

신장이식 후 Polyomavirus 감염 검색을 위한 소변 내 Decoy Cell의 전향적 검사

연세대학교 의과대학 외과학교실 및 ¹병리학교실, ²관동대학교 의과대학 외과학교실

안형준 · 김유선 · 정현주¹ · 김주희 · 김현정 · 전경옥 · 이종훈² · 김명수 · 김순일

Prospective Monitoring of Urine Decoy Cell after Kidney Transplantation

Hyung Joon Ahn, M.D., Yu Seun Kim, M.D., Hyeon Joo Jeong, M.D.¹, Joo Hee Kim, M.D., Hyun Jung Kim, R.N., Kyung Ock Jeon, R.N., Jong Hoon Lee, M.D.², Myoung Soo Kim, M.D. and Soon Il Kim, M.D.

Departments of Surgery and ¹Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, ²Department of Surgery, Kwan-dong University College of Medicine, Goyang, Korea

Purpose: To find the incidence and risk factors for polyomavirus (PV) infection, we monitored urine decoy cell (UDC) after renal transplantation. **Methods:** From March 2003 to September 2004, 142 de novo renal recipients were prospectively monitored for UDC at post-transplant 1, 3, 6, 9, 12 months. According to the number of UDC in Cytospin, patients were divided into 3 groups: A (0), B (1~9) and C (≥ 10). We decreased immunosuppression (IS) when group C status persisted for more than 1 month or more than 4 UDC was continuously detected for more than 3 months. Differences in demographics and clinical characteristics among the groups were compared. **Results:** Forty four (31%) patients were found to have positive UDC at least at one examination (30 in group B and 14 in C). The number of patients with positive UDC at postoperative 1, 3, 6, 9, 12 months were 10 (22.7%), 14 (31.8%), 17 (38.6%), 27 (61.3%), 20 (45.4%) respectively with a highest at 9 months. One PV nephropathy was documented

by renal biopsy. During the period from January 2001 to December 2002 when we did not prospectively monitor UDC, 7 PV nephropathy cases were documented among 116 recipients. Tacrolimus (Tac) and episode of acute rejection (AR) were significant risk factor for positive UDC ($P=0.036$, 0.010 , respectively). Cumulative incidence of PV infection was significantly different by the use of Tac and episode of AR ($P=0.03$, 0.013 , respectively). **Conclusion:** Use of Tac and episode of AR were risk factor for positive UDC and PV infection. Modulation of IS by the result of UDC monitoring could decrease the development of PV nephropathy after renal transplantation. (J Korean Soc Transplant 2005;19:151-156)

Key Words: Polyomavirus infection, Urine decoy cell, Kidney transplantation

중심 단어: 폴리오마바이러스, 소변 decoy 세포, 신장 이식

서 론

Polyomavirus (PV) 신병증은 이식 신장의 기능 부전을 초래하는 중요한 원인으로, 1~10%의 발생빈도를 보이며, 이 중 10~80%에서 이식신 실패로 진행된다고 한다.(1) 신장 이식 후 PV 감염은 대부분 체내 잠복하는 바이러스의 재활성화에 기인하며, 현재까지 이 질환에 대한 최선책은 이식 신장에 비가역적 변화가 발생하기 전에 면역억제제의 종류와 투여수준(net immunosuppression)을 조절하는 것이다. 이를 위해서는 PV 감염 및 신병증의 조기 진단이 필수적이라 하겠다. 본 연구의 목적은 PV 감염증의 지표인 소변 내 decoy cell (Fig. 1)의 전향적 검사를 통해 신이식 후 발생하는 PV 감염증 빈도와 발생 위험인자를 규명하고, 면역억제제의 조절에 있어 소변 decoy cell의 유용성을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

책임저자: 김유선, 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 의과대학 외과학교실, 120-752
Tel: 02-2228-2115, Fax: 02-313-8289

E-mail: yukim@yumc.yonsei.ac.kr

본 논문의 내용은 제35차 대한이식학회 학술대회(9월 30일, 서울)에서 구연되었음.

본 연구는 2004~2006년도 연세대학교 의과대학 위탁연구비지원과 연세대학교 의과대학 장기이식연구소의 연구보조금지원으로 이루어졌음.

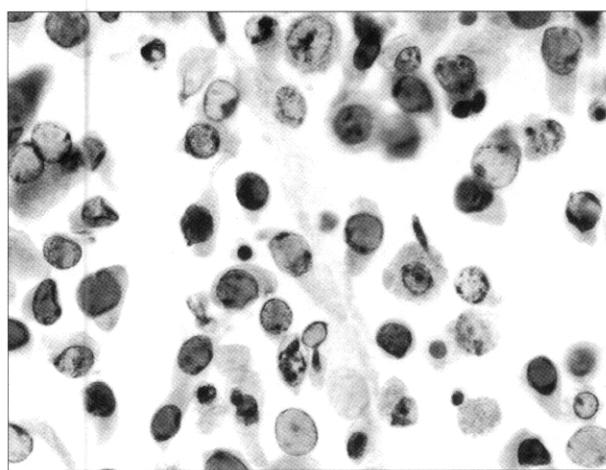


Fig. 1. Decoy cells with an increased N/C ratio and enlarged ground-glass nucleus are seen in urine cytology (papanicolaou stain, $\times 400$).

방법

1) 연구 설계

2003년 3월부터 2004년 9월까지 본원에서 시행한 신장이식 173예 중, 이식 후 1, 3, 6, 9, 12개월에 걸쳐 정기적으로 소변 decoy cell 검사를 시행하고 4회 이상 검사결과가 보고된 142명을 연구대상으로 하였다. Decoy cell이 검출되면 매 1개월마다 추가로 추적 관찰을 하였다.

2) 기초 임상자료

환자의 나이, 성별, 이식신의 종류(혈연, 비혈연, 사체이식), 재이식 여부, ABO 혈액형, 투석의 종류와 기간, 조직적 합도 그리고 사용한 면역억제제 종류를 조사하여 기초자료로 사용하였다.

3) 소변 decoy cell 검사

Decoy cell의 검사는 소변 검체 10 mL를 cytocentrifuge하여 Papanicolaou 염색 후 판독 하였다. 처음 검출 당시의 decoy cell의 수에 따라 환자군을 세 군으로 분류하였다(A군: 검출이 안 된 경우(n=98), B군: 1~9개(n=30), C군: 10개 이상 검출된 경우(n=14)).

4) 신장 생검 시기 및 방법

신기능의 변화를 초래할만한 이상 소견 등이 없으면서 혈청 크레아티닌치의 상승(0.2 mg/dL 또는 기저치의 30% 증가되는 경우)을 보인 경우와 임상적으로 급성 거부 반응이 의심되는 경우, 그리고 24시간 단백뇨가 1.0 g 이상인 경우 신생검을 시행하였다.

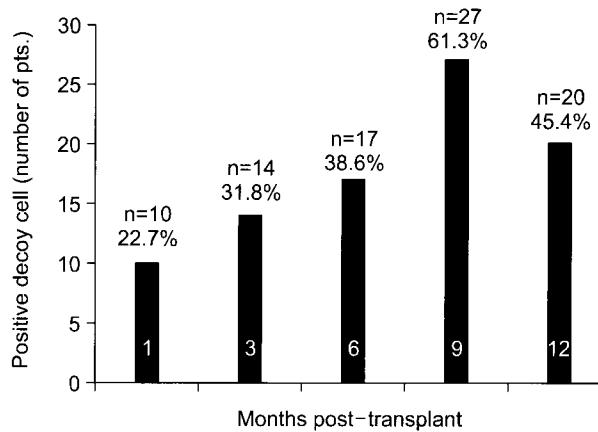


Fig. 2. Detection rate of decoy cell at each postoperative period.

5) 면역억제제의 사용

주면역억제제로 cyclosporine A (CsA) 또는 tacrolimus (Tac)를 사용하였다. 스테로이드는 수술 2일 전부터 prednisolone 1 mg/Kg/day을 사용하고 수술 당일 methylprednisolone 1000 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. 그러나 2예의 백혈구감소증, 4예의 B형 및 C형 간염보균환자 그리고 5예의 조직적합항원 완전일치군의 경우 MPA를 제외한 이중요법을 사용하였다.

6) 통계

단변량 분석시 범주형 범주는 fisher's exact test로, 연속형 범주는 ANOVA로 시행하였고, 다변량 분석은 Cox proportional hazard model를 사용하였으며, 누적 발생률은 Kaplan-Meier 법을 그리고 그룹간의 비교는 log rank test를 사용하였다.

결과

연구기간 중 소변 decoy cell 검사에서 A군은 98명(69%), B군은 30명(21.1%), 그리고 C군은 14명(9.9%)으로, 1회 이상 양성인 경우는 총 44명(31%)이었다. 시기별로는 수술 후 9개월에 27예(61.3%)로 가장 높은 검색빈도를 보였다(Fig. 2).

1) 각 군간의 위험인자 비교 분석

각 군간의 기초 임상자료를 단변량 분석하였다. CsA를 사용한 경우 A, B, C군이 각각 71명(74.7%), 19명(20.0%), 5

Table 1. Univariate analysis of demographic factors related to the numbers of urine decoy cell among the groups

Variable		Group A	Group B	Group C	P value
Age		40.3±11.7	40.2±10.3	38.5±11.6	N.S*
Sex	M	64 (65.3%)	25 (83.3%)	10 (71.4%)	N.S
	F	34 (34.7%)	5 (16.7%)	4 (28.6%)	
Type of dia. [†]	Preemptive	22 (22.4%)	8 (26.7%)	5 (35.7%)	N.S
	HD [‡]	59 (60.2%)	20 (66.7%)	8 (57.1%)	
	CAPD [§]	17 (17.3%)	2 (6.7%)	1 (7.1%)	
Duration of dia.		16.4±34.6	27.5±40.2	18.7±28.1	N.S
ABO matching	Identical	90 (91.8%)	26 (86.7%)	13 (92.9%)	N.S
	Compatible	8 (8.2%)	4 (13.3%)	1 (7.1%)	
Tx [¶] number	1 st	89 (90.8%)	28 (93.3%)	11 (78.6%)	N.S
	Repeat	9 (9.2%)	2 (6.7%)	3 (21.4%)	
Kinds of donor	Living	95 (96.9%)	29 (96.7%)	12 (85.7%)	N.S
	Deceased	3 (3.1%)	1 (3.3%)	2 (14.3%)	
Main IS [¶]	CsA ^{**}	71 (72.4%)	19 (63.3%)	5 (35.7%)	0.025
	Tac	27 (27.6%)	11 (36.7%)	9 (64.3%)	
MPA [¶]	NO	5 (5.1%)	3 (10.0%)	3 (21.4%)	N.S
	YES	93 (94.9%)	27 (90.0%)	11 (78.6%)	
AR [¶]	NO	84 (85.7%)	23 (76.7%)	8 (57.1%)	0.036
	YES	14 (14.3%)	7 (23.3%)	6 (42.9%)	
HLA matching	(mean No)	3.17±1.22	3.20±1.37	3.21±1.25	N.S

*N.S = not significant; [†]dia. = dialysis; [‡]HD = Hemodialysis; [§]CAPD = Continuous ambulatory peritoneal dialysis; Tx = Transplantation; [¶]IS = Immunosuppression; **CsA = cyclosporine A; ^{||}Tac = tacrolimus; [¶]MPA = mycophenolic acid; [¶] AR = Acute rejection.

Table 2. Multivariate analysis of risk factors related to occurrence of urine decoy cell

Variable	P-value	Exp (B)	95% CI*	
			Lower	Upper
Main IS [†]				
Tac [‡]	0.036	1.891	1.043	3.428
CsA [§] (reference)				
AR [¶]				
Yes	0.010	2.369	1.233	4.551
No (reference)				

*CI = confidence interval; [†]IS = Immunosuppression; [‡]Tac = tacrolimus; [§]CsA = cyclosporine; AR = Acute rejection.

명(5.3%)이었으며, Tac를 사용한 경우에는 각각 27명(57.4%), 11명(23.4%), 9명(19.1%)으로, Tac 사용군에서 소변 decoy cell의 검출빈도가 유의하게 높았다(P=0.025). 또한 이식 수술 후 조기 급성거부반응의 병력이 없는 경우에 A, B, C군은 각각 84명(73%), 23명(20.0%), 8명(7.0%)이었으며, 급성거부반응의 병력이 있는 경우는 각각 14명(51.9%), 7명(25.9%), 6명(22.2%)으로 급성거부반응의 병력이 있는 경우 decoy cell의 검출비율이 유의하게 높았으나(P=0.036) 그 외의 위험인자는 각 군 간에서 유의한 차이가 없었다(Table 1). 다변량 분석에서도 Tac을 사용한 경우와 급성거부반응의 병

력이 각각 독립적인 위험인자임이 확인되었다(Table 2).

2) Decoy cell를 이용한 PV 감염의 누적 발생률(Fig. 3)

연구 대상군에서 PV 감염의 지표인 decoy cell의 1년 누적 발생률은 29%이었다. 사용한 주 면역억제제의 종류에 따라 CsA 사용시 23.2% 그리고 Tac 사용시 40.73%로, Tac 사용군에서 유의하게 높은 누적 발생률을 보였다(P=0.03). 또한 수술 후 조기에 급성거부반응의 병력이 있는 경우에서 1년 누적 발생률이 48.41%로 급성거부반응의 병력이 없는 경우의 24.44%에 비해 유의한 차이를 보였다(P=0.013).

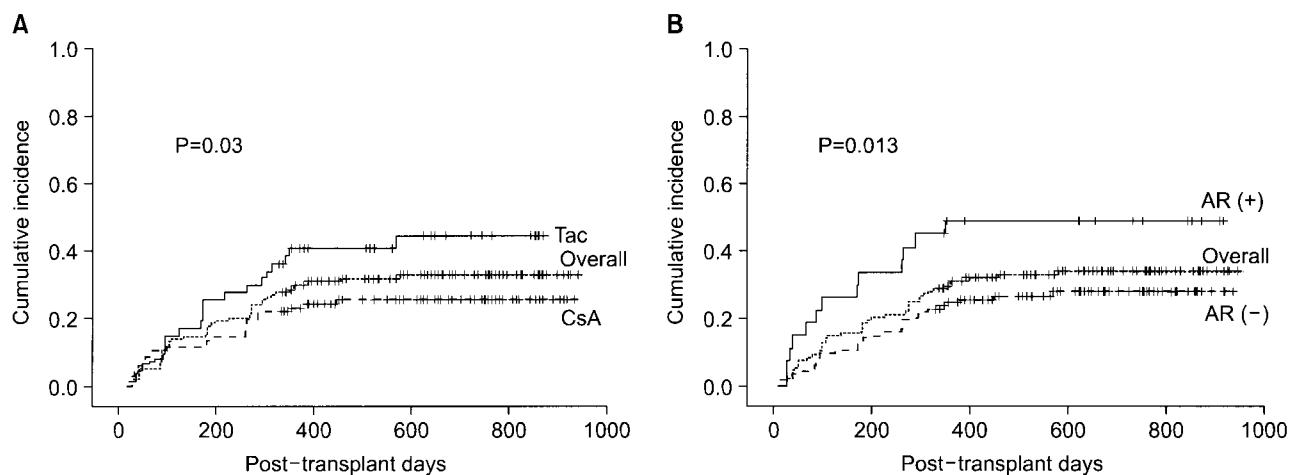


Fig. 3. Cumulative incidence of PV infection with urine decoy cell. Different incidence of PV infection by the types of immunosuppressive agents (CsA versus Tac) (A) and Different incidence of PV infection by the occurrence of acute rejection (AR) (B).

3) 면역억제제의 조절

면역억제제 조절의 적응증으로는 1개월 이상 지속되는 C군 환자 그리고 4개 이상의 decoy cell 검출이 3개월 이상 지속되면 MPA의 용량을 50% 감량하였으며, 혈중농도에 따라 Tac 또는 CsA의 사용량을 감량하였다. 감량 후에도 decoy cell 검출이 계속되면 MPA의 사용을 중단하였으며 Tac을 사용하는 경우 CsA으로의 약제변경도 시도하였다. 본 연구 대상군에서는 13명이 상기의 적응증에 합당하여 면역억제제를 조절하였다.

4) PV 신병증의 발생

연구기간동안 142명 중 한 명의 환자에서 조직학적으로 PV 신병증이 진단되었다. 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.

고 찰

PV 신병증은 최근 들어 신장이식 후 이식신장의 기능부전 및 이식신 실패의 중요한 원인으로 대두되고 있다. 그러나 아직까지 최선의 치료는 조기에 PV 감염을 진단하여, 이식신장이 비가역적 손상을 받기 전에 면역억제제를 조절하는 것이다. DNA 바이러스인 PV는 Papovavirus 과에 속하며, 사람에게 감염을 일으킬 수 있는 PV로는 Polyomavirus hominis 1형 바이러스(BK 바이러스), Polyomavirus hominis 2형 바이러스(JC 바이러스) 그리고 Simian virus 40 (SV 40)이 있고, 사람이 자연 속주인 경우는 BK 바이러스와 JC 바

이러스 2가지 종류로 알려져 있다. 특히 BK 바이러스는 신장이식 후 요관 협착, 일과성 이식신 부전 그리고 비가역적 PV 신병증의 주요 원인이며 우리나라에서도 보고된 바 있다.(2-4) BK 바이러스와 JC 바이러스 또는 SV 40 바이러스의 동시감염에 의한 PV 신병증은 여러 문헌에서 보고하고 있으나,(5-7) JC 바이러스나 SV 40 바이러스 단독 감염에 의한 PV 신병증의 보고는 매우 드물다.(8) PV 신병증의 진단은 신장 생검을 시행하여 세관상피세포의 핵내 바이러스 봉입체와 급성 세관 손상 및 고사 소견 등을 통해 확진이 가능하며, 조직에서 PV를 확인하기 위한 부가적인 방법으로 전자현미경, 면역학적 방법, 제자리부합법(*in situ hybridization*), 중합효소연쇄반응법 등이 있다. 선별검사법으로는 소변에서 바이러스 봉입체를 함유한 decoy cell을 관찰하는 방법, 소변이나 혈청내 바이러스 중합효소연쇄반응법 등이 있다.(1,2,9) 그러나 아직 최선의 선별검사에 대해서는 논란의 여지가 있으며, 본 연구에 사용된 decoy cell의 검사는 저렴하고 간편한 장점이 있으나, 단점으로는 소변 검체의 상태 및 판독하는 병리의사에 따라 그 결과가 다르게 나타날 수 있고 신장병증에 특이적으로 나타나는 것이 아니기 때문에 위양성률이 높다는 것이다. Hirsch 등(10)은 decoy cell의 양성 예측도를 29%로 보고하고 있으나, Drachenberg 등(11)에 의하면 초기 PV 신병증의 경우 병변이 주로 신수질에 위치하고 미세한 다소성 병변(small multifocal lesion)이 많아 일반적인 조직 검사로는 음성으로 판독될 가능성이 높아 조직 생검시 신수질을 포함시켜 절편을 $4\mu\text{m}$ 간격으로 염색한 결과 PV 신병증의 초기 병변의 진단율을 높일 수 있어 decoy cell의 양성예측도를 90%로 보고하고 있다. 또한 안정된 신기능을 보이는 신장이식 환자의 약 20%에서 decoy cell이 검출되기 때문에, Cytospin 3개 이하의 decoy cell을 보이면서 소변 검체에 염증세포가 없는 경우 PV 신병증으로 진단될 가능성은 매우 희박하다.

고 보고하고 있다. 따라서 소변 decoy cell 검사를 정성 검사보다는 반정량적 검사를 하는 것이 PV 신병증의 선별검사에 도움을 줄 수 있다고 하였다. 신장이식 후 PV 신병증의 위험인자를 고찰해 보면, 일차로 과도한 면역억제가 원인으로 생각한다. 최근 들어 PV 감염의 증가 추세는 Tac와 mycophenolate mofetil 등의 강력한 면역억제제의 사용증가와 연관성이 있을 것으로 추정된다.(2,12-14) 본 연구에서도 Tac 사용군이 CsA 사용군보다 PV 감염의 지표인 소변 decoy cell의 검출이 의미있게 높았다. 그러나 MPA의 사용 유무에 따른 비교에서는 MPA를 사용하지 않은 환자군이 11명으로 MPA를 사용한 환자군 131명에 비해 상대적으로 그 숫자가 적어 본 연구에서는 의미있는 차이를 보이지 않은 것으로 해석된다. 둘째로는 이식 신장의 손상이 PV 감염을 일으킬 수 있다는 것이다. 문헌 보고에 의하면 신장이외의 고령장기 이식시 동일한 면역억제제의 용량 및 혈중농도에서 본래 자신의 신장에 발생하는 PV 신병증은 매우 드문 것으로 보고되고 있다.(15,16) 따라서 정확한 기전은 밝혀지지 않았지만, 이식 수술 후 조기 급성거부반응, 요관스텐트의 사용, 허혈성 손상 등 여러 원인에 의해 손상된 이식 신장의 세뇨관 상피세포는 불현성으로 잠재해 있던 PV 바이러스가 쉽게 침투할 수 있는 조건이 된다.(1,17) 본 연구에서도 수술 후 조기에 급성거부반응이 있던 경우에 유의한 소변 decoy cell 양성을 보였다. PV 감염증과 신병증의 진단과 치료에 있어 고려할 점은, 첫째로 조기 진단과 면역억제제 조절의 중요성이다. 최근에 cidofovir를 이용한 성공적인 항 바이러스 치료가 보고되고 있으나,(18,19) 현재까지는 면역억제제의 조절이 최선의 치료로 간주된다. 본 연구에서처럼 decoy cell을 이용한 면역억제제의 조절은, decoy cell 검사법이 위양성이 있을 수 있다는 점과 급성거부반응 발생의 위험성때문에 신중히 결정되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 앞서 기술한 바와 같이 3개 이하 또는 일파성으로 decoy cell이 검출되는 경우 PV 신병증의 가능성성이 낮기 때문에 면역억제제의 조절보다는 경과 관찰에 중점을 두었으며, 치료의 경과 판정은 decoy cell 및 소변과 혈청에서 PCR 법을 이용한 바이러스 copy수의 음성전환으로 판정하였다. 비록 본 연구에서 대조군의 설정이 없고 protocol 조직검사를 시행하지는 않았지만 감시체계를 사용한 시기(2003~2004년)에 PV 신병증의 빈도는 0.7%로 본원의 과거 자료와 비교해 본다면, 감시체계를 사용하기 전(2001~2002년)의 6.0%보다 낮은 PV 신병증의 빈도를 보였다. 둘째는 면역억제제의 감량시 거부반응의 위험성으로, 다행히 본 연구에서는 면역억제제 조절에 따른 급성거부반응을 보인 환자는 없었지만 그 가능성은 항상 존재하므로 추후 적절한 면역억제제의 조절 체계를 수립하는 것이 중요할 것으로 생각한다.

결 론

전향적인 소변 내 decoy cell의 감시는 PV 감염의 조기진단을 위한 선별검사법으로 유용하며 이를 통한 면역억제제의 조절이 가능하다고 생각한다. 소변 decoy cell 검사로 반영된 PV 감염증은 신장이식 후 급성거부반응의 기왕력을 가진 환자나 면역억제제로 Tac을 사용한 환자에서 유의하게 높게 발생하였다.

REFERENCES

- Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analysis and recommendations. *Transplantation* 2005;79:1277-86.
- Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003;3:611-23.
- 문장일, 정현주, 홍순원 등. 신이식 후 polyomavirus 감염에 의한 이식신 기능부전. *대한이식학회지* 1998;12:313-8
- 김봉수, 김세훈, 권기환 등. 신장이식 환자에서 BK 바이러스 감염에 의한 간질성신염: 진단과 치료 및 예후. *대한이식학회지* 2002;16:219-26
- 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.
- Baksh FK, Finkelstein SD, Swalsky PA, Stoner GL, Ryschewitsch CF, Randhawa P. Molecular genotyping of BK and JC virus in human polyomavirus-associated interstitial nephritis after renal transplantation. *Am J Kid Dis* 2001;38:354-65.
- Li RM, Mannon RB, Kleiner D, et al. BK virus and SV40 coinfection in polyomavirus nephropathy. *Transplantation* 2002;74:1497-504.
- Kazory A, Ducloux D, Chalopin JM. The first case of JC virus allograft nephropathy. *Transplantation* 2003;76:1653-5.
- Khaled AS. Polyomavirus (BK virus) nephropathy in kidney transplant patients: a pathologic perspective. *Yonsei Med J* 2004;45:1065-75.
- Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347:488-96.
- Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 2001;1:373-81.
- Brennan DC, Agha I, Bohl DL, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5:582-94.
- Binet I, Nickleit V, Hirsch HH, et al. Polyomavirus disease

- under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999;67:918-22.
- 14) Hodur DM, Mandelbrot D. Immunosuppression and BKV Nephropathy. *N Engl J Med* 2002;347:2079-80.
- 15) Haririan A, Hamze O, Drachenberg CB, et al. Polyomavirus reactivation in native kidneys of pancreas alone allograft recipients. *Transplantation* 2003;75:1186-90.
- 16) Limaye AP, Smith KD, Cook L, et al. Polyomavirus nephropathy in native kidneys of non-renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5:614-20.
- 17) Fishman JA. BK virus nephropathy-polyomavirus adding insult to injury. *N Engl J Med* 2002;347:527-30.
- 18) Vats A, Shapiro R, Singh RP, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplantation* 2003;75:105-12.
- 19) Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, et al. Treatment of refractory BK virus-associated nephropathy with cidofovir. *Am J Transplant* 2003;3:186-91.