

신장이식전 측정된 혈청 IgA 및 IgA-Anti-Fab 자가항체의 정량분석과 그 의의에 관한 예비 연구

연세대학교 의과대학 외과학교실 및 임상병리학과교실¹

김유선 · 이정운¹ · 김명수 · 이은미
김현숙¹ · 김순일 · 김택균 · 박기일

= Abstracts =

Pretransplant Serum IgA Concentration and IgA-Anti-Fab Autoantibody Activity in Renal Transplant Recipients and their Clinical Significance: A Pilot Study

Yu Seun Kim, M.D., Jung Woon Lee, M.D.¹, Myoung Soo Kim, M.D., Eun Mi Lee, B.S.
Hyon-Suk Kim, M.D.¹, Soon Il Kim, M.D., Taekyun Kim, M.D. and Kiil Park, M.D.

Departments of Surgery and Clinical Pathology¹, Yonsei University College of Medicine

Recent reports documented an association between the pretransplant serum IgA level and/or IgA-Anti-Fab antibody activity, and the increased graft survival in kidney transplants. This pilot study correlated the serum IgA levels as well as IgA-Anti-Fab antibody activities, with the living donor renal allograft survival. Pretransplant sera of 79 kidney transplants were investigated for IgA level by nephelometry and IgA-Anti-Fab autoantibody by ELISA, together with 18 sera from controls. Patients were divided into 2 cohort groups about the median value of the serum IgA concentration. High IgA levels did correlate with increased graft survival with pretransplant serum IgA level above vs. below the median(352 mg/dl) displaying a 13% survival advantage at 5 years after transplantation. However, pretransplant serum IgA-Anti-Fab activities did not correlate with graft survival with levels above vs. below the median(38 O.D.).

In conclusion, this pilot study, although based on the limited numbers of patients, suggest that pretransplant serum IgA level might be a potential candidate for the prognostic indicator of long-term renal allograft survival. To confirm and extend the power of serum IgA and/or IgA-Anti-Fab antibody, main project based on the large number of patients has be settled down in the near future.

Key Words : Serum IgA level, serum IgA-Anti-Fab autoantibody, graft survival

서 론

신장이식후 이식신 생존율에 영향을 미치는 인자로는 HLA 조직적합의 양성정도, 공여자의 종류, 장

기허혈 및 보존시간, 이식직후 기능여부, 공수여자의 나이, 신장의 원인질환, 급성거부반응의 기왕력, PRA (panel reactive antibody)의 양성정도, 환자 자체의 고면역능력 등이 국내외적으로 인정되고 있으나^{1,2)} 환자 자체의 고면역능력을 예견할 수 있는 실질적인 방법은 현재 PRA검사에 불과하여 공여장기가 부족한 상황에서 이식신 생존율을 향상시키는데 제약이 있어 왔다.

*본 연구는 1995년도 연세대학교 의과대학 과별 project 연구비로 이루어졌음.

그러나 최근에 이식전에 환자의 혈청에서 IgA 항체 농도와 IgA-Anti-Fab 자가항체의 역가를 측정하여 이러한 항체들의 농도가 단독 또는 병합하여 만성신부전환자의 평균치 또는 중앙값보다 높은 경우 이식신 생존률이 그렇지 않은 경우에 비해 유의하게 우수하다는 보고가 독일의 Heidelberg group을 중심으로 발표되면서 이식후 예후를 결정하는 예후인자로써의 상기 항체농도의 중요성이 부각되고 있다^{3,4)}. 그들은 IgA 항체농도와 IgA-Anti-Fab 자가항체역가가 증가한 경우는 이러한 항체가 어떤 식으로든 면역조절상태 (immunoregulatory state)에 영향을 주며 특히 면역억제의 효과를 나타내어 결과적으로 이식신 생존률이 향상될 것으로 가정하고 있다.

이에 저자들은 아직까지 우리나라에서 말기신부전증 환자를 대상으로 하여 상기 항체들의 농도와 역가를 정량분석한 보고나 이러한 항체의 농도 및 역가가 향후 신장이식의 예후인자로써 가능한지에 대한 연구가 없었으므로 예비실험을 통해 이들을 정량 분석하여 이러한 지표가 이식환자에서 중요한 예후인자로써 이용될 수 있는지를 살펴보기 위해 본 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

1) 18명의 건강한 남녀(정기신체검사를 받고있는 병원직원과 생체 신장-공여 예정자)에서 채혈한 혈청에서 IgA 농도와 IgA-Anti-Fab 자가항체 역가를 측정하여 정상대조군(control group)으로 삼았으며 생체신 이식수술전에 이미 채혈하여 영하 70도에 기냉동보관된 혈청검체중 이식 당시 환자의 나이가 15세 이상이며 신부전증의 원인질환이 조직학적으로 규명된 79명의 환자를 시험군(study group)으로 선정하였다. 시험군의 선택은 이식후 상황(이식신 기능여부, 생존 또는 사망)을 모르는 상태에서 무작위로 하였다. 79명의 시험군환자들을 말기신부전을 일으킨 원인신 질환에 따라 41명의 IgA 신병증 환자(IgA 亞群)와 38명의 신우신염/다낭성신증 및 非IgA 신병증 환자등(非IgA 亞群)으로 재분류하였다.

2) 혈청 IgA 농도는 Nephelometry(Behring, Germany)를 이용하여 측정하였다. 기존에 이식전에 채혈하여 혈청분리후 영하 70도에 냉동보관중인 혈청 0.5ml를

녹여 기체를 통한 자동분석을 하였다.

3) IgA-Anti-Fab-자가항체역가는 ELISA 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 96 well microtiter plate (Nunc, Roskilde, Denmark)를 37도에서 16시간동안 2.0 ug/mL human IgG-Fab으로 coating후 plate를 세척한후 uncoated site는 1% bovine serum albumin-phosphate buffered saline(BSA-PBS) solution 15 μ L을 사용하여 37도에서 3시간동안 incubation하여 block시킨다. 1:64로 희석된 test serum 15 μ L를 Fab-coated well에 투여후 22도에서 1시간동안 incubation 시행한다. 세척용 buffer는 PBS-Tween 0.05%를, substrate는 p-nitro-phenylphosphate disodium solution (Sigma, USA)을 사용하였다. 22도에서 1시간 Incubation 후 4차례의 washing buffer를 이용하여 세척하였다.

최종반응은 alkaline phosphatase-conjugated goat antibodies specific for IgA-Fc(Sigma, USA)를 1:5000 희석후 50 μ L를 이용하여 정색반응후 ELISA Processor III(Behring, Germany)를 이용해 405nm영역에서 optical density(O.D.)를 측정하였다.

4) 상기 검사는 2회 반복 시행하여 평균치를 구하였다.

5) 시험군에 대해서는 현재의 환자 및 이식신의 생존여부를 확인하였으며 후향적으로 이식신의 생존률에 영향을 미칠수 있는 여러인자 즉 이식 당시의 나이, 성별, ABO혈액형의 일치정도, 조직적합항원의 일치정도, 공여자와의 관계와 급성거부반응의 경력등을 조사하였다.

6) 이식환자에서는 중앙값(median value)을 기준으로 하여 각항체농도의 높고 낮음이 이식신 생존률에 영향을 미치는지를 검증하였다. IgA항체농도는 352 mg/dl을 기준으로 高IgA항체군과 低IgA항체군으로 나누었으며, IgA-anti-Fab항체의 역가는 38 O.D.를 기준으로 高IgA-Anti-Fab항체군과 低IgA-Anti-Fab항체군으로 나누었다. 각 항체농도의 높고 낮음에 따른 영향평가는 이식신 생존률과 급성거부반응의 발생빈도의 차이로 조사하였다.

7) 각군간의 검사치는 Students t-test방법을 이용

유의수준 0.05 이하로 검증하였으며 상이한 두 구간
의 빈도는 Yates 또는 Pearson's Chi-square 방법을 이
용하여 유의수준 0.05 이하로 검증하였다. 이식신 생
존률은 Kaplan-Meier 방법에 의한 생존률(actuarial graft
survival)로 표시하였으며 두 구간간의 생존률 차이는
Mantel-Cox법으로 유의수준 0.05 이하로 검증하였다.
혈청 IgA 농도와 혈청 IgA-Anti-Fab 농도 사이의 상관
관계는 회귀직선에 의한 상관관계를 유의수준 0.05
이하로 검증하였다.

결 과

1. 연구대상환자의 성별 및 연령별 분포

정상 대조군(n=18)의 평균 연령은 38.0세로 시험군
(n=79)의 30.1세와 비교하여 유의있는 차이를 보이지
않았으며 성별의 비율도 두 구간에 차이가 없었다.
시험군중에서 IgA亞群과 非IgA亞群간 성별 및 이식
당시 연령도 차이를 보이지 않았다(Table 1, 2).

IgA亞群과 非IgA亞群간 사이에 소위 이식신 생
존률에 영향을 미칠 수 있다고 알려진 위험인자 즉
수여자-공여자의 관계, 조직적합항원의 적합정도,
ABO혈액형의 적합정도, 급성거부반응의 경력 등의
빈도도 유의한 차이가 없었다(Table 2).

**2. 대조군, IgA亞群, 非IgA亞群에서 IgA 항체농
도 및 IgA-Anti-Fab 항체역가의 차이**

대조군의 혈청내 평균 IgA 항체농도는 317(±142)

mg/dl로 非IgA亞群의 평균치 287(±119) mg/dl와 차
이가 없었으나 IgA亞群의 435(±135) mg/dl과는 통계
학적으로 유의한 차이를 보였다. 혈청내 IgA-Anti-
Fab 자가항체역가도 IgA 농도와 마찬가지로 IgA亞群
에서만 의미있게 증가된 조건을 보였다(Table 3).

IgA 항체농도와 IgA-Anti-Fab 자가항체역가의 상관관
계를 살펴보면 대조군에서는 수치사이의 비례관계를
임증할 수 없었으나(R=0.242, p=0.334), IgA亞群 이나
非IgA亞群에서는 IgA 항체농도와 IgA-Anti-Fab 항체역가
사이에 유의한 상관관계가 있어 IgA 항체농도와 IgA-
Anti-Fab 항체역가는 직선상관관계를 보였다(각각 R=0.33
과 0.549, P<0.01)(Fig. 1~3).

3. 원인 신질환에 따른 이식신생존률의 차이

79명의 이식환자를 이식후 평균 38.7개월간 추적
한 결과 IgA亞群(원인질환이 IgA 신병증인 환자)에서
는 1명에서 이식신 소실이 발생한 반면 非IgA亞群
(원인질환이 IgA 신병증이 아닌 환자)에서는 3명의

Table 2. Risk factors affecting the graft survivals in study subgroups

	IgA group (n=41)	Non-IgA group (n=38)	p-value
Age at Tx	32.0 ± 8.3	28.2 ± 11.5	0.0973
Sex (Male:Female)	31:10	26:12	0.4763
Donor-Recipient Relation (Related : Unrelated)	27:14	20:18	0.2317
Rejection within 1 month	41.5%	28.5%	0.2452
Rejection within 1 year	51.2%	44.7%	0.5645
Delayed acute rejection	2/41	1/38	0.6017

Table 1. Demographics of normal control group and study group

Age	Control group	IgA study group	Non-IgA study group	Total
≤ 19	0	4	8	12
20-29	4	11	15	30
30-39	8	19	9	36
40-49	2	5	3	10
>50	4	2	3	9
Total	18	41	38	97

p=0.0836

Table 3. Serum IgA and IgA-Anti-Fab level(Mean ± S.D.)

	Control group (n=18)	IgA group* (n=41)	Non-IgA group (n=38)
Serum IgA	317 ± 142.2	435.0 ± 135.2	286.9 ± 119.4
Serum IgA-Anti-Fab	27.4 ± 42.7	62.8 ± 51.1	32.5 ± 29.2

* Significantly different from Non-IgA group or normal control group

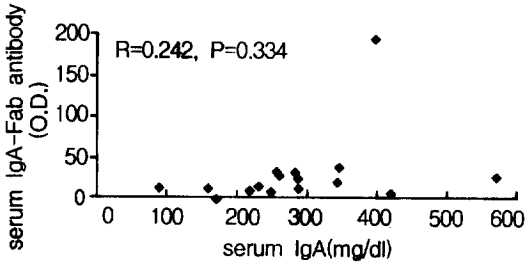


Fig. 1. Association of serum IgA level and serum IgA-Anti-Fab activity in normal control group.

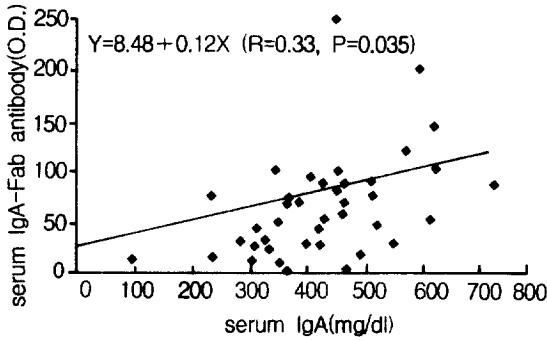


Fig. 2. Association of serum IgA level and serum IgA-Anti-Fab activity in IgA-study group.

이식신 소실이 발생하여 非IgA亞群의 3년 및 5년 이식신 생존률은 각각 94.3%와 89.2%로 IgA亞群의 생존률에 비해 다소 낮은 경향은 있었으나(positive trend) 통계학적으로 유의한 정도는 아니었다(Fig. 4).

4. IgA항체농도와 IgA-Anti-Fab항체역가의 高低에 따른 이식신생존률의 차이

원인신질환의 종류에 관계없이 79명의 시험군을 IgA항체농도에 따라 IgA항체농도의 중앙값인 352 mg/dl 이상인 경우를 高항체군(n=39)으로, 352 mg/dl 이하인 경우를 低항체군(n=40)으로 나누어 두 구간 이식신 생존률을 비교해 본 결과 高항체군에서는 이식신 소실의 경우가 없었으나 低항체군에서는 4예의 이식신 소실이 관찰되어 5년 이식신 생존률이 高항체군은 100%, 低항체군은 87.1%로 高항체군에서의 생존률이 통계학적으로 유의하게 우수하였다(p=0.0436)(Fig. 5).

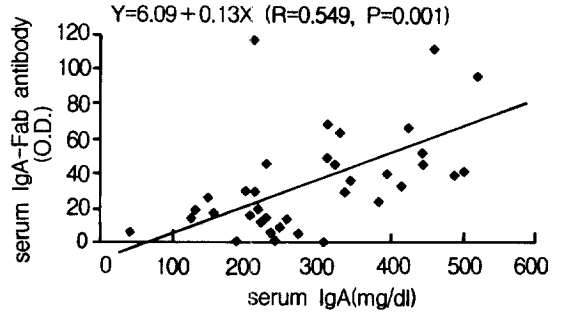


Fig. 3. Association of serum IgA level and serum IgA-Anti-Fab activity in Non-IgA study group.

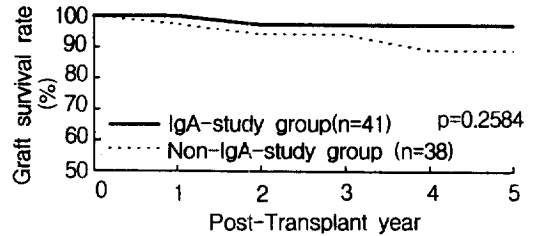


Fig. 4. Graft survival rate according to the original kidney disease.

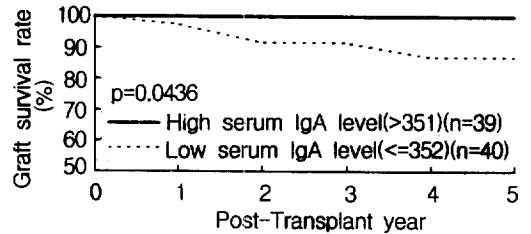


Fig. 5. Graft survival rate according to the serum IgA level.

같은방법으로 혈청 IgA-Anti-Fab항체역가도 중앙값인 38 O.D.를 기준으로 高역가군(n=39)과 低역가군(n=40)으로 나누어 이식신 생존률을 비교하면 高역가군에서의 이식신 생존률이 높은 경향(positive trend)을 보였으나 통계적으로는 유의한 수준에 이르지 못하였다(p=0.2463)(Fig. 6).

Table 4. Incidence of acute rejection according to the serum IgA level and serum IgA-Anti-Fab level

		Incidence of acute rejection (%)		
		within 1 month*	within 1 year*	after 1 year*
Serum IgA level	High (>352)(n=39)	38.5	48.7	2.6
	Low (≤352)(n=40)	32.5	47.5	5.0
Serum IgA-Anti-Fab level	High (>38 O.D.)(n=39)	33.3	46.2	5.1
	Low (≤38 O.D.)(n=40)	37.5	50.0	2.5

* not significant between high and low group

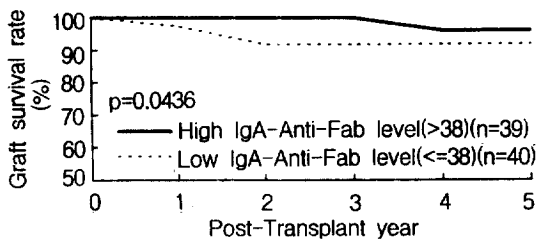


Fig. 6. Graft survival rate according to the serum IgA-Anti-Fab level.

5. IgA항체농도와 IgA-Anti-Fab항체역가의 高低에 따른 급성거부반응 발현빈도의 차이

高IgA항체군에서 이식후 1개월및 1년내에 발생한 급성거부반응빈도는 각각 38.5%와 48.7%로 低IgA항체군의 32.5%와 47.5%와 비교해 의의있는 차이를 보이지 않았다. 마찬가지로 혈청 IgA-Anti-Fab항체역가에 따른 급성거부반응의 발생빈도도 역가의 高低에 따라 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4).

고 찰

신장이식후 이식신 생존률에 영향을 미치는 인자에 관한 기존의 국내외의 보고에 의하면 공여자의 종류, 허혈 및 보존시간, 조직적합항원의 적합정도, 원인 신질환의 종류, 급성거부반응의 기왕력및 PRA 검사양성수치등이 이식신 생존률에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁾. 이는 사체 신이식이 신이식의 대부분을 차지하는 외국의 경우로 생체 신이식이 대부분인 우리의 실정에는 이를 그대로 적용하기가 어

려운게 현재의 실정이다.

따라서 본원에서는 사이크로스포린을 주변역역제제로 처치한 생체 신이식후 이식신의 생존률에 영향을 미치는 인자를 조사하였던 바 급성거부반응의 경력, 수여자의 연령, 공수여자간 혈액형 ABO의 적합정도등이 이식신 생존률에 크게 영향을 미쳤으며 오히려 조직적합정도에 따른 영향력은 미미하였다²⁾. 외국에서는 PRA검사의 양성률이 이식전 환자의 고면역상태를 알 수 있는 검사로 보고되고 있으나 생체 신이식에 이를 그대로 적용하기에는 어려움이 있으며 따라서 현재로서는 이식전 고면역상태를 측정할 수 있는 지표가 없는 실정이다. 이에 저자들은 외국문헌에 최근 보고되기 시작한 이식전 환자의 혈청내 IgA항체의 면역학적인 역할과 高IgA항체농도를 보인 환자에게 이식을 한 경우 이식신 생존률이 다른 경우보다 우수하다는 보고를 접하고 공여신장이 부족한 우리나라의 현실에도 이러한 예후 예측인자가 환자의 선택에 긍정적으로 적용될 수 있는지 여부를 확인하고자 본 예비 연구를 시작하였다.

미국 UCLA의 Terasaki등은 IgA신병증 환자에서 이식신 생존율이 다른 원인질환에서의 신이식의 경우보다 우수하다고 보고하면서 高농도의 IgA항체가 어떠한 형식으로도면 면역학적인 조정(Immunologic modulation)에 관여할 것으로 추정하고 따라서 IgA신병증 환자에서의 이식성적이 좋은 것으로 보고하고 있다³⁾. 독일의 Opelz등도 이식전 혈청 IgA항체의 농도에 따른 이식신 생존률에 관한 보고에서 항체농도가 높은군에서 이식신 생존률이 낮은군에 비해 통계학적으로 유의하게 높음을 보고하였으며 최근에는 IgA항체농도 뿐만 아니라 혈청 IgA-Anti-Fab 자가항

체역가(활성도)의 高低에 따라서도 이식성적에 차이가 있음을 보고하면서 IgA 항체농도가 높으면서 동시에 IgA-Anti-Fab 자가항체의 역가(활성도)가 높은 환자군에서 이식신 생존률이 가장 우수하였음을 보고하고 있다^{3,4)}. 이와같이 이식전 IgA 항체농도의 高低에 따른 이식신 생존률 예측능력은 다른 연구자에 의해서도 IgA 신증의 빈도가 높은 인종내에서는 인정될 수 있음을 보고한 바가 있다⁵⁾. 이러한 일련의 연구결과에 의하면 IgA 항체 및 IgA-Anti-Fab 자가항체는 현재까지 확실하게 밝혀지지는 않았지만 여러방법으로 숙주의 면역학적인 반응력을 저하시킴으로 이식신 생존률이 증가한다고 가정하고 있다. 즉 IgA 항체가 anti-HLA 항체와 상대적으로 경쟁(competition inhibition)하거나 IgA-Anti-Fab 자가항체가 anti-idiotypic 혹은 anti-clonic activity를 나타내어 숙주의 면역조절능력의 변화를 초래한다고 생각하고 있다⁶⁾.

본원에서 경험한 1187예의 신장이식예중 75명의 IgA 신병증 환자의 1년 및 5년 이식신 생존률은 각각 97.1%와 84.3%로 다른 원인신질환 환자나 원인신질환을 모르는 환자군과 비교하여 큰 차이가 없었다⁷⁾. 본 연구에서도 비록 제한된 환자를 대상으로 한 결과이나 원인신질환이 IgA 신병증인 환자의 이식신 생존률이 다른 원인신질환 환자의 이식신 생존률보다 통계학적으로 우수하지 않았다. 본 연구에서는 IgA 항체농도의 高低에 따른 이식신 생존율은 유의한 차이가 있었으나($p=0.0436$) IgA-Anti-Fab 자가항체 역가의 高低에 따른 이식신 생존률에서는 유의한 차이를 관찰할 수 없었고 각각의 농도의 高低에 따른 급성거부반응의 발생빈도도 차이를 보이지 않고 있다.

비록 본 연구가 대상자가 외국에 비해 상대적으로 적고 추적조사의 기간이 38개월에 불과한 pilot study임에도 불구하고 IgA 항체농도의 高低에 따른 이식신 생존율에 의미있는 차이가 있음이 발견되었다. 이는 앞으로 광범위한 환자를 대상으로 장기적인 추적조사를 포함한 본격적인 연구가 시행되면 현재의 조그만 차이가 통계적으로 보다 의미있는 차이로 발전할 가능성이 충분히 있음으로 예시하는 바이며 따라서 저자들은 이러한 항체농도 및 역가를 이용한 본격적인 연구를 시행하여 이 결과를 검증할 필요가 충분히 있음을 강조하는 바이다.

요 약

저자들은 신장이식전에 측정된 혈청내 IgA 항체농도와 IgA-Anti-Fab 자가항체역가의 高低가 이식후 이식신 생존율을 결정하는 예후인자로서 가능한지 알아보기 위하여 신장이식전에 채혈하여 혈청분리후 냉동보관된 혈청 79예를 대상으로 IgA 항체농도를 nephelometry 방법으로, IgA-Anti-Fab 자가항체역가를 ELISA 방법으로 측정하고 각각의 농도 및 역가의 高低에 따라 이식신 생존률과 급성거부반응의 발생빈도를 구하여 본 결과 IgA 항체농도의 高低에 따른 이식신 생존율의 차이가 존재하여 IgA 항체농도가 중앙값보다 낮은 환자의 경우 높은 환자보다 5년 이식신 생존율이 13% 열등하였다($p=0.0436$). 그러나 IgA-Anti-Fab 자가항체역가의 高低에 따른 생존율의 차이는 확인할 수 없었다.

따라서 저자들은 앞으로 보다 많은 환자를 대상으로 각각의 항체의 高低의 중요성에 대한 본격적 연구가 시행되어야 할 필요성을 금번의 pilot study를 통해 확인할 수 있었다.

REFERENCES

- 1) DW Gjertson: Multifactorial analysis of renal transplants reported to the United Network for Organ Sharing Registry: A 1994 update. In Terasaki PI, Cecka JM Eds. Clinical Transplants 1994. Los Angeles, UCLA Tissue Typing Laboratory, pp 519, 1995
- 2) 김유선, 김명수, 김순일, 정철운, 이호영, 한대석, 김병길, 정현주, 김수현, 이은미, 박기일: 사이크로스포린을 투여한 일차 신이식의 생존율과 예후인자의 분석. 대한신장학회지 15: 184, 1996
- 3) C Süsal, J Groth, RF Tanzi-Fette et al: Characterization of protective Anti-Fab autoantibodies in kidney graft recipients. Transplantation Proceedings 24: 2523, 1992
- 4) C Süsal, M Wiesel, G Staehler, J Groth, G May and G Opelz: Excellent kidney graft survival in patients with high pretransplant serum IgA concentration and IgA-anti-Fab autoantibody activity. Transplantation Proceeding 27: 1072, 1995
- 5) EC Lim, PI Terasaki: Outcome of renal transplantation in different primary disease. In: Terasaki PI,

- Cecka JM, Eds. Clinical Transplants 1991. Los Angeles, UCLA Tissue Typing Laboratory, pp 293, 1992
- 6) BM Susskind, RH Kerman, BJ Browne, BA Hartwell, BG Davis, SM Kats, CT Van Buren, BD Kahan: The impact of elevated serum IgA and race on primary recipient renal allograft survival. Transplantation. 61: 205, 1996
- 7) YS Kim, HJ Jeong, KH Choi, MS Kim, HY Lee, DS Han, K Park: Renal transplantation in patients with IgA nephropathy. Transplantation proceedings 28: 1543, 1996
-

