

Strategies to Improve Long-term Outcomes after Renal Transplantation

한림대학교 의과대학 내과학교실

채 동 완

서 론

신장이식은 대부분의 말기 신부전 환자에게 가장 이상적인 치료방법이나 신공여자의 부족으로 신장이식을 대기하고 있는 환자의 수가 시간이 갈수록 증가하고 있다. 우리나라의 경우에도 국립장기이식관리센터에 등록된 신이식 대기 환자수가 2001년 12월 3,120명이었고 2002년 8월에는 3,849명으로 현저히 증가하고 있으며 이러한 문제를 해결하기 위하여 신공여자를 증가시키는 방법과 아울러 이식신의 장기 생존율을 향상시키는 것이 대단히 중요하다.

이식신의 장기적 생존을 저해하는 요인으로 만성 이식신병증, 이식환자의 사망, 그리고 원발 질환의 재발 등이 있으나 이중 만성이식신병증이 이식 후 1년 이상 가능한 이식신의 생존을 결정하는 주된 원인이다. 만성이식신병증의 발생에는 면역학적 및 비면역학적 요인이 모두 관여하나 Isograft에서 만성이식신병증의 발생이 드물고, 많은 연구에서 수술 후 급성거부반응의 발생 및 발생빈도, 중증도가 향후 만성이식신병증의 발생을 예측할 수 있는 가장 중요한 요인으로 보고되고 있으며 신공여자가 고령일 경우에도 급성거부반응이 발생된 경우에만 만성이식신병증의 발생이 급격히 증가하는 사실 등으로 보아 이식장기에 대한 지속적인 면역반응이 이식신의 장기적 생존에 가장 중요한 장애임을 시사한다. 또한 환자에게 사용된 면역억제제의 부작용이 신이식 후 환자의 사망에도 관여하므로 이식신에 대한 면역반응을 억제할 수 있을 만큼 충분하면서도 면역억제에 따른 부작용을 피할 수 있는 최소의 면역억제방법의 개발이 이식신의 장기적 생존율의 향상을 위한 가장 중요한 전략으로 생각된다. 본 연재에서는 우선 여러 면역억제제들을 사용하여 이식신의 장기 생존율을 향상시키는 방법들을 검

토하고 이어 실제 사람 또는 non-human primate에서 이식신에 대한 면역학적 관용을 유발하므로써 이식신의 장기 생존율을 향상시킨 전략들에 관하여 간략히 기술하고자 한다.

면역억제제 사용에 의한 이식신 장기 생존율의 향상

1. 면역억제제에 의한 급성거부반응의 예방과 이에 동반한 이식신 장기 생존율의 향상

Haiharan 등은 1988년부터 1996년까지 미국에서 시행된 93,934건의 신이식을 분석하여 ① 생체이식신의 예상 반감기가 1988년 12.4년에서 1995년 21.6년으로 70% 증가하였고 사체이식신의 경우 1988년 7.9년에서 1995년 13.8년으로 75% 증가하였으며 ② 사망 당시 이식신기능이 유지된 경우를 제외하면 생체이식신의 예상 반감기가 1988년 16.9년에서 1995년 35.9년으로 112% 증가하였고 사체이식신의 경우 1988년 11.0년에서 1995년 19.5년으로 77% 증가하였고 ③ 급성거부반응의 발생 병력이 있었던 이식신의 예상 반감기는 1988년 7.0년에서 1995년 8.8년으로 25% 증가에 그친 반면 급성거부반응의 발생 병력이 없었던 이식신의 예상 반감기는 1988년 8.8년에서 1995년 19.5년으로 103%나 증가하였음을 관찰하여 면역억제제로서 cyclosporine이 도입된 이후 이식신의 단기적 생존 뿐 아니라 장기적 생존도 증가하였고 급성거부반응의 발생 감소가 이식신의 장기적 생존의 향상에 결정적인 영향을 주었음을 보고하였다. 또 대상환자 중 1990년대 중반에 도입된 MMF나 Tacrolimus을 사용한 환자의 빈도가 작아 MMF나 Tacrolimus의 사용이 이 기간 중 관찰된 이식신의 생존율 증가와는 관련이 없다고 보고하였다¹⁾.

이식 후 면역억제제로 azathioprine과 prednisone

이 주로 사용되었던 1980년대에는 거의 모든 환자가 급성거부반응을 경험하였고 이식신의 1년 생존율이 50%이었으나 1983년 도입된 cyclosporine을 기본으로 한 prednisone과 azathioprine의 병합요법하에서 급성거부반응의 발생율은 40-60%로 호전되었다²⁾.

1990년대 중반 새로운 면역억제제들이 도입됨에 따라 급성거부반응의 발생이 현저히 감소하였다. 대규모로 시행된 3개의 Phase III 연구에서 MMF는 조직검사로 확인된 급성거부반응의 발생을 azathioprine 투여군이나 위약군의 38-46%에서 13-19%로 감소시켰으며 Tacrolimus는 조직검사로 확인된 급성거부반응의 발생을 cyclosporine 투여군의 38-46%에서 13-19%로 감소시켰으며 최근 미국에서 시행된 Sirolimus의 phase III 연구에서 수술 후 6개월 이내의 급성거부반응의 발생율이 6.5%까지 감소하였다³⁾. 이러한 급성거부반응 발생의 감소가 실제 이식신의 장기 생존율의 증가로 연결될지는 아직 확실하지 않다. MMF에 대한 US clinical trial의 추적 연구에서 유의한 결론을 도출하기에 연구대상 환자의 수가 너무 적어 비록 통계적인 유의성은 없었으나 이식신의 3년 사망율이 MMF 투여군에서 azathioprine 투여군보다 25% 감소하였고⁴⁾ 1988년부터 1994년 사이 미국에서 시행된 이식환자를 대상으로 시행한 후향적 연구에서 이식신의 10년 예상 생존율이 Tacrolimus 투여군에서 67%로 cyclosporine 투여군의 48%보다 우월하여⁵⁾ 향후 보다 많은 수의 환자를 충분한 기간 추적 관찰한 연구가 필요하다고 생각된다.

2. 만성이식신 병증을 억제 할 수 있는 면역억제제의 작용기전

만성이식신병증의 가장 중요한 형태학적 특징인 혈관내피의 비후는 혈관 평활근세포가 혈관 내피로 이동하여 증식하고 평활근세포 주위로 세포외기질이 침착하여 발생하며 이때 PDGF, bFGF, TGF- β 등 여러 성장인자들이 관여한다. MMF나 Sirolimus는 여러 성장인자들의 작용을 억제하여 면역학적 또는 기계적 요인에 의한 혈관손상에 의한 혈관내피의 증식을 억제함이 관찰되고 있으며 특히 혈관손상 전후에 걸쳐 일정기간 동안 2가지 약제를 투여하였을 때 혈관내피의 비후가 억제되어 상기 약제들이 만성이식신병증의 발생을 억제 할 수 있는 가능성을 시사하였다⁶⁾.

만성이식신병증의 발생에 있어 항체의 역할은 PRA

가 높은 환자에서 이식신의 생존율이 낮고, 만성이식신병증이 발생한 환자의 혈청에서 HLA나 B 세포, 또는 신장조직에 대한 항체가 존재하는 빈도가 높으며 항 HLA 항체는 혈관세포에서 성장인자에 대한 수용체의 발현을 촉진하여 혈관내경의 감소를 유발하는 실험적 결과 등에 의하여 뒷받침되고 있다⁷⁾. 주로 T 림프구에 작용하는 calcineurin 억제제와 달리 MMF는 항원 자극에 의한 B 림프구의 증식 및 항체 형성을 억제하고 Sirolimus도 B 림프구의 증식 및 Ig class switching을 억제하며 그 외 brequinar sodium, leflunomide 등도 B 림프구의 작용을 강력히 억제하여⁸⁾ 만성이식신병증의 발생을 억제하는 가능성을 지니고 있다.

3. 여러 면역억제제의 병합요법

다양한 작용 기전을 지닌 여러 면역억제제들이 임상에서 사용됨에 따라 이들 약제들의 효과적인 병합사용으로 급성거부반응의 발생을 예방하고, 면역억제제의 부작용 특히 만성이식신병증의 발생과 관련되는 약제에 의한 신독성, 고혈압, 고지질혈증의 발생을 최소화 할 수 있는 병합요법에 대한 연구가 중요하다고 생각된다. 이런 의미에서 steroid나 calcineurin 억제제의 사용을 피하거나 중단하기 위한 시도는 급성거부반응의 증가와 만성이식신병증에 관련된 약제 부작용을 감소시키는 양날의 칼과 같이 이에 대한 연구도 지속적으로 필요하리라 생각된다. 궁극적으로 가장 이상적인 병합요법은 신이식 환자 개인의 고유한 면역학적 및 비면역학적 특성과 신 이식 후 시간 경과에 따라 유연하게 재단되어야 한다⁹⁾.

이식신에 대한 면역관용의 유도

이식신에 대한 면역학적인 관용은 지속적인 면역억제제의 사용이 없어도 이식신의 기능이 유지되고 만성거부반응의 증거가 없으며 공여자의 항원에 대한 면역학적인 반응은 없으나 다른 항원들에 대하여 정상적인 면역반응이 유지되는 상태이다. 인간이나 non-human primate 이상의 고등동물에서 이식항원에 대한 면역학적 관용은 주로 hematopoietic chimerism, costimulatory blockade. Anti-CD3 immunotoxin의 방법을 사용하여 이식항원에 특이적인 T cell clone의 deletion이나 anergy를 유발하여 이루어졌으며^{10, 11)}

최근 dendritic cell의 조작¹²⁾이나 regulatory/suppressor T cell의 유도¹³⁾ 등을 통하여 alloreactive T cell의 활동을 억제하고자 하는 시도들이 있다.

1. hematopoietic chimerism

이식환자에 신평여자의 골수나 조혈모세포를 주입하여 이식환자의 골수에 신평여자와 환자기원의 조혈세포가 공존하는 mixed chimerism을 유발하여 환자의 흉선에 공여자와 환자 기원의 수지상세포가 착상하게 된다. 이 결과 T림프구가 흉선에서 분화하는 과정에서 환자의 조직은 물론 공여자 항원에 친화력이 강한 T세포 수용체를 지닌 T림프구들이 negative selection에 의하여 제거되어 공여자 항원에 대한 면역학적 관용을 유발하는 방법이다¹⁴⁾.

Cynomolgus 원숭이에 전신방사선조사와 항 T림프구 항체의 주입으로 이미 원숭이 체내에 존재하고 있는 성숙 T림프구를 제거하고 흉선에 방사선을 조사하여 흉선내에 남아있는 성숙 T림프구를 제거하여 공여자의 조혈세포들이 파괴되지 않도록 하였고 공여자 조직에 대한 항체형성을 억제하기 위하여 비장절제를 시행한 후 공여자 골수주입과 신장이식을 시행하였고 이식을 받은 원숭이 체내에 남아 있을 수 있는 성숙 T림프구의 기능을 억제하기 위하여 수술 후 25일 기간에만 cyclosporine을 투여한 결과 mixed chimerism이 형성되었고 이식신이 면역억제 없이도 5년 이상 생존하였고¹⁵⁾ 1.5% 이상의 림프구 chimerism이 관찰된 원숭이에서만 이식신의 장기생존이 가능하였다¹⁶⁾.

1997년 다발성골수종과 말기신부전을 지닌 55세 여성 환자에게 cyclophosphamide, 항 T림프구 항체, 흉선 방사선 조사로 전 처치 후 HLA mismatch가 없는 공여자에서 골수와 신장이식을 동시에 시행한 후 수술 73일부터 면역억제제 투여를 중단하였고 약제 투여 중단 14주 후의 혈중 크레아티닌치는 0.7 mg/dL이었다¹⁷⁾.

Millan 등은 신 이식 3-6주 전 HLA mismatch가 있는 공여자에게 recombinant human G-CSF를 피하주사 후 anti-CD34mAb로 coating된 column을 이용하여 hematopoietic progenitor cell을 분리한 후 냉동보관하였다. 신장이식 수술 당일부터 2주간에 걸쳐 총 6회의 항 T림프구 항체를 정주하였고 수술 1일부터 11일까지 림프절, 비장, 흉선을 목표로한 total

lymphoid radiation을 시행하였고 수술 11일에 공여자의 hematopoietic progenitor cell를 환자에게 정주하였다. 스테로이드는 수술 당일부터 투여하였고 cyclosporine은 공여자 세포주입 3일 전부터 투여하였다. 환자에서 chimerism이 관찰되고, 약제 감량시 시행한 MLR에서 공여자 세포에 대한 반응이 없고 약제 투여 중단 전 시행한 이식신생검에서 급성 및 만성 거부반응의 증거가 없으면 이식 9개월부터 12개월에 걸쳐 약제 감량 후 약제 투여를 중단하였다. 총 4명의 대상환자에서 1명에서 모든 면역억제제 투여를 중단하였고 수술 후 374일 경과 후 혈중 크레아티닌 농도는 1.4 mg/dL이었다. Chimerism이 관찰되지 않은 1명의 환자에서 수술 13일에 급성거부반응이 발생하였고 chimerism이 관찰된 나머지 2명에서 면역억제제를 감량 중이다. 모든 환자에서 GVHD의 증거가 없었고 1명의 환자에서 herpes zoster가 발생하였다¹⁸⁾.

2. Costimulatory blockade

Naive T림프구가 활성화되려면 항원제시세포 표면의 MHC molecule과 항원의 복합체와 T세포 수용체의 상호작용에 의한 signal 1과 함께 항원제시세포와 T림프구 표면에 존재하는 다양한 costimulatory molecule들의 상호작용에 의한 signal 2도 T림프구에 전달되어야 한다. Signal 2가 없이 signal 1만 전달되면 T림프구는 해당 항원에 반응하지 않거나 (anergy) 세포자멸사 (apoptosis)로 진행되는 반면 2가지 신호가 모두 전달되면 T림프구의 증식과 effector cell로 분화가 이루어진다.

동종이식에서 CD28/B7 경로를 차단하여 이식편의 생존을 증가시키고자 하는 시도는 CTLA-4의 extracellular domain을 IgG1의 constant region과 결합시킨 재조합융합단백질인 CTLA4Ig나 B7-1 또는 B7-2에 대한 봉쇄항체를 사용하여 시행되었다. 5마리의 Cynomologous monkey에 동종 islet를 이식 후 약 2주간 human CTLA4Ig를 투여한 결과 모든 동물에서 공여자 세포에 대한 항체형성이 억제되었고 혈중 CTLA4Ig의 농도가 높았던 2마리의 원숭이에서 장기적인 이식 islet의 생존이 관찰되었다¹⁹⁾. Rhesus monkey의 동종신장이식에서 생쥐에서 생성된 항 B7-1항체와 항 B7-2항체를 함께 투여한 경우 이식신의 생존이 치료하지 않은 대조군에 비하여 연장되었으나 사이클로스포린 투여군과는 생존기간이 동일하

였고²⁰⁾ humanized된 항 B7-1항체와 항 B7-2항체를 함께 투여한 경우에도 이식신의 생존기간만이 연장되었을 뿐 이식신에 대한 면역학적 관용은 유도되지 않았다²¹⁾. 결론적으로 원숭이 혈청의 CTLA4-Ig나 B7 항체농도가 충분히 유지되는 한 거부반응이 발생하지 않았으나 항체투여 중단 후 급성거부반응이 발생하였고 cyclosporine, MMF, steroid 및 rapamycin 등의 면역억제제를 이들 항체와 병용하여 투여하였을 때도 이식신의 생존이 연장되었으나 이식신에 대한 관용은 이루어지지 않았다²²⁾. 최근 psoriasis vulgaris 환자를 대상으로한 CTLA4Ig의 phase I study에서 투여에 따른 특별한 부작용이 관찰되지 않았으며 사용량에 비례한 질병의 호전이 관찰되었다²³⁾.

CD154에 대한 humanized monoclonal antibody를 HLA-mismatch된 신장을 이식받은 rhesus monkey에 수술 후 6개월간 사용하여 CD40/CD154 경로를 차단하였을 때 항체투여 중지 후 10개월간 이식신이 생존하였다. 공여자 림프구에 대한 반응은 소실되었으나 공여자 항원에 대한 항체는 형성되었고 이식신의 조직검사서 T림프구의 침윤이 관찰되었다. Steroid, MMF, Tacrolimus의 병용 투여는 오히려 항체의 효과를 저해하는 경향이 있었고 항체 투여에 따른 특별한 부작용은 없었다²⁴⁾.

Fully MHC mismatched cynomolgus monkey에 골수 투여를 통한 mixed chimerism을 유도할 때 CD154에 대한 humanized monoclonal antibody를 사용하면 chimerism 유도 때 비장절제가 필요하지 않았으며 7마리의 대상 원숭이 모두에서 면역억제제 투여 없이 200일 이상 이식신 기능이 유지되었다. 5마리에서는 이식항원에 대한 항체가 형성되지 않았으나 나머지 2마리는 이식신에 발생한 thrombotic microangiopathy로 사망하였다²⁵⁾. Humanized CD154 mAb은 합병증으로 thromboembolism을 유발 할 수 있으며 이는 해파린 전 처치로 발생빈도를 감소시킬 수 있었다. 또한 Biogen Inc에서 생산된 항체를 투여 받은 사람에서 이 합병증의 발생하였으나 IDEC pharmaceutical에서 생산된 항체 사용시 발생보고는 아직 없다²⁶⁾.

3. anti-CD3 immunotoxin

CD3에 대한 단클론 항체와 독성을 감소시킨 변형된 디프테리아독소가 결합된 anti-CD3 immunotoxin

은 결합된 T림프구의 단백질 합성을 억제하여 T림프구를 제거한다. Immunotoxin에 의한 T림프구의 제거는 일반 항 림프구 항체보다 훨씬 강력하며 특히 말초혈액 뿐 아니라 림프절에 존재하는 T림프구도 광범위하게 제거한다. HLA-mismatch된 신장을 이식 받은 rhesus monkey에 이식 수술 1주일 전부터 이식 때까지 매일 anti-CD3 immunotoxin을 투여하여 모든 대상 원숭이에서 면역억제제의 투여 없이 이식신이 장기간 생존하였으며 이중 일부는 후에 동일 공여자로부터 제공된 피부이식편도 지속적으로 생존하여 공여자 항원에 대한 면역학적 관용이 유도되었음을 알 수 있었다. 또 이러한 면역학적 관용은 이식 전 공여자 항원의 투여 없이 항체 단독 투여로 유도되었다²⁷⁾.

Macaques에서 이식 시행 전에 처치 없이 이식 수술 4시간 전 anti-CD3 immunotoxin을 시행하고 NF- κ B inhibitor인 deoxyspergualin을 수술 당일부터 15일간 투여하여 면역억제제 투여 없이 이식신이 장기간 생존하였으며 아무런 치료 없이 동일 공여자로부터 제공된 제2의 이식신의 기능도 유지되는 공여자 항원에 대한 면역학적 관용이 유도되었고 림프절내의 림프구와 성숙된 수지상세포의 수가 감소하였고 Th2로 편향된 혈중 cytokine pattern이 관찰되었다²⁸⁾.

참 고 문 헌

- 1) Haiharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, et al. : Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1998 to 1996. *N Engl J Med* 342:605-612, 2000
- 2) Chan LI, Gaston R, Haiharan S : Evolution of immunosuppression and continued importance of acute rejection in renal transplantation. *Am J Kid Dis* 6(suppl 6):S2-S9, 2001
- 3) Gonin JM : Maintenance immunosuppression : New agents and persistent dilemmas. *Adv Renal Rpl Ther* 7:95-116, 2000
- 4) US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group : Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Am J Kid Dis* 34:296-303, 1999
- 5) Gjerston DW, Cecka JM, Terasaki PI : The relative effects of FK506 and cyclosporine on short- and long-term kidney graft survival. *Transplantation* 60:1384-1388, 1995
- 6) Morris RE : Vascular and cellular mechanism of chronic renal allograft dysfunction. *Transplanta-*

- tion 71:SS37-SS41, 2001
- 7) Paul LC: Immunologic risk factors for chronic renal allograft dysfunction. *Transplantation* 71:SS17-SS23, 2001
 - 8) Waer M, Pirenne J, Mathieu C: Other forms of immunosuppression In *Kidney Transplantation* (Morris PJ 5th ed) W.B. Saunders, Philadelphia, p310-319, 2001
 - 9) Wilkinson A. Progress in the clinical application of immunosuppressive drugs in renal transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 10:763-770, 2001
 - 10) Knechtle SJ: Knowledge about transplantation tolerance gained in primates. *Curr Opin Immunol* 12:552-556, 2000
 - 11) Thomas JM, Asedu C, George JF, et al.: Preclinical bridge to clinical tolerance. *Curr Opin Org Transplant* 6:95-101, 2001
 - 12) Morelli AE, Hackstein H, Thompson AW: Potential of tolerogenic dendritic cells for transplantation. *Seminar Immunol* 13:323-335, 2001
 - 13) Zhai Y, Kupiec-Weglinski JW: What is the role of regulatory T cells in transplantation tolerance? *Curr Opin Immunol* 11:497-503, 1999
 - 14) Wekerle T, Sykes M: Mixed chimerism as an approach for the induction of transplantation tolerance. *Transplantation* 68:459-467, 1999
 - 15) Kawai T, Cosmi AB, Colvin RB, et al.: Mixed allogenic chimerism and renal allograft tolerance in cynomolgus monkey. *Transplantation* 59:256-262, 1995
 - 16) Kimikawa M, Sachs DH, Colvin RB, et al.: Modification of the conditioning regimen for achieving mixed chimerism and donor-specific tolerance in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 64:709-716, 1997
 - 17) Spitzer TR, Delmonico F, Tolkoff-Rubin N, et al.: Combined histocompatibility leukocyte antigen-matched donor bone marrow and renal transplantation for multiple myeloma with end stage renal disease: The induction of allograft tolerance through mixed lymphohematopoietic chimerism. *Transplantation* 68:480-484, 1999
 - 18) Millan MT, Shizuru JA, Hoffmann P, et al.: Mixed chimerism and immunosuppressive drug withdrawal after HLA-mismatched kidney and hematopoietic progenitor transplantation. 73:1386-1391, 2002
 - 19) Levisette MG, Padrid PA, Szot GL, et al.: Immunosuppressive effects of human CTLA4Ig in a non-human Primate model of allogenic pancreatic islet transplantation. *J Immunol* 159:5187-5191, 1997
 - 20) Ossevoort MA, Ringers J, Kuhn E-M, et al. Prevention of renal allograft rejection in primates by blocking the B7/CD28 pathway. *Transplantation* 68:1010-1018, 1999
 - 21) Kirk AD, Tadaki DK, Celniker A, et al.: Induction therapy with monoclonal antibodies specific for CD80 and CD86 delays the onset of acute renal allograft rejection in non-human primates. *Transplantation* 72:377-384, 2001
 - 22) Jonker M, Ossevoort MA, Vierboom M: Blocking the CD80 and CD86 cosimulation molecules: Lessons to be learned from animal models. *Transplantation* 73:S23-S26, 2002
 - 23) Abrams JR, Lebowohl MG, Guzzo CA, et al.: CTLA4Ig-mediated blockade of T-cell costimulation in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Invest* 103:1243-1252, 1999
 - 24) Kirk AD, Burkly LC, Batty DS, et al.: Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nature Med* 5:686-693, 1999
 - 25) Kawai T, Abrahamian G, Sogawa S, et al.: Costimulatory blockade for induction of mixed chimerism and renal allograft tolerance in non-human primates. *Transplant Proc* 33:221-222, 2001
 - 26) Yamada A, Sayegh MH: The CD154-CD40 costimulatory pathway in transplantation. *Transplantation* 73:S36-S39, 2002
 - 27) Knechtle SJ, Vargo D, Fechner J, et al.: FN18-CRM9 immunotoxin promotes tolerance in primate renal allografts. *Transplantation* 63:1-6, 1997
 - 28) Thomas JM, Eckhoff DE, Conteras JL, et al.: Durable donor-specific T and B cell tolerance in rhesus macaques induced with peritransplantation anti-CD3 immunotoxin and deoxyspergualin: absence of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 69:2497-2503, 2000