식 신장의 기능부전 및 이식신 실패를 일으킨다는 사실이 알려지면서,(1) 최근 들어 신장이식 후 PV 감염 및 관리가 관심의 대상이 되고 있다. PV 신병증의 치료로 최근에 항바이러스 제제 등의 치료가 시도되고 있으나 아직 정식 치료법은 아니며, 현재 까지 이 질환의 최선책은 PV 감염의 조기 진단 및 면역억제

계의 조절이다. 조기 진단을 위한 선별 검사법으로 소변 decoy cell의 검사, PV-PCR법이 있으며, 저자들은 decoy cell을 이용한 전향적 감시체계의 유용성에 대하여 보고한 바 있다.(2) 그러나 문헌마다 decoy cell 검사의 위양성률 및 양성 예측도를 달리 보고하고 있으며,(3,4) 이러한 차이는 신생검 조직 절편의 간격을 작게하여 PV 신병증의 진단율을 높인 결과 때문으로 해석된다. 문헌에 따르면, 소변 내 PV의 증식(polyomavirus 뇨증)은 바이러스 혈증보다 4주에서 수개월 정도 먼저 나타나며,(5,6) 조직학적으로 확진된 PV 신병증보다 12주 먼저 나타난다고 보고하고 있다.(3,7) 따라서 본 연구에서처럼 정기적인 소변 decoy cell의 검사와 소변 PV-PCR 검사를 통해, 소변내 PV의 증식단계에서 면역억제제를 조기에 조절한다면 PV 신병증으로의 진행을 예방할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 소변 decoy cell과 PV-PCR의 연관성을 조사하기 위하여, 정량적 PV-PCR법을 PV 신병증의 진단을 위한 황금기준(gold standard)으로 간주하여 소변 바이러스뇨증에 대한 decoy cell의 예측도를 조사하였다. 피츠버그 대학의 보고에 따르면 PV 신병증이 아닌 바이러스뇨증에 대한 소변 decoy cell의 양성 예측도를 100%로 보고하고 있으나,(8) 본 연구에서는 바이러스뇨증에 대한 소변 decoy cell의 양성 예측도는 48.8%, 바이러스 혈증에 대한 소변 decoy cell의 양성 예측도는 3.4% (data not shown)에 불과하여, 소변 decoy cell만으로 바이러스 감염을 예측하는데 부족한 점이 있었다. 그러나 결과에서 제시하였 듯이 분명한 것은 소변 decoy cell검사에서 양성 결과를 반 정량적으로 나누어 보았을 때, decoy cell의 개수가 10개 이상일 때는 decoy cell의 개수가 소량으로 검출 될 때와 비교하여 소변 바이러스 역가의 평균치가 의미 있게 높았다. 이를 종합해 보면 소변 decoy cell은 소변 및 혈액 내에 있는 바이러스의 상태를 충분히 반영하지 못하나, 분명한 것은 decoy cell이 많이 검출될수록 바이러스의 역가도 높아진다는 사실이다. 따라서 선행적 면역억제제 조절의 지침으로 decoy cell의 사용은 검사가 용이하다는 장점이 있으나 소변 및 혈액내의 바이러스 상태를 충분히 반영하지는 못하므로 소변 decoy cell 및 PV-PCR를 동시에 시행하여 선행적 면역억제제 조절의 판단과 치료 효과의 지침으로 삼는 것이 바람직 할 것으로 생각한다.

PV 감염의 선별검사법으로 소변 decoy cell과 PV-PCR를 사용할 때 고려해야 할 사항으로 두 검사의 결과가 일치하지 않는 위양성과 위음성에 대한 해석이다. 위음성(소변 decoy cell이 음성이면서 PV-PCR 검사에서 양성인 경우)을 보이는 경우에는 소변검체의 채취방법에 따라 검사결과가 영향을 받을 수 있다는 점과 그리고 낮은 바이러스 역가의 가능성을 고려해 보아야 하며,(8) 본 연구에서도 위음성의 원인으로 소변 decoy cell의 음성결과가 소변검체의 채취방법에 따른 일시적 결과일 것으로 추정되는 경우와 낮은 바이러스 역가를 보이는 경우가 대부분이라고 판단된다. 그

러나 결과에서 제시한 바와 같이 신체장 동시이식을 받은 환자에서처럼, 지속적으로 소변 decoy cell이 음성으로 나오지만 소변 및 혈액 바이러스 역가가 지속적으로 높은 경우도 있으므로, PV 신병증으로의 진행에 대해 세심한 추적관찰이 필요할 것으로 생각된다. 또한 위양성(소변 decoy cell이 양성이면서 PV-PCR 검사가 음성인 경우)으로 나오는 이유로는, 일과성으로 decoy cell이 검출되는 경우가 대부분이지만, 지속적으로 위양성을 보이는 경우에는 PV 이외의 바이러스 감염을 고려해 볼 수 있을 것으로 생각되나, 이에 대한 추가 연구가 필요한 실정이다.

PV 신병증을 예측할 수 있는 소변 내 PV 부하검사의 역가는 보고하는 문헌마다 차이를 보이지만,(3,5,9,10) 일반적으로 10^7 copies/mL 이상일 때 PV 신병증을 예측할 수 있다고 한다. Randhawa 등(11)은 10^7 copies/mL를 cut-off value로 하였을 때 67%의 양성예측도를 보인다고 하였다. 본 연구에서 선행적 면역억제제 조절 전에 소변 바이러스 역가가 10^7 copies/mL 이상을 보인 경우는 모두 7예였다. 그러나 다른 전향적 연구 결과에 따르면 소변 내 바이러스 역가와 PV 신병증과의 연관성이 전혀 없다는 보고도 있으므로,(12) 이는 좀 더 논의가 필요한 사항이다. 또한 문헌을 살펴보면, 혈액내 PV 역가가 10,000 copies/mL 이상일 때, PV 신병증의 진단에 93%의 특이도를 보였다고 한다.(13) 이렇게 고역가의 PV 혈증은 PV 신병증으로의 진행을 의미한다. 특히 혈액 PV-PCR 검사는 질환의 경과 관찰에도 도움이 되며, PV 신병증의 진단에 특이도가 높은 검사이나, 선별검사법으로는 낮은 민감도로 인하여 한계가 있다.(3,13,14) 따라서 바이러스 혈증의 초기 지침으로 소변 PV-PCR 검사가 유용하게 사용될 수 있다.(9,11) Tong 등(15)은 조직학적으로 진단된 8명의 PV 신병증 환자에서 소변 및 혈액의 PV-PCR를 연속적으로 측정하였는데, 소변에서는 10^6 copies/mL 이하, 혈액에서는 10^3 copies/mL 이하에서 소변의 decoy cell이 더 이상 검출되지 않았다고 하였다. 또한 소변 바이러스 역가는 혈액내 바이러스 부하의 1,000배라고 보고하고 있다. 그러나 소변과 혈액 내 바이러스 부하의 상관성이 없다는 연구 결과도 존재한다.(16,17) 이러한 혈액 내 PV DNA의 기원은 손상된 기저막을 통해 세뇨관 상피세포의 virion 또는 바이러스 DNA가 세뇨관 주위 모세혈관으로 유입된 것이라고 추정하고 있다.(15,18)

PV 감염의 위험인자에 대해 살펴보면, 본 연구에서는 이식 후 급성거부반응의 유무에 따라 PV 감염의 빈도에 유의한 차이를 보였을 뿐, 면역억제제의 종류 및 다른 임상인자에 의한 차이는 보이지 않았다. 그러나 저자들의 과거 연구 결과에서는 주면역억제제의 종류(CsA vs Tac)에 따라 PV 감염의 빈도에 유의한 차이가 있었으나,(2) 이번 연구에서는 그렇지 않았다. 이런 결과는 주면역억제제의 종류보다는 면역억제 정도가 PV 감염에 더욱 큰 영향을 미치기 때문이라고 생각된다. 앞서 설명하였듯이 본 연구 대상군의 대

부분이 MPA를 사용하였는데 이러한 점이 CsA와 Tac의 사용에 따른 PV 감염의 차이를 상쇄시켰을 것으로 생각된다.(7)

본원의 경우 소변 decoy cell 및 PV-PCR 검사를 통한 PV 감염의 전향적 감시를 시작한 2003년 이후에 조직학적으로 PV 신병증은 세 명이었으며, 전향적 감시 이전(2001~2002년)에는 7명에서 PV 신병증으로 진단되었다. 본 연구의 제한점으로는 PV 감염시 조직검사를 일괄적으로 시행하지 않고서 면역억제제를 조절하였다는 점이다. 따라서 면역억제제를 조절할 수여자의 PV 신병증의 진위여부에 대해 논란의 여지가 있을 수 있다. 그러나 본 연구에서 강조하고자 하는 점은 PV 신병증으로 확진된 경우 이미 신실질에 손상이 진행됐을 것이라는 가정하에, 거부반응이 발생하지 않는 한도 내에서, PV 증식의 초기단계에 면역억제제를 조절함으로써 PV 신병증으로의 진행을 예방할 수 있다는 점이다.

결 론

소변 decoy cell 양성군에서 이식 후 초기에 급성거부반응의 빈도가 높았으며 PV 감염의 위험인자임을 확인할 수 있었다. 바이러스 부하검사에 대한 소변 decoy cell의 양성 예측도가 낮으므로 두 가지 검사법을 사용하여 선행적 면역억제제시 지침으로 사용하는 것이 바람직하다. 또한 선행적 면역억제제 치료로 PV 신병증의 발생률을 낮출 수 있었으며, 이식 후 2년 이후에도 PV 신병증의 발생이 가능하므로 적어도 2년 이상의 주기적 관찰이 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Purighalla R, Shapiro R, McCauley J, Randhawa P. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. *Am J Kidney Dis* 1995;26:671-3.
- 2) 안형준, 김유선, 정현주, 김주희, 김현정, 전경옥, 이종훈, 김명수, 김순일. 신장이식 후 Polyomavirus 감염 검색을 위한 소변 내 Decoy cell의 전향적 감시. *대한이식학회지* 2005;19:151-6.
- 3) Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, Steiger J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347:488-96.
- 4) Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E, Fink JC, Wali R, Weir MR, Cangro CB, Klassen DK, Khaled A, Cunningham R, Bartlett ST. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 2001;1:373-81.
- 5) Limaye AP, Jerome KR, Kuhr CS, Ferrenberg J, Huang ML, Davis CL, Corey L, Marsh CL. Quantitation of BK virus load in serum for the diagnosis of BK virus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *J Infect Dis* 2001;183:1669-72.
- 6) Nicleleit V, Klimkait T, Binet IF, Dalquen P, Del Zenero V, Thiel G, Mihatsch MJ, Hirsch HH. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000;342:1309-15.
- 7) Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, Torrence S, Schuessler R, Roby T, Gaudreault-Keener M, Storch GA. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5:582-94.
- 8) Randhawa P, Vats A, Shapiro R. Monitoring for polyomavirus BK And JC in urine: comparison of quantitative polymerase chain reaction with urine cytology. *Transplantation* 2005;79:984-6.
- 9) Ding R, Medeiros M, Dadhania D, Muthukumar T, Kracker D, Kong JM, Epstein SR, Sharma VK, Seshan SV, Li B, Suthanthiran M. Noninvasive diagnosis of BK virus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1 in urine. *Transplantation* 2002;74:987-94.
- 10) Hirsch HH, Mohaupt M, Klimkait T. Prospective monitoring of BK virus load after discontinuing sirolimus treatment in a renal transplant patient with BK virus nephropathy. *J Infect Dis* 2001;184:1494-5; author reply 1495-6.
- 11) Randhawa P, Ho A, Shapiro R, Vats A, Swalsky P, Finkelstein S, Uhrmacher J, Weck K. Correlates of quantitative measurement of BK polyomavirus (BKV) DNA with clinical course of BKV infection in renal transplant patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:1176-80.
- 12) Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebillé V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5:1926-33.
- 13) Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, Mihatsch MJ, Nicleleit V, Ramos E, Randhawa P, Shapiro R, Steiger J, Suthanthiran M, Trofe J. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005;79:1277-86.
- 14) Drachenberg C, Hirsch HH, Papadimitriou JC, Mozafari P, Wali R, McKinney JD, Nogueira J, Cangro CB, Mendley S, Klassen DK, Ramos E. Cost efficiency in the prospective diagnosis and follow-up of polyomavirus allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2004;36:3028-31.
- 15) Tong CY, Hilton R, MacMahon EM, Brown L, Pantelidis P, Chrystie IL, Kidd IM, Tungekar MF, Pattison JM. Monitoring the progress of BK virus associated nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:2598-605.
- 16) Merlino C, Bergallo M, Gribaudo G, Gregori G, Paolo Segoloni G, Giacchino F, Ponzi AN, Cavallo R. Polyomavirus BK DNA quantification assay to evaluate viral load in renal transplant recipients. *J Clin Virol* 2003;28:265-74.

- 17) Leung AY, Chan M, Tang SC, Liang R, Kwong YL. Real-time quantitative analysis of polyoma BK viremia and viruria in renal allograft recipients. *J Virol Methods* 2002;103:51-6.
- 18) Nickeleit V, Hirsch HH, Zeiler M, Gudat F, Prince O, Thiel

G, Mihatsch MJ. BK-virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:324-32.
