

이식 신장 급성 거부 반응에서 Perforin, Granzyme B, Fas-Ligand 유전자 발현 관찰의 유용성

아주대학교 의과대학 내과학교실, 일반외과학교실*

신규태 · 김승정 · 마경애 · 이태승* · 김홍수 · 김도현

이식 신장 급성 거부 반응을 예측 및 진단하기 위해 Tumor necrosis factor, IL-2, IL-2 receptor, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8 등의 여러 cytokine 혈청 단백질 농도 관찰이 제시되었으나, 연구마다 결과가 상이한 점이 많아 유용성이 확립되지 않았다. 최근 급성 거부 반응에서 임파구에 의한 신조직 파괴 기전으로서 Perforin, Granzyme, Fas, Fas-Ligand 등에 의한 apoptosis가 밝혀지고 있다. 이에 본 연구자들은 신장 이식 환자를 대상으로 말초 혈액 단핵구에서 Perforin, Granzyme B, Fas-Ligand 의 mRNA 발현을 측정하여 급성거부 반응과의 연관성을 밝히고자 하였다. 이식 수술 2일째, 4일째, 6일째, 8일째, 10일째, 12일째에 연구 기간중에 신 이식을 받은 모든 환자에서 정기적으로 혈액을 채취하였고, Ficoll Gradient method로 임파구를 분리한 뒤 Trizol® 용액에 용해시킨 후 -70℃에 보관 하였다. 급성 거부 반응은 7명의 환자에게 발생하였으며, 대조군으로는 혈액 채취가 잘된 8명의 환자를 후향적으로 선택하여 실험을 진행하였다. 유전자 발현은 reverse transcription 후 competitive PCR 을 이용하여 정량한 후 β -Actin 과의 비를 계산하여 나타내었다(fg/pg). 결과를 보면, Perforin, Granzyme, Fas-Ligand의 유전자 발현은 대조군에서 비특이적인 변화를 하는 것이 관찰되어 대조군의 Perforin, Granzyme, Fas-Ligand 각 관찰치의 Mean+2 Standard Deviation

을 상한 기준으로 결과를 분석하였다. 검체 혈액수는 Perforin, Granzyme, Fas-Ligand 각각 거부 반응군 41개, 대조군 47개 이었다.

1) **Perforin** : 연구기간 전체에서 거부반응 군의 평균치가 대조군보다 유의하게 높았으며(1.84 ± 3.01 vs 0.71 ± 0.48 , $p=0.01$), 상한 기준치는 1.67이었고, 거부 반응군에서는 12개 검체에서, 대조군에서는 1개의 검체에서 이 기준치를 초과하였다. 거부 반응에 의한 혈청 Creatinine 상승을 기점으로 했을 때(day 0), day 0-1에 거부 반응 환자 7명중 5명에서 기준치를 초과하는 값을 보였으며, 4명은 day 2-5일까지도 초과하는 값이 나타났다. 2명의 환자에서는 day 0-1에 수치가 상승하였으나 기준치를 초과하지 않아 비특이적 상승과 구분이 되지 않았다. Day 0-1의 전체 환자의 perforin 발현 평균치는 다른 관찰일에 비해 통계적으로 유의하게 높았다.

2) **Granzyme B** : day 0-1에 상승하는 양상을 보였으나 대조군에서 보이는 비특이적 변화를 고려할 때 의미있는 변화를 보이지 않았다.

3) **Fas-Ligand** : 거부 반응 시점과 연관된 의미 있는 변화를 보이지 않았고, 대조군에서의 비특이적인 변화를 고려할 때 의미있는 변화를 보이지 않았다. 결론적으로, perforin에 대한 유전자 발현 정량은 신장 이식 첫 2주에서 급성 거부 반응 진단에 도움을 줄 것으로 예상된다.