

## 개의 신장 동종이식 후 발생한 급성 거부반응

남현숙 · 엄지용 · 윤병일 · 우흥명<sup>1</sup>

강원대학교 수의학과 동물의학연구소

### Acute Rejection after Renal Allograft in a Dog

Hyun sook Nam, Ji Yong Uhm, Byung IL Yoon and Heung Myung Woo\*

Department of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Sciences, Kangwon National University, Chunchon, Korea

**Abstract:** Rejection is one of the life-threatening complications after organ transplantation. An eight-month-old, intact male, mixed breed dog was presented with acute rejection after renal allograft. The heterotopic renal transplantation with bilateral nephrectomy was performed in the dog. The triple drug protocol for immunosuppression was applied for prevention of the acute rejection. Postoperative care was done according to the transplantation protocol of VMTH, Kangwon National University. The dog was euthanized when the serum creatinine concentration exceeded 5 mg/dL followed by the signs of illness. The transplanted kidney was enlarged. The renal cortex lesions were characterized by necrosis of the renal tubules and the glomeruli. Interstitial lesions were characterized by hemorrhage and severe infiltration of lymphoid cells. Intrarenal arteries showed necrosis of the walls and infiltration of perivascular lymphoid cells. In immunohistochemical (IHC) findings, infiltration of the CD4 and the CD8 positive T lymphocytes was examined. In this case, acute rejection was shown by humoral and cellular immunity on the basis of histopathologic and IHC evaluation.

**Key words :** dog, renal allograft, rejection, histopathology, IHC.

## 서 론

신장이식은 말기 신부전의 치료 방법으로 개와<sup>8,11,14</sup> 고양이에서<sup>3,8,9,12</sup> 실시되고 있지만, 술 후 합병증과 거부반응의 발생은 이식신의 기능유지에 치명적이다.<sup>7,8,11</sup>

이식 후 발생하는 거부반응은 초급성, 급성, 만성으로 분류된다.<sup>6,10,17,20</sup> 초급성 거부반응은 수여자와 공여자의 혈액형이 다르거나 수여자의 혈청 내에 공여자의 림프구에 대한 세포독성 항체가 미리 형성되어 있는 경우에 나타나지만 이식 전 공여자와 수여자의 혈액형 검사와 lymphocyte cross match를 통해 예방할 수 있다. 급성 거부반응은 세포 매개성 면역반응과 체액성 면역반응에 의해 이식 후 수일부터 수주 사이에 발생하며 면역억제제의 사용으로 예방하고 있다. 만성 거부반응은 면역세포나 항체가 관여하는 것이 아니라 반복적인 급성 거부반응의 결과로 혈관이나 간질의 손상과 같은 비 면역학적 기전에 의해 신기능을 상실하는 것이다.<sup>20</sup>

따라서 이식의 성공률을 높이기 위해 거부반응을 조기에 진단하는 것이 무엇보다 중요하다.<sup>5,10,17</sup> 그러나 조기 진단을 위해 실험실적 검사, 초음파 검사<sup>18</sup>, 생검<sup>1,5,16,17</sup> 등 다양한 진단 방법이 이용되고 있지만<sup>20</sup> 수술시의 관류손상과 허혈시간, 감염, 면역억제제의 부작용 등에 의한 술 후 합병증과 감별진단이 어렵다.<sup>5,15,19</sup> 특히 cyclosporine A(CsA)의 과다투여에 의한 신독성은<sup>13</sup> 임상 증상, 실험실 검사 그리고 초음파 소견이 유사하여 감별진단이 매우 어렵기 때문에 조직학적 검사

법을 사용하여 거부반응 여부를 검증할 필요가 있다.<sup>10,16,17</sup>

본 증례는 신장이식 후 신부전으로 안락사한 사례로 면역 조직화학적 검사법을 통해 급성거부반응을 확인하였기에 보고하고자 한다.

## 증 례

### 면역억제 요법과 신장이식 수술

공여견과 수여견은 수술 전 신체검사와 혈액검사에서 정상이고, 몸무게가 유사한 8개월령 잡종견을 이용 하였다. 적혈구 교차반응, 보체의존성 세포독성검사(complement-dependent cytotoxicity: CDC) 방법을 이용한 Dog Leukocyte Antigen (DLA) 교차반응에서 상호 음성을 나타내었다.

면역억제제는 수술 48시간 전부터 cyclosporine A(임프란타, 한미약품, 20 mg/kg/24h), azathioprine(이무테라, 한서제약, 5 mg/kg/48h)을 구강투여 하였고, prednisolone(프레드니솔론, 한국코러스제약, 1 mg/kg/24h)은 수술 당일부터 구강투여 하였다.<sup>2</sup> 전혈 내 cyclosporine A (CsA)의 혈중농도는 HPLC(High-Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 측정하였고, 혈중농도가 400-700 ng/ml이 유지되도록 용량을 조절하였다

공여견의 좌측 신장을 절제하여 수여자의 장골외에 이식하였다. 신장 정맥과 외장골 정맥은 단측(end-to-side)문합을, 신동맥은 외장골 동맥에 단단(end-to-end)문합을 실시하고 요관은 방광점막에 방광요관 문합술을 실시한 후에 양쪽신장을 절제하였다.

<sup>1</sup>Corresponding author.

E-mail : woohm@kangwon.ac.kr

### 임상증상과 신장기능의 변화

신장 이식 수술 후 17일 째에 침울과 식욕저하 소견을 보여 신장 기능을 평가한 결과 serum creatinine (SCr)과 blood urea nitrogen (BUN)이 각각 2.5 mg/dl와 64 mg/dl로 증가하였다(Fig 1-A, B). 혈중 CsA의 농도는 654 ng/ml로 정상범위를 유지하였다. 거부반응이 의심되어 1일 1회 투여하던 CsA를 추가 투여하였으나 18일째 혈중 농도가 3000까지 증가하여 18일째에는 다시 1일 1회 투여하였다(Fig 1-C). 스테로이드 요법과 내과적인 치료에도 불구하고 임상증상은 점차 악화되어 요량감소, 혈변, 토혈, 신장이식 부위 동통 등을 보였으며, 19일째에는 SCr과 BUN 수치가 각각 5.0 mg/dl와 130 mg/dl 까지 상승하여 안락사 하였다.

### 조직병리검사 및 소견

안락사 후 신장을 적출하여 생리식염수로 신장액에서 혈액이 나오지 않을 때까지 충분히 세척한 다음, 신장의 무게, 장축과 단축의 길이를 측정하였다. 10% buffered formalin에 24시간 고정된 후 파라핀을 이용하여 조직포매 하고 Hematoxylin & Eosin (H & E) 염색을 하여 광학 현미경 하에서 검경하였다.

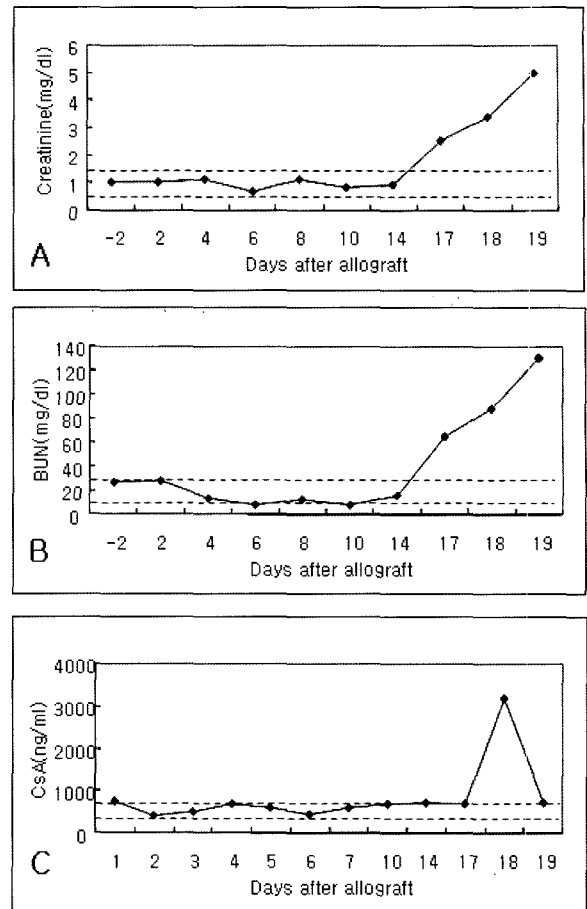
면역 염색은 Rat ABC staining system (sc-2019: SANTA CRUZ)을 이용하였다. 1차 항체는 Anti-Canine CD4 (clone YKIX 302.9: BIOSOURCE Int., Camarillo, CA)와 Anti-Canine CD8 (clone YCATE 55.9: BIOSOURCE Int., Camarillo, CA)을 사용하였다. 최적 항체 농도는 역가에 의해 책정하였다. Gill's formulation으로 Hematoxylin을 이용해 counterstain한 후에 광학현미경으로 관찰하였다. 면역조직화학검사에서 정상 개의 비장조직과 흉선조직을 CD4와 CD8의 양성대조군으로 이용하였다.

적출한 신장의 무게는 이식 전(27 g)에 비해 약 3배(85 g) 정도 증가했으며, 크기는 장축이 5.3 cm에서 7.3 cm로, 단축이 3.3 cm에서 4.2 cm로 증가했다. 신장 단면에서 피질부의 울혈과 피막의 비후 소견이 관찰되었다.

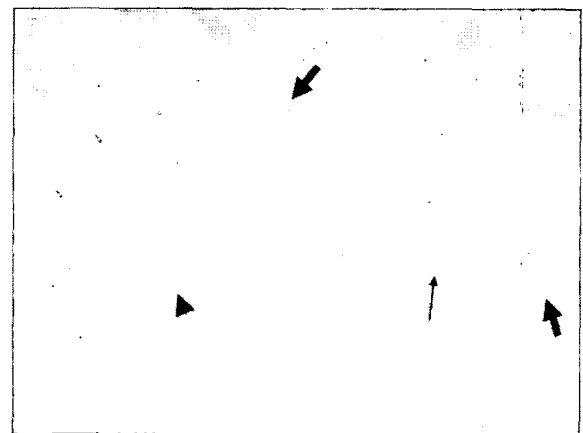
조직병리 검사에서 신세뇨관과 사구체의 심각한 피사와 간질 내 출혈, 림프구의 침윤 소견을 보였으며(Fig 2). 동맥벽의 피사와 함께 림프구, 단핵구 등의 다양한 염증세포가 침윤된 피사성 동맥염이 특징적으로 관찰되었고, 혈관내피세포는 심하게 손상 받거나 피사되었다(Fig 3).

양성대조군으로 이용된 비장 조직에서는 Periarterial lymphatic sheath (PALS)와 marginal zone (MZ) 주위에 침윤된 전형적인 CD4+ 세포가 관찰되었고 (Fig 4, Fig 5-A), 흉선조직에서도 침윤된 림프구에서 다수의 CD8+ 세포가 관찰되었다(Fig 6-A).

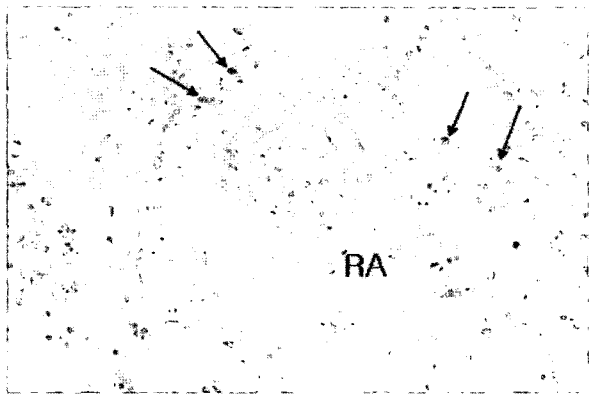
이식 신장의 면역조직화학검사 결과에서 피질의 간질 내에 침윤되어 있는 림프구와 혈관 주위에 침윤되어 있는 림프구에서 다수의 CD4 (Fig 5-B)와 CD8 (Fig 6-B)의 양성 반응이 관찰되었다. 그러나 정상 신장에서는 이와 같은 양성 반응의 림프구 침윤이 관찰되지 않았다.



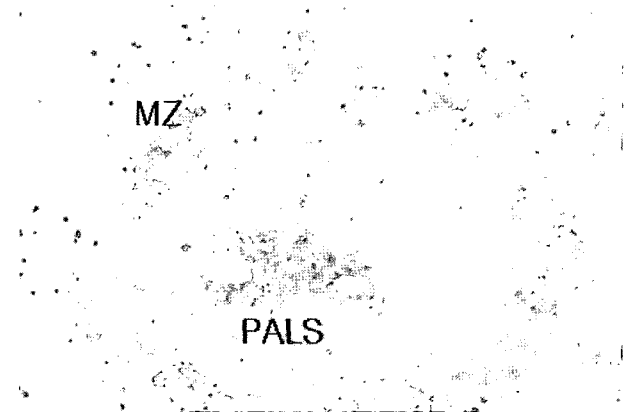
**Fig 1.** Changes in serum creatinine(A), BUN(B) and CsA(C) after the renal transplantation. Serum creatinine(A) and BUN(B) concentrations were increased at the day of 17 after renal transplantation. The increased CsA concentration at the day of 18 was due to additional administration, because allograft rejection was suspected.



**Fig 2.** Histopathological finding of transplanted kidney. Severe necrosis of renal tubules (arrow head) and glomerular tufts (thin black arrow), hyaline cast (thick black arrows) and interstitial lymphoid cell infiltration. (H&E stain,  $\times 400$ )



**Fig 3.** Necrosis of renal arterioles(RA), perivascular lymphoid cell infiltration(arrow). (H&E stain, ×200)



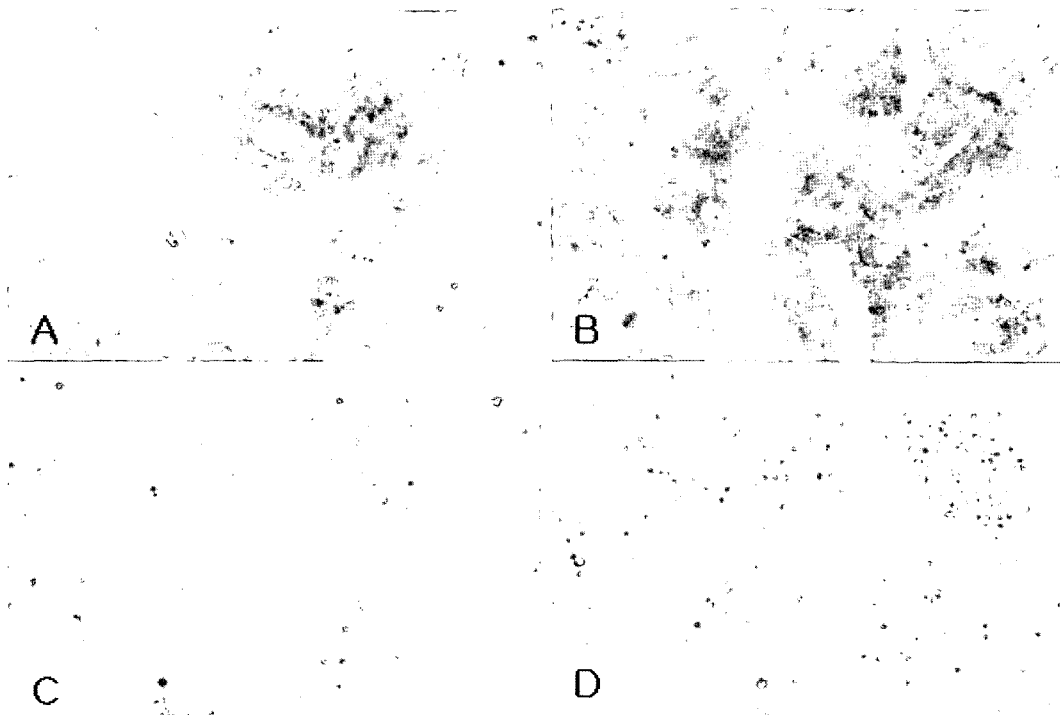
**Fig 4.** Lymphocytes immunoreactive for anti-canine CD4 in periarteral lymphatic sheaths(PALS) and marginal zone(MZ); spleen; positive control. (ABC method, ×100)

**고 찰**

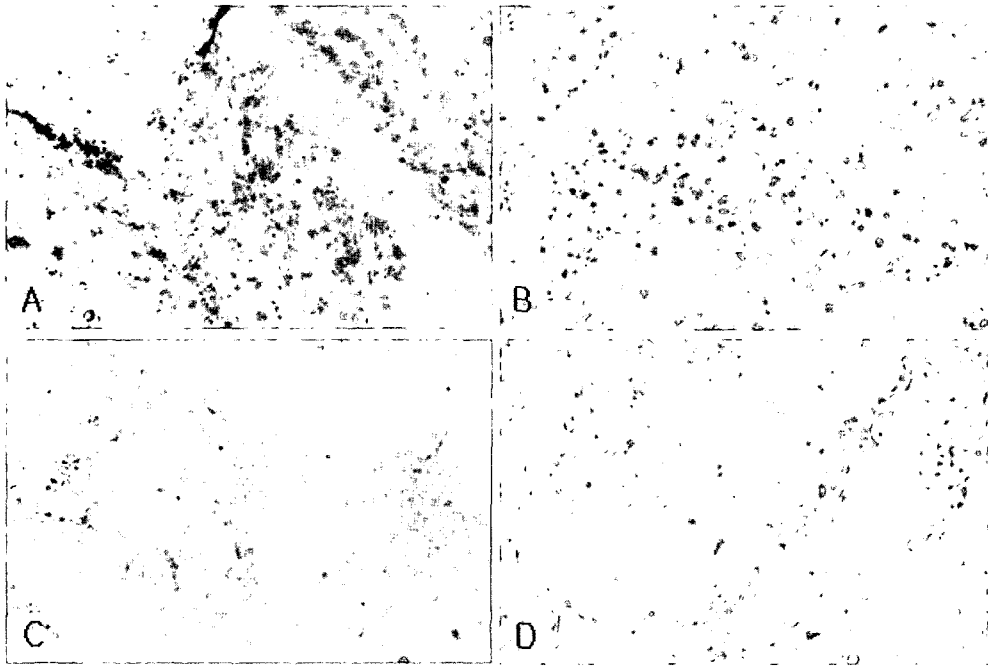
급성거부반응이 발생하면 발열, 신장이식 부위의 동통과 종창, 요량감소, 고혈압 등의 임상증상과 급성 신부전에 의한 BUN과 혈청 Creatinine의 상승을 보인다<sup>20</sup>. 본 증례의 경우에도 식욕저하, 요량감소, 혈변과 토혈, 이식 신 부위 동통, 침울, 운동실조 등의 임상증상을 보였고 혈청 Creatinine 수치가 5.0 mg/dl, BUN 수치가 130 mg/dl까지 증가하였다. 그러나 수술시의 감염, 혈중, 부종 등에 의한 혈관문합부의 혈행 장애와 면역억제제의 부작용 등에 의해서도 유사한 임상증상을 보이므로 감별진단이 요구 된다<sup>5,15,19</sup>. 거부 반응에 대한 감별진단 기법으로 사람에서는 생검에 의한 조직학적

평가가 이루어지고 있다<sup>15,16,17</sup>. 그러나 사람과 달리 개에서는 거부반응의 증상에 대한 불편함의 호소가 이루어지지 않아 조기 진단이 어려운 실정이며, 이러한 이유로 현재까지 생검에 의한 급성 거부반응의 조기 진단사례가 보고된 바 없다. 본 사례에서도 신부전에 의한 임상증상이 발현된 시기에 응급처치를 시도 하였으나 증상이 호전되지 않았다.

급성 거부반응의 특이적인 소견은 일반 염증과는 달리 간질의 부종과 다양한 백혈구의 침윤이 있으며, 소수의 단핵구와 형질세포가 발견되지만 호중구는 없거나 극소수만이 발견되는 것이다. 그리고 세뇨관 주변의 모세혈관의 확장과 세뇨



**Fig 5.** Immunohistochemistry for CD4. A. Normal spleen; positive control. B. Transplanted kidney. C. Normal spleen; Negative control. D. Normal kidney. (ABC method, ×200)



**Fig 6.** Immunohistochemistry for CD8. A. Normal thymus; positive control. B. Transplanted kidney. C. Normal thymus; Negative control. D. Normal kidney. (ABC method,  $\times 200$ )

관 상피세포의 벽 또는 내강까지 림프구가 침윤된 세뇨관염이 발생한다<sup>4,10,12</sup>. 본 사례에서는 세뇨관과 사구체의 괴사, 간질 내 출혈 소견, 림프구가 세뇨관까지 침윤된 것으로 보아, 세뇨관의 공포화를 특징으로 나타내는 Cyclosporine 신독성과<sup>13</sup> 구별되는 급성 거부반응의 조직학적 소견을 나타내었다. 적출한 신장의 크기와 무게의 증가는 이식신의 세뇨관과 사구체의 괴사와 간질 내 염증세포의 침윤, 간질 내 출혈 등 조직 병리학적 변화가 나타난 것과 연관이 있는 것으로 사료된다. 면역조직화학검사 소견에서 관찰된 CD4+ T 림프구와 CD8+ T 림프구 증가는 급성 거부 반응에 따른 세포성 면역 반응에 의한 것으로 사료된다.

본 증례는 수술 전 검사로 혈액형 검사와 림프구 교차 반응 검사를 통하여 초급성 거부반응은 예방되었지만 면역억제 농도를 유지 하였음에도 불구하고 급성 거부반응이 발생된 사례이다.

## 결론

면역억제제인 cyclosporine의 혈중농도가 거부반응의 억제 농도인 400~700 ng/ml를 유지하였음에도 불구하고 신장 동종 이식 후 19일째 급성 신부전 증세를 보여 안락사한 사례이다. 조직병리 소견으로 신세뇨관과 사구체의 심한 괴사, 간질의 염증세포 침윤, 혈관 벽의 괴사, 간질 내 출혈 등이 나타났다. 면역조직화학검사 결과 다수의 CD4+, CD8+ 세포의 침윤 소견이 관찰되어 세포성 면역반응이 강하게 나타나는 급성 거부반응으로 진단하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2005년 강원대학교 학술연구비로 연구하였음. 본 연구에 혈액형 kit를 협조해준 SHIGETA Animal Pharmaceuticals Inc.와 강원대학교 동물의학연구소의 연구지원에 감사드립니다.

## 참고 문헌

1. Andersen CB, Ladefoged SD, Larsen S. Acute kidney graft rejection. A morphological and immunohistological study on "zero-hour" and follow-up biopsies with special emphasis on cellular infiltrates and adhesion molecules. *APMIS* 1994; 102: 23-37.
2. Bernsteen L, Gregory CR, Kyles AE, Griffey SM, Patz J. Microemulsified cyclosporine-based immunosuppression for the prevention of acute renal allograft rejection in unrelated dogs: preliminary experimental study. *Vet Surg* 2003; 32: 213-219.
3. Bernsteen L, Gregory CR, Kyles AE, Wooleridge JD, Valverde CR. Renal transplantation in cats. *Clin Tech small Anim Pract* 2000; 15: 40-45.
4. Crowell WA, Finco DR, Rawlings CA, Barsanti JA, Rao RN. Lesions in dogs following renal transplantation and immunosuppression. *Vet Pathol* 1987; 24: 124-128.
5. Curschellas E, Landmann J, Durig M, Huser B, Kyo M, Basler V, Thiel G, Mihatsch MJ. Morphologic findings in "zero-hour" biopsies of renal transplants. *Clin Nephrol* 1991; 36: 215-222.
6. De Cock HE, Kyles AE, Griffey SM, Bernsteen L, Gregory CR. Histopathologic findings and classification

- of feline renal transplants. *Vet Pathol* 2004; 41: 244-256.
7. Gragory CR, Gourley IM, Kochin EJ, et al. Renal transplantation for treatment of end-stage renal failure in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201: 285-291.
  8. Gregory CR, Gourley IM, Taylor NJ, Broaddus TW, Olds RB, Patz JD. Preliminary results of clinical renal allograft transplantation in the dog and cat. *J Vet Intern Med* 1987; 1: 53-60.
  9. Gregory CR, Lirtzman RA, Kochin EJ, et al. A mucosal apposition technique for ureteroneocystostomy after renal transplantation in cats. *Vet Surg* 1996; 25: 13-17.
  10. Haishima A, Kawakami Y, Mizuno S, Kageyama T, Muto M, Suzuki T, Inoue K, Shirota K. Acute Vascular and Interstitial Rejection Following Renal Allograft Transplantation in Dogs. *J Vet Med Sci* 2002; 64: 1137-1140.
  11. Mathews KA, Holmberg DL, Miller CW. Kidney transplantation in dogs with naturally occurring end-stage renal disease. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36: 294-301.
  12. Mathews KG, Gregory CR. Renal transplants in cats: 66 cases(1987-1996). *J Am Vet Med Asso* 1997; 211: 1432-1436.
  13. Myers BD, Sibley R, Newton L, Tomlanovich SJ, Boshkos C, Stinson E, Luetscher JA, Whitney DJ, Krasny D, Coplon NS, et al. The long-term course of cyclosporine-associated chronic nephropathy. *Kidney Int* 1988; 33: 590-600.
  14. Nemeth T, Toth J, Balogh L, Janoki G, Manczur F, Voros K, Dallos G. Clinical renal allograft transplantation in a Dalmatian dog: case report. *Acta Vet Hung* 1998; 46: 295-303.
  15. Rao KV, Kasiske BL, Odlund MD, Ney AL, Andersen RC. Influence of cadaver donor age on posttransplant renal function and graft outcome. *Transplantation* 1990; 49: 91-95.
  16. Saisu K, Morozumi K, Suzuki K, Fujita K. Significance of interstitial lesions as the early indicator for acute vascular rejection in human renal allografts. *Clin Transplant* 1999; 13: 17-23.
  17. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44: 411-422.
  18. Takahashi S, Narumi Y, Takahara S, Suzuki S, Kyo M, Cruz M, Takamura M, Kokado Y, Ichimaru N, Toki K, Nakamura H, Okuyama A. Acute renal allograft rejection in the canine: evaluation with serial duplex Doppler ultrasonography. *Transplant Proc* 1999; 31: 1731-1734.
  19. Valenzuela R, Hamway SA, Deodhar SD, Braun WE, Banowsky LH, Magnusson MO, Osborne DG. Histologic, ultrastructural, and immunomicroscopic findings in 96 one hour human renal allograft biopsy specimens. Immunologic and clinical significance. *Hum Pathol* 1980; 11: 187-195.
  20. 김원철, 조원현. 신장이식. 서울: 군자출판사. 2000: 147-155.