



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학석사 학위논문

신장 이식 전 혈장교환술의 항-
HLA 항체 제거 효과에 영향을
미치는 요인들에 대한 연구

Factors affecting preoperative
plasmapheresis induced anti-
HLA antibody reduction in kidney
transplantation patients

2020 년 8 월

서울대학교 대학원

의학과 검사의학전공

정 기 욱

신장 이식 전 혈장교환술의 항-
HLA 항체 제거 효과에 영향을
미치는 요인들에 대한 연구

지도교수 송 은 영

이 논문을 의학석사 학위논문으로 제출함

2020년 5월

서울대학교 대학원

의학과 검사의학전공

정 기 욱

정기욱의 석사 학위논문을 인준함

2020년 7월

위 원 장 _____ (인)

부 위 원 장 _____ (인)

위 원 _____ (인)

요약

서론: 장기 이식에서 혈장교환술을 활용한 탈감작 치료의 도입은 이식편의 항원에 대한 항체로 인해 발생하는 거부반응을 억제함으로써 이전에는 이식에 적합하지 않았던 공여자-수혜자 쌍을 이식이 가능하도록 바꾸었다는 점에서 임상적 의의가 크다. 사람백혈구항원(HLA)은 ABO와 함께 신장을 비롯한 장기 이식에서 임상적으로 가장 중요한 항원이다. HLA 적합성의 이식 전 검사는 고전적인 교차시험과 HLA 형별검사 외에도 Luminex 플랫폼 기반의 고체상검사법이 널리 사용되고 있다. 그러나 혈장교환술의 사람백혈구항원(HLA)에 대한 항체 제거 효과를 분석한 연구가 많지 않아 임상적인 판단에 어려움을 주고 있다. 저자들은 단일항원동정검사(SAB)를 활용하여 HLA 부적합 장기 이식으로 인한 탈감작 치료 시 혈장교환술의 항-HLA 항체 제거 효과를 평가하고자 하였다.

방법: 2007년 1월부터 2020년 2월까지 서울대학교병원에서 HLA 부적합 신장 이식을 위하여 수술 전 혈장교환술을 시행한 46명을 대상으로 탈감작 치료 시작 전과 탈감작 치료 종료 후의 SAB 결과를 비교하여 혈장교환술 시행 횟수, 항원의 종류, 항체의 초기 MFI 등의 요인이 혈장교환술의 항체 제거 효과에 어떤 영향을 미치는지 분석하고자 하였다. 항체 제거 효과는 특정 항체의 평균형광강도 (MFI) 감소 비율을 통해 평가하였다.

결과: 46명의 신장 이식 환자에서 확인된 578개의 항-HLA 항체가 분석에 포함되었다. Class I (61.9%)에서 class II (54.7%)보다 탈감작

치료 전후 항체 감소 효과가 더 크게 나타났다($P < 0.001$). HLA locus 별로는 초기 1-3회 혈장교환술 시행 시 항-HLA-C항체와 항-HLA-DP 항체의 감소가 다른 항-HLA항체에 비해 낮았다. 혈장교환술 시행 횟수에 따른 항체 감소 효과는 1-3회 시행군(58.4%)과 4-6회 시행군(52.2%)이 비슷했고 7회 이상 시행군(69.6%)에서 더 높게 나타났다. 동일 환자에서 혈장교환술 첫번째 3회(1-3회, 52.0%)와 두번째 3회(4-6회, 22.0%)의 효과를 비교했을 때 전자에 비해 후자의 효과가 낮았다($P < 0.001$). 초기 MFI에 따른 항체 감소 효과는 weak MFI 군(MFI 1,001-3,000, 51.5%)에서의 감소 비율이 moderate MFI (MFI 3,001-10,000, 70.2%), strong MFI (MFI 10,001-15,000, 75.6%), very strong MFI (MFI > 15,000, 81.1%) 3개의 군보다 유의하게 낮았다(모두 $P < 0.001$). 시술 전 MFI의 평균 \pm 표준편차는 1-3회 시행군이 $2,620 \pm 2,371$, 4-6회 시행군이 $3,994 \pm 2,936$, 7회 이상 시행군이 $6,054 \pm 4,723$ 였다.

결론: HLA 부적합 장기 이식으로 인한 수술 전 탈감작 치료 시 혈장교환술의 항-HLA 항체 제거 효과를 평가하였다. MFI 감소 정도는 HLA 특이성과, 시술 전 MFI 강도, 시행한 PE 횟수(1-3회 vs 4-6회)에 따라 차이를 보였다. 본 연구 결과는 이식 전 혈장교환술의 횟수를 예상하고 치료 일정을 조율하는데 유용한 기본 자료로 활용될 수 있을 것이다.

주요어: 신장 이식, 사람백혈구항원, 탈감작 치료, 혈장교환술, 단일항원동정검사, 공여자특이항체.

학 번: 2018-24816

목차

1. 요약	3
2. 서론	6
3. 재료 및 방법	13
4. 결과	17
5. 고찰	21
6. 표	25
7. 그림	35
8. 참고문헌	36
9. 영문초록	42

서론

1. 이식에서 탈감작 치료의 의의와 방법론

장기 이식은 다양한 원인으로 인해 발생한 장기의 기능 부전을 회복할 수 있는 강력한 수단이다. 만성 신장병에서도 가장 이상적이며 최종적인 치료 방법은 신장 이식이다.¹⁻³ 그러나 두 가지 측면의 문제로 인해 장기 이식의 임상적 적용은 크게 제한된다. 하나는 이식 장기의 공급이 수요에 미치지 못하는 문제이고 다른 하나는 면역 장벽의 존재이다.^{1,4} 이 두 가지 측면은 결국 연결되어 있으며, 탈감작 치료(desensitization)의 발전은 이전에는 이식에 적합하지 않았던 공여자-수혜자 쌍을 적합하도록 바꿈으로써 많은 환자들이 장기 이식의 수혜자가 될 수 있도록 만들었다는 점에서 커다란 의의를 지니고 있다.³⁻⁵

장기 이식에서의 탈감작 치료란 수혜자에게 이식편(graft)에 존재하는 항원에 대한 항체가 있을 때 일어날 수 있는 거부반응을 억제하고 이로 인한 이식편 손실(graft loss)을 예방하는 것을 목적으로 하여 수혜자의 체내에서 항체가 생성되는 것을 막고, 존재하는 항체를 제거하는 치료 방법을 일컫는다. 현재 국내에서 신장 이식을 위해 일반적으로 사용되는 탈감작 치료 방식은 면역억제제와 경정맥 면역글로불린(intravenous immunoglobulin, IVIG), 혈장교환술(plasmapheresis)을 함께 사용하는 방법이다.⁶

면역억제제로는 항-CD20 단클론성 항체인 리툭시맙(rituximab, Mabthera[®])이 가장 보편적으로 쓰이며, 프로테아좀 억제제인 보테조밋(bortezomib, Velcade[®])도 널리 사용되고 있다. 보체 활성을

억제하는 에클리주맙(eclizumab, Soliris®)을 비롯한 새로운 면역억제제들도 탈감작 치료에서의 효용성에 대한 연구가 진행되고 있다.^{2,3,6-8}

면역억제제의 사용이 항체의 생성을 억제하는 데 목적이 있다면 혈장교환술은 이미 생성된 항체를 혈장에서 물리적으로 제거하는 것을 목적으로 한다. 현재 국내에서 주로 사용되는 혈장교환술은 혈액성분채집기를 사용하여 혈액을 체외에서 원심분리하여 혈장을 선택적으로 제거하고 치환용액으로 교환하여 체내로 주입하는 방식이다.^{9,10} 미국과 한국에서는 주로 이와 같은 전혈장교환술(total plasma exchange)을 사용하고, 일본에서는, 이중 필터 혈장교환술(double filtration plasmapheresis, DFPP)을, 스웨덴과 독일에서는 면역흡착술(immunoadsorption)을 많이 사용하나 목적은 전부 혈장 내 항체의 제거로 같다.^{6,7,11} 특정 항체 제거 방식이 제거 효과나 임상 성적에서 우월한지 여부는 아직 입증되지 않았다.^{10,11}

탈감작 치료를 위한 혈장교환술에서 고려해야 할 부분은 첫째, 시술의 횟수와 간격, 둘째, 1회 시술 중 교환되는 혈장의 양, 셋째, 치환용액의 선택이다. 항체 제거를 목적으로 혈장교환술을 시행하는 경우 1회 시술의 교환량은 환자 혈액량의 1-1.5배, 시술 간격은 격일이 권장되고, 시술의 횟수는 목표 설정에 따라 결정된다.^{12,13} 시술 간격은 제거하고자 하는 항체의 혈관 내/혈관 외 분포와 관련이 있는데, IgM 항체는 상대적으로 크기가 크므로 혈관 외 구획으로 이동하기 어려워 75%가 혈관 내 구획에 분포하는 반면 IgG 항체는 상대적으로 구획 간 이동이 용이하여 45%가 혈관 내 구획에 분포하며, 혈장교환술이 끝난 후 혈장 외 구획에 존재하던 항체가 혈장 내부로 재분포하는데 걸리는 시간은 24시간 이내이다. 따라서 IgM 항체가 IgG 항체보다 느리게 제거되고, 매일 시행보다 격일 시행이 항체 제거에 더 효과적이다.^{12,14} 치환용액은

1차적으로 5% 알부민 용액이 권장되며, 소모성 응고장애가 우려되거나 수술이 24시간 내 예정되어 있는 경우 신선동결혈장의 사용이 고려된다.^{10,15}

2. 이식면역학 측면에서 공여자 적합성 평가

신장 이식에서 주로 문제가 되는 항원은 ABO 항원과 사람백혈구항원(human leukocyte antigen, HLA)이다.^{2-4,7} ABO 항원은 주로 적혈구막에 존재하며 자신이 보유하지 않는 ABO 항원에 대한 항체를 모든 사람이 가지고 있다는 특징으로 인해 수혈의학에서 특히 중요한 항원으로 다뤄지지만, 적혈구막 뿐만 아니라 혈관내피세포나 신세뇨관 상피세포에도 표현되는 항원이기 때문에 신장을 비롯한 고형장기 이식에서도 항-ABO 항체로 인한 거부반응은 주요한 장애물이 된다.^{11,16,17} 이로 인해 초기에는 ABO 부적합 신장 이식은 금기로 여겨졌으나 수술 전 면역억제제와 혈장교환술을 통한 탈감작 치료로 항-ABO 항체를 억제하여 ABO 부적합 신장 이식을 성공적으로 시행할 수 있는 방법이 제시되었고 현재는 탈감작 치료를 병행한 ABO 부적합 신장 이식은 ABO 적합 신장 이식과 비교하여 뒤쳐지지 않는 임상적 성적을 보임이 다수 연구에서 보고되어 있다.^{7,11,17,18}

HLA는 ABO 항원과는 완전히 다른 측면의 문제를 갖는다. 첫번째로 HLA는 ABO항원에 비해 훨씬 더 높은 수준의 다양성을 갖는다.¹⁹ 하나의 유전자위에 크게 A, B, O, 3종류의 대립유전자가 존재하는 ABO 항원에 비하여 HLA는 적어도 5개의 유전자위에 수십 종류에서 수백 종류의 대립유전자가 존재한다. 두번째로 거의 생득적으로 존재하는 항-ABO 항체와 달리 대개의 항-HLA 항체는 임신, 수혈, 장기 이식 등과 같은 사건에 의해 자신이 보유하지 않은 HLA에 노출되어 감작되어야 형성된다.¹⁹ 장기 이식에서 ABO 부적합이 이식편에 존재하는 항원을 수혜자가 보유하지 않는 것과 거의 동일한 의미인 데

반하여 HLA 부적합(HLA incompatible, HLAi)이란 이식편에 존재하는 HLA에 대한 항체, 곧 공여자특이항체(donor specific antibody, DSA)를 수혜자가 보유하는 것이라는 의미를 갖는다.^{20,21} 이와 같은 차이는 이식 전 검사에서 결정적인 차이를 가져오는데 간단한 ABO 혈구형, 혈청형 검사로 확인할 수 있는 ABO 적합성에 비하여 HLA 적합성의 평가는 공여자/수혜자의 HLA 유전자형 검사와 교차시험 및 수혜자의 항-HLA 항체검사를 종합하여야 하므로 훨씬 많은 비용과 노력이 요구된다.

HLA 부적합의 고전적인 기준은 보체의존세포독성 교차시험(complement-dependent cytotoxicity crossmatch, CDC-Xm) 양성이었으나 유세포분석 교차시험(flow cytometry crossmatch, FCM-Xm), 고체상측정법(solid phase assay) 등과 같이 보다 민감한 항-HLA 항체 검사법이 보편화되면서 CDC-Xm 음성이면서 항-HLA 항체가 확인된 경우의 이식 및 탈감작 치료에 대한 판단이 요구되고 있다.^{6,21}

Luminex 플랫폼 기반의 고체상측정법은 확인하고자 하는 항원을 결합시킨, 서로 다른 비율의 형광 조성으로 특정되는 microbead를 혈청 검체와 반응시키고 세번째 형광이 결합된 2차 항체와 다시 반응시켜 결과적으로 확인하고자 하는 항원에 대한 항체의 존재를 형광의 세기로 검출하는 검사법으로 기존의 항-HLA 항체검사에 비해 우수한 민감도와 특이도를 지녔으며 다수의 검체를 동시에 처리할 수 있어 이식면역검사 분야에서 빠르게 보편화되었다.²²⁻²⁴ 이를 활용한 항-HLA 항체 검사에는 항체선별검사(antibody screening), 항체동정검사(antibody identification), 단일항원동정검사(single antigen bead assay, SAB) 3종류의 검사가 사용되고 있는데 microbead에 결합된 항원의 개수에 차이가 있다. SAB는 재조합된 HLA 단일항원이 결합된 microbead를 사용하여 가장 특정적으로 항-HLA

항체를 동정할 수 있어 현재 이식 전 단계에서 필수적인 검사로 여겨진다.²² 이 때 특정한 항체의 존재는 검출된 microbead의 형광 강도의 대표값(mean fluorescent intensity, MFI)으로 표현된다.

교차시험에서 음성이면서 SAB에서만 확인되는 DSA의 임상적 의의에 대하여 항체매개성 거부반응의 발생 혹은 이식신의 수명에 영향을 미칠 수 있다는 보고가 있어 최근에는 이러한 경우에도 이식 전 탈감작 치료를 시행하기도 한다.^{6,25,26} 그러나 변성된 항원이나 비특이적 반응 등으로 인한 위양성의 위험성도 보고되어 있어 임상적 해석에 주의가 필요하다.^{22,27,28}

3. 탈감작 치료의 목표 설정과 계획 수립

이식 전 탈감작 치료의 목표를 설정할 때 최종적으로 알고자 하는 것은 해당 항체가 이식편에 대한 거부 반응을 일으키는 정도이나 이식 전에는 이를 직접적으로 확인할 수 없으므로 간접적인 방식으로 항체의 면역원성에 대한 평가를 하게 된다. 항-ABO 항체는 ABO 동종응집소의 역가를 측정하여 기준으로 삼고, 수술 전까지 정해진 cutoff 이하로 떨어뜨리는 것을 목표로 하여 탈감작 치료 중에 연속적인 모니터링을 한다.^{17,18} 그러나 이 때 어느 정도의 역가를 cutoff로 정할지에 대해서는 기관에 따라 1:4에서 1:32까지 큰 편차를 보이며, 아직까지 합의된 기준은 제시되지 않은 상황이다.^{11,17}

HLA 부적합에서 탈감작 치료의 목표는 명확한 합의가 이뤄지지 않았으나 FCM-Xm의 음전이나 SAB 상 DSA의 MFI가 특정 값 이하로 하락하는 것을 참고로 하여, 임상적 판단에 의존하게 된다. SAB에서도 검체의 연속적 희석을 통해 역가를 산출하여 탈감작 치료 목표를 설정하는 것이 이식 예후와 연관된다는 연구 결과가 있다.^{29,30} 그러나 비용과 경제성의 문제로 임상 진료에 활용하기는 어려운 것이

국내의 현실이다.

탈감작 치료 목표 설정 및 초기 탈감작 치료 계획 수립은 경제적 측면에서 더욱 중요하다. 신장 이식을 비롯한 장기 이식 수술은 유동적 일정 조정이 어렵다. 만일 예정된 수술일이 임박하도록 탈감작 치료의 목표가 달성되지 못하였다면 수술을 연기하거나 불완전한 탈감작 상태에서 수술을 진행하여야 한다. 장기 이식을 시행할 만한 규모의 병원 수술실은 2-3개월간 일정이 잡혀있는 경우가 많아 탈감작 치료를 위해 수술을 연기하는 경우 2-3개월 후 수술을 목표로 탈감작 치료를 처음부터 다시 해야 하는 경우도 있다. 따라서 탈감작 치료 시작 전에 소요되는 시간을 어느 정도 정확하게 예측할 필요성이 있다.

ABO 동종응집소의 역가 측정은 1회당 건강보험요양급여비용 기준 12,700원으로 상대적으로 비용 부담이 크지 않고 검사시간도 1시간 이내로 길지 않아 혈장교환술의 매 시행마다 추적 검사하여 탈감작 추이에 따라 계획을 수정하는 것이 어렵지 않다. 반면 항-HLA 항체검사는 FCM-Xm이 102,720원, SAB가 175,680원으로 혈장교환술 매 시행마다 추적 검사하기에는 비용 부담이 크며 검사시간도 결과 보고까지 길면 수 일 걸릴 수 있어 탈감작 추이에 따른 유동적 계획 수정이 어려운 측면이 있다.³¹

그러므로 초기에 항-HLA 항체에 대한 탈감작 치료의 효과를 예측하는 것이 환자의 성공적인 이식과 의료자원의 경제성 양측 측면에서 매우 중요하다. 그러나 이에 대한 확립된 연구는 부족한 상황이다. Zackary 등은 2005년 연구에서 몇 가지 요소를 통해 탈감작 확률을 예측하는 방법을 제안한 바 있으나 탈감작을 위해 요구되는 혈장교환술의 횟수를 예측하는 데는 적절하지 않았다.³² Yamada 등은 2015년 연구에서 처음 1-3번째 혈장교환술이 4-6번째 혈장교환술보다 항체 제거 효과가 컸고 HLA 유전자위에 따라 항체 제거 효과의 편차를 보였다고

보고하였으나 이는 이식 후 항체매개성 거부반응을 억제하기 위한 탈감작 치료를 받은 환자만을 대상으로 한 연구여서 이식 전 탈감작 치료의 효과 평가에 참고하기에는 어려움이 있었다.³³

4. 연구의 목적

따라서 저자들은 이식 전 탈감작 치료를 받은 환자들을 대상으로 탈감작 치료 전후의 SAB 결과의 변화를 통하여 혈장교환술의 항-HLA 항체 제거 효과가 어느 정도이며, 어떤 요소와 연관되어 있는지를 알고자 하였다.

구체적으로는 다음과 같은 의문점을 확인하고자 하였다. 1) 혈장교환술의 항체 제거 효과는 항체의 초기 MFI와 연관이 있는가? 2) 혈장교환술의 항체 제거 효과는 HLA 유전자위에 따라 차이를 보이는가? 3) 혈장교환술의 항체 제거 효과는 반복할수록 감소하는가? 4) 만일 그렇다면 특정 HLA에 대한 특정 MFI를 보이는 항체를 제거하기 위해 필요한 혈장교환술의 횟수를 추정할 수 있는가?

이를 통해 저자들은 궁극적으로 HLA 부적합 장기 이식 전 탈감작 치료의 효과를 보다 정확하게 예측하고 면밀한 탈감작 치료 및 수술 계획을 세우는 데 의미 있는 정보를 제공하는 것을 목표로 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

2007년 1월부터 2020년 2월까지 서울대학교병원에서 장기 이식을 위하여 수술 전 혈장교환술이 의뢰된 환자 중 HLA 부적합으로 의뢰된 82명을 대상으로 후향적 분석을 시행하였다. 연구대상 환자군의 의무기록을 확인하여 나이, 연령, 이식 장기, 혈장교환술 방법 및 횟수, 탈감작 프로토콜, SAB 결과, DSA의 존재 여부, 수술 후 거부반응 발생 여부 등을 조사하였다.

이 환자들을 대상으로 혈장교환술 시작 전 SAB 검사에서 MFI 1,000 이상으로 양성 확인된 항-HLA 항체의 MFI가 혈장교환술 시행 전과 종료 후 SAB 검사에서 어떻게 변화했는지를 분석하였다. 혈장교환술의 종료는 각 환자에서 유세포교차시험이 음성으로 전환되는 시점으로 임상 의사가 결정하였다.

배제 기준은 다음과 같았다. 혈장교환술 시행 전후 SAB 검사 결과가 없는 경우 분석이 불가능하므로 배제하였다. 결과가 있더라도 검사일이 혈장교환술 종료일과 2일 이상 차이 나는 경우, 혹은 검사일이 이식 수술 이후인 경우 시술 후 항체의 반등이나 이식편의 영향을 배제할 수 없으므로 배제하였다. 신장 외의 장기 이식인 경우 탈감작 프로토콜이 상이하여 배제하였다. 확인된 항-HLA 항체 중 혈장교환술 시작 전 SAB 검사에서 MFI가 20,000 이상인 경우 microbead의 포화로 인해 MFI가 실제보다 저평가되었을 가능성이 있어 분석에서 제외하였다.^{30,34}

2. 항-HLA 항체 검사

항-HLA 항체 검사는 2007년 1월부터 2015년 5월까지 Lifecodes LSA Class I/II Single Antigen (Immucor, Stanford, CT, USA), 2015년 6월부터 2020년 2월까지는 LABScreen Single Antigen HLA Class I/II (One Lambda, Canoga Park, CA, USA) 시약을 사용하여 시행하였다.

Lifecodes LSA Class I/II Single Antigen Assay

혈청 10 μ L과 microbeads 40 μ L를 96-well microplate의 각 well에 분주하여 실온의 암소에서 30분간 반응시켰다. Microplate를 세척한 후, Phycoerythrin (PE)-conjugated goat anti-human IgG 50 μ L를 각 well에 분주하여 실온의 암소에서 30분간 반응시켰다. 형광이 부착된 2차 항체와 부합이 끝난 검체는 Luminex 200 system (Luminex, Austin, TX, USA)를 사용하여 분석하였다.

LABScreen Single Antigen HLA Class I/II Assay

혈청 20 μ L와 microbeads 5 μ L를 96-well microplate의 각 well에 분주하여 실온의 암소에서 30분간 반응시켰다. Microplate를 3회 세척한 후, Phycoerythrin (PE)-conjugated goat anti-human IgG 100 μ L를 각 well에 분주하여 실온의 암소에서 30분간 반응시켰다. 형광이 부착된 2차 항체와 부합이 끝난 검체는 Luminex 200 system (Luminex, Austin, TX, USA)를 사용하여 분석하였다.

3. MFI cutoff 설정

MFI (mean fluorescent intensity)는 각각 very strong (MFI \geq 15,000), strong (MFI 10,001-15,000), moderate (MFI 3,001-10,000), weak (MFI 1,001-3,000)으로 분류하였다. MFI의 감소 비율(MFI reduction rate, rMFI)은 $\left(1 - \frac{\text{시술 후 MFI}}{\text{시술 전 MFI}}\right) \times 100$ (%) 으로

정의하였다. 본 검사실의 보고 기준은 MFI 1,000 이하를 음성으로 보고하고 있으나 DSA의 경우 MFI 500까지 보고하고 있으므로 이에 따라 cutoff를 500으로 적용하여 시술 후 MFI가 500 이하인 경우 500으로 간주하였다. 감소 비율의 계산 방식 상 시술 전 MFI가 상대적으로 낮은 경우 cutoff의 설정이 계산된 감소 비율에 더 큰 영향을 미칠 수 있어 이를 확인하고자 cutoff을 1,000으로 설정하여 계산한 MFI 감소 비율(rMFI1000)을 추가로 계산하여 cutoff를 500으로 적용한 rMFI과 비교하였다.

4. 3 point 분석

추가적으로 동일 환자에서 항-HLA 항체의 SAB MFI의 변화 추이를 분석하기 위하여 연구대상 환자 중 혈장교환술 시작 전, 혈장교환술 3회 후, 혈장교환술 6회 후 SAB 검사 결과가 존재하는 환자들을 대상으로 하여 동일한 방법으로 rMFI, rMFI1000의 분석을 시행하였다.

5. 통계

환자군을 혈장교환술 시행 횟수에 따라 1-3회 시행군(t-point 1g), 4-6회 시행군(t-point 2g), 7회 이상 시행군(t-point 3g)으로 분류하였다. 세 그룹 사이에 나이, 성별, 재이식 여부, DSA 특이성, 혈장교환술 시술 전 DSA의 MFI 값의 차이를 ANOVA와 Kruskal Wallis 검정을 시행하여 확인하였다.

다음으로, 각 독립변수에 따른 항체 제거 효과를 rMFI를 통해 평가하였다. rMFI가 초기 MFI 강도, HLA 유전자위, 혈장교환술 시행 횟수에 따라 어떤 차이를 보이는지 ANOVA와 Kruskal Wallis 검정을 시행하여 확인하였고, 필요한 경우 개별 군 간의 차이를 알기 위해 Wilcoxon rank sum test 혹은 Welch's t-test로 사후검정을 시행하였다.

또한, 혈장교환술 시작 전, 3회 시행 후, 6회 시행 후 항체 제거 효과가 HLA유전자위, 초기 MFI 강도에 따라 어떤 차이를 보이는지 Wilcoxon signed rank sum test를 시행하여 확인하였다.

마지막으로, 이식 후 항체매개성 거부반응이나 세포성 거부반응을 보인 환자군이 그렇지 않은 환자군과 비교하여 항체 제거 효과에 차이를 보이는지 Wilcoxon rank sum test를 시행하여 확인하였다.

모든 분석은 Microsoft Excel (Microsoft Corporation, WA, USA) 과 R version 4.0.0 (R foundation for statistical Computing, Vienna, Austria)을 사용하여 진행되었다.

결과

총 53명의 환자 검체에서 949개의 항-HLA 항체 specificity가 시술 전 SAB에서 양성으로 분류되었다. 최종적으로 46명의 신장 이식 환자에서 확인된 578개의 항-HLA 항체 specificity가 분석에 포함되었다. 혈장교환술 시행 횟수에 따른 연구대상 환자군의 임상적 특성을 표1에 요약하였다. 1-3회 시행군(t-point 1g), 4-6회 시행군(t-point 2g), 7회 이상 시행군(t-point 3g)의 중위 연령은 각각 58.5세, 50세, 55세였으며, 46명 중 44명이 생체 신장이식 대상자였고 성별, 재이식 여부, 거부 반응 발생 여부에서 그룹 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다.

578개 항체 specificity 중 HLA class I이 370개 (64%, 시술 전 MFI 평균 \pm 표준편차 3,795 \pm 3,575), HLA class II가 208개 (36%, 3,341 \pm 3,308) 로 나타났으며 class I 중에서는 HLA-A 78개 (21.1%, 3,432 \pm 3,100), HLA-B 228개 (61.6%, 4,004 \pm 3,776), HLA-C 64개 (17.3%, 3,493 \pm 3,357)로 나타났다. Class II 중에서는 HLA-DR 102개 (49%, 3,334 \pm 3,333), secondary DR (DR51-53) 23개 (11.1%, 3,963 \pm 3,987), HLA-DQ 36개 (17.3%, 4,559 \pm 4,145), HLA-DP 47개 (22.6%, 2,117 \pm 744)의 specificity가 확인되었다.

연구대상 환자군의 DSA 특이성과 탈감작 전 MFI 분포를 요약하였다 (표2). 46명의 환자 중 1명은 DSA가 확인되지 않았는데 이는 사체신장이식을 위한 탈감작 치료를 받은 환자로 이식 후 후향적으로 DSA를 확인한 결과 음성이었다. 이를 제외한 45명의 환자에서 66개의 DSA가 보고되었고 각각 HLA class I 26개, HLA class II 40개로 나타났다(표3).

이 중 11명의 환자에서 보고된 12개의 DSA specificity는 분석에 포함되지 않았는데, DSA의 MFI가 501-1,000으로 보고되어 본 연구에는 DSA를 제외하고 MFI 1,000 이상인 non-DSA 항체만 포함된 경우, 이전 검사에선 DSA 양성이었으나 시술 전 시행한 SAB에서 음성 보고된 경우, PRA 동정검사에선 DSA 양성이었으나 SAB에서 음성 보고된 경우 등이었다. 탈감작 전 DSA의 MFI 평균은 혈장교환술 시행횟수 1-3회 환자군(t-point 1g)에서 $2,620 \pm 2,371$ 으로 4-6회군(t-point 2g, $3,994 \pm 2,936$), 7회 이상 군(t-point 3g, $6,186 \pm 4,823$)에 비해 유의하게 낮았다 (각각 $P = 0.049$, $P = 0.007$). 4-6회군과 7회 이상 군은 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P = 0.207$).

HLA locus에 따른 시술 전후 MFI의 감소 비율(rMFI, cutoff = 500)을 표4에 요약하였다. Class I에서 class II보다 시술 전후 감소 효과가 더 크게 (61.9% vs. 54.7%, $P = 0.001$) 나타났다. Class I 중에서는 A, B, C (69.8%, 61%, 55.6%, $P = 0.019$) 순으로 감소 효과가 크게 나타났고, DR, DR51-53, DQ, DP (55.6%, 56.8%, 58.9%, 48.6%, $P = 0.123$)는 유의한 차이를 보이지 않았다.

Cutoff를 MFI 1,000으로 설정하여 계산한 감소 비율(rMFI1000, 표5)은 t-point 1g의 Class I의 경우 A, B, C (50.5%, 48.1%, 18.2%, $P < 0.001$) 로 3 유전자위간에 차이를 보였고, 이를 제외한 모든 경우에서 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

혈장교환술 시행횟수에 따른 시술 전후 MFI의 감소 비율을 표6에 정리하였다. 전체 실험대상군에서 t-point 1g와 t-point 2g는 차이를 보이지 않았고, t-point 3g가 유의하게 큰 MFI 감소 효과를 보였다(58.4%, 52.2%, 69.6%, $P < 0.001$). Class I과 II 군에서도 같은 경향을 보였다. Cutoff를 1,000으로 설정한 경우(표7)에서 마찬가지로의 경향을 확인할 수 있었다.

시술 전 MFI 에 따른 시술 전후 MFI 감소 비율을 그림1에 요약하였다. Weak MFI 군(MFI 1,001-3,000)에서의 감소 비율(51.5%)이 moderate MFI (MFI 3,001-10,000, 70.2%), strong MFI (MFI 10,001-15,000, 75.6%), very strong MFI (MFI > 15,000, 81.1%) 3개의 군보다 유의하게 낮았다 (모두 $P < 0.001$). MFI 3,000 이상의 3개의 군 사이에는 유의한 차이가 나타나지 않았다.

연구대상자 중 시술 전(t-point 0), 3회 시술 후(t-point 1), 6회 시술 후(t-point 2) 시점에 모두 SAB를 시행한 환자를 대상으로 한 3 point 분석을 표8에 요약하였다. 모두 6명에서 총 78개 항-HLA 항체 specificity가 분석에 포함되었고 이 중 class I이 58개, class II가 20개였다. 처음 3회 시술 후의 MFI 감소 효과에 비해 다음 3회 시술 (4-6번째 시술) 후의 MFI 감소 효과가 현저하게 낮게 나타났으며 (51.9% vs. 22.3%, $P < 0.001$), 이는 class I (49% vs. 34.6%, $P = 0.008$)보다 class II (60.1% vs. 13.3%, $P < 0.001$)에서 더 큰 차이를 보였다. 시술 전 MFI에 따른 분류에서는 weak MFI 군(MFI 1,001-3,000)에서 큰 차이를 보였고(59.2% vs. -1.7%, $P < 0.001$), moderate MFI 군 (MFI 3,001-10,000)에서도 차이를 나타냈다(60.3% vs. 45.6%, $P = 0.03$). Strong MFI 군 (MFI 10,001-15,000), very strong MFI 군 (MFI > 15,000)에서는 초기 3회 시술과 다음 3회 시술의 MFI 값 감소 효과가 유의미한 차이를 보이지 않았다.

DSA 의 MFI 와 이식 성적과의 연관성을 확인하기 위해 이식 후 거부반응을 나타낸 환자군과 거부반응을 나타내지 않은 환자군에서 탈감작 전후 DSA 의 MFI 를 분석하였다 (표 9, 표 10). 혈장교환술을 통해 class I DSA 의 이식 전 평균 MFI 를 5,233 에서 이식 후 평균 MFI 1,236 으로, class II DSA 의 이식 전 평균 MFI 를 3,807 에서 이식 후 평균 MFI 1,453 으로 감소시켰으며, DSA 양성인 환자 38 명 중

20 명 (52.6%)에서 거부반응이 나타났다. 모든 종류의 거부반응이 나타난 군, 세포성 거부반응이 나타난 군, 항체매개성 거부반응이 나타난 군에서 탈감작 전과 후의 MFI는 유의한 차이를 보이지 않았다.

고찰

HLA 부적합 신장 이식에서 탈감작 치료를 위한 혈장교환술은 격일 간격이 권장되며,¹³ 이와 병원의 주5일제 업무일을 함께 고려할 때 신장 이식 전 탈감작 치료는 일주일에 월요일-수요일-금요일 3 회의 혈장교환술을 시행하는 일정이 일반적이다. 이에 따라 3 회의 혈장교환술을 1 주 단위로 간주할 때, 본 연구에 따르면 첫번째 1 단위(1-3 회, t-point 1g) 혈장교환술로 기대할 수 있는 MFI 감소 효과는 58.4%이다. Yamada 등의 연구³³에서는 첫번째 1 단위(1-3 회)로 기대할 수 있는 MFI 감소 비율이 25.3%로 보고되었는데 해당 연구가 이식 전 탈감작 치료가 아닌 이식 후 거부반응이 나타난 경우를 위한 탈감작 치료이기 때문으로 해석된다. 해당 연구는 DSA 만을 분석 대상으로 한 것으로 이식 후 환자는 이식편이 보유한 항원이 지속적으로 면역체계에 노출되어 있는 상황에 있다. 면역원의 지속적 자극이 항체의 생성에 영향을 미쳐 MFI 감소 효과의 차이를 유발하였을 가능성이 있다. 혈장교환술 시행횟수에 따른 MFI 감소 효과는 1-3 회(t-point 1g)와 4-6 회(t-point 2g)가 차이를 보이지 않았고 7 회 이상(t-point 3g)에서 더 크게 감소하는 경향을 보였다. 오히려 t-point 2g 가 조금이나마 t-point 1g 보다 감소 효과가 낮게 나타나기까지 했다. 이를 설명하기 위하여 2 가지 가능성을 생각할 수 있다. 첫번째는 표본선정의 편중이다. 항체가 빠르게 감소한 환자들은 1-3 회 시행 후 탈감작 치료가 종료되고 항체가 상대적으로 느리게 감소한 환자들은 더 많은 혈장교환술을 시행했기에 t-point 2g 에 속하게 되었을 것이다. t-point 1g 과 t-point 2g 간의 재이식빈도나, DSA 분포에는 차이를 보이지 않아, 어떠한 특성으로 t-point 1g 또는 2g 에 속하는지에 대해서는 밝힐 수가

없었다. 두번째는 항체 제거의 rebound 현상이 나타나기 때문으로 생각된다.³⁵ 본 연구에서 추가적으로 시행한 3 point 분석에서도 초기 3 회의 혈장교환술의 MFI 감소 효과와 비교하여 4-6 번째 혈장교환술의 MFI 감소 효과가 명확하게 낮게 나타났으며 Class II 의 경우 4-6 번째 혈장교환술의 효과가 없는 것으로 나타났다. 이는 Yamada 등의 연구에서도 동일하게 확인된 바 있었다.³³ Rebound 현상이 나타나는 원인으로서는 혈장교환술을 통한 항체 제거가 B 세포의 항체 생성 작용에 대한 음성 feedback 을 저해하여 항체 생성을 자극하는 결과를 초래한다는 설명과 혈장교환술이 B 세포의 증식을 유발한다는 설명이 제시되어 있다.^{30,33,35} 또한, 시술 전 MFI에 따라 rMFI가 차이를 보이고, weak MFI (1,001-3,000) 항체군에서 rMFI 가 낮은 것을 볼 수 있었는데, 이 또한, 항체 생성의 homeostatic rebound 로 일부 설명할 수 있을 것이다.³⁰

본 연구에서는 HLA locus 에 따라 탈감작 치료에 반응하는 정도가 다르게 나타났다. 항-HLA class I 항체가 항-HLA class II 항체보다 탈감작 전후의 MFI 감소 정도가 유의하게 크게 나타났으며 이는 탈감작 시행횟수에 따라 분류한 부분집합에서도 공통적으로 관찰되었다. 이는 이전 연구에서 여러 번 보고된 바와 같았다.^{33,36,37} t-point 1g 의 Class I 안에서는 HLA-C 에 대한 항체가, class II 안에서는 HLA-DP 에 대한 항체가 더 감소 효과가 낮게 나타났다. 이는 발현되는 항원량의 차이로 일부 설명할 수 있다.³² in vivo 에서 HLA-C 는 HLA-A 와 HLA-B 의 10 분의 1 정도로 적은 양이 발현되고, Class II 의 경우 HLA-DR 에 비해 DR51-53 과 DQ 의 발현은 15-20% 수준이고, DP 의 발현은 더욱 낮은 것으로 보고되었다.³⁸⁻⁴⁰ 반면 SAB 의 microbead 에 결합된 HLA 는 재조합 항원이기 때문에 실제보다 과발현된 상태이며, 이로 인해 MFI 의 변동이 실제 항체의 변동과 괴리를 보이는 것으로 추정된다.

탈감작 치료 전후 MFI 의 감소 비율을 통계분석의 종속변수로 간주하였으므로 MFI cutoff 의 설정은 분석결과에 직접적인 영향을 미칠 수 있다. 특히 시술 전 MFI 가 cutoff 에 가까울수록 MFI cutoff 변수로 인한 교란효과가 크게 나타났다. Cutoff 를 1000 으로 설정한 경우 시술 전 MFI 1000 에 근접한 범위로 약양성을 보인 specificity 의 항체 감소 효과가 과소평가되는 경향이 컸기 때문에 cutoff 를 500 으로 설정한 rMFI 가 보다 항체 감소 효과를 정확하게 반영할 것으로 판단되었다.

본 연구에서는 이식 후 거부반응의 발생 여부와 탈감작 치료 전 및 치료 후 MFI 의 연관성을 확인하지 못하였다. 본 연구에서 MFI 20,000 이상의 항체를 분석에서 제외하여 strong DSA 가 분석에 포함되지 않은 것이 이러한 소견의 원인 중 하나일 수 있을 것이며, 좀 더 많은 수의 환자를 대상으로 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Luminex 플랫폼을 기반으로 하는 SAB 검사의 도입은 이식면역검사 분야에 혁신적인 변화를 불러 일으켰다. 그러나 SAB 를 이식 전 탈감작 치료의 효과 평가 및 예측의 수단으로 직접 사용하기에는 한계가 있는데 이는 근본적으로 정성적 검사로 개발되었기 때문이다. 임상적으로 SAB 의 MFI 가 항체의 양 혹은 세기에 대한 반정량적 지표로 널리 받아들여지고 있는 것이 현실이지만 여러 전문가들은 MFI 를 정량적 의미로 확대하여 이해하기 위해서는 microbead 의 포화, 저해물질의 존재, 비특이적 반응, 변성된 항원에 대한 반응 등 다수의 교란 요인을 고려해야 함을 보고하고 있다.^{29,30,37,41} 이에 대한 대안으로 연속 희석 검사를 통한 역가 측정이 탈감작 치료의 효과 평가에 더 적절하다는 연구가 있으나^{29,30} 한국 건강보험 체제의 한계 상 비용과 검사실 자원의 문제로 이를 임상 진료에 적용하는 것은 한계가 있다. 본 연구의 주된 의의와 한계점이 이 지점에 동시에 존재한다. 본 연구에서는 microbead 의 포화를 해결하기 위해 희석 검사를 시행하지는 못하였다.

하지만 MFI 20,000 이상의 항체를 연구에서 제외시켜 현실적으로 가용할 수 있는 자원으로부터 최대한으로 활용 가능한 임상적 의미를 도출했다는 것은 본 연구의 의의라 할 수 있다.

덧붙여 본 연구는 후향적 연구로써 갖는 한계도 존재한다. 혈장교환술의 시행 간격 및 SAB 검사 시점이 환자마다 달라 연속적인 변화를 추적하는 데 한계가 있었다. 더 정확한 결과를 도출하기 위해서는 후일 통일된 프로토콜이 적용된 전향적 연구가 필요할 것이다.

요약하면 저자들은 HLA 부적합 장기 이식 시 혈장교환술의 항-HLA 항체 제거 효과를 평가 및 예측하고자 하였다. 초기 3 회 혈장교환술을 통해 58.4%의 MFI 감소를 기대할 수 있었고, 4-6 회의 혈장교환술 시행시 rebound 가 관찰되었으며, 7 회 이상 시행을 통해 69.6%의 MFI 감소를 보였다. 초기 MFI 에 따른 항체 감소 효과는 weak MFI 군에서의 감소 비율이 moderate MFI, strong MFI, very strong MFI 3 개의 군보다 유의하게 낮았다. HLA locus 별로는 초기 1-3 회 혈장교환술 시행 시 항-HLA-C 항체와 항-HLA-DP 항체의 감소가 다른 항-HLA 항체에 비해 낮았다. 혈장교환술을 통해 시술 전 평균 MFI 4,388 의 DSA 를 시술 후 평균 MFI 1,424 로 감소시켰으며, 이식 후 거부반응과는 유의한 연관을 보이지 않았다.

표 1. 시행받은 혈장교환술 횟수에 따른 연구대상 환자군의 특성 요약

	t-point 1g n = 18	t-point 2g n = 15	t-point 3g n = 13	<i>P</i>
Age (yr), median [range]	58.5 [22-67]	50.0 [19-62]	55 [46-66]	0.669
Male sex, n (%)	3 (16.7%)	0 (0.0%)	2 (15.4%)	0.256
Retransplantation, n (%)	2 (11.1%)	2 (13.3%)	2 (15.4%)	0.94
All rejection, n (%)	6 (35.3%)	7 (58.3%)	7 (53.9%)	0.409
AMR, n (%)	3 (17.7%)	4 (33.3%)	5 (38.5%)	0.417
TMR, n (%)	5 (29.4%)	5 (41.7%)	5 (38.5%)	0.77

t-point 1g: patients with one to three PE treatments.

t-point 2g: patients with four to six PE treatments.

t-point 3g: patients with seven or more PE treatments.

Abbreviations: AMR, antibody-mediated rejection; TMR, T-cell mediated rejection.

표 2. 시행받은 혈장교환술 횟수에 따른 대상 환자군의 DSA specificity 와 탈감작 전 MFI 분포

	t-point 1g n = 13	t-point 2g n = 22	t-point 3g n = 19	<i>P</i>
DSA specificity, n (%)				
Class I	4 (30.8)	11 (50.0)	7 (36.8)	0.086
A	0 (0.0)	5 (45.5)	1 (14.3)	
B	4 (100.0)	6 (54.5)	4 (57.1)	
C	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (28.6)	
Class II	9 (69.2)	11 (50.0)	12 (63.2)	0.428
DR*	4 (44.4)	8 (72.7)	6 (50.0)	
sDR	4 (44.4)	1 (9.1)	3 (25.0)	
DQ	1 (11.1)	2 (18.2)	3 (25.0)	
DP	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Pretreatment MFI of DSA, mean ± SD	2,620 ± 2,371	3,994 ± 2,936	6,054 ± 4,723	0.018
Class I	1,954 ± 960	4,294 ± 3,893	8,584 ± 6,212	0.057
A		3,303 ± 1,879	3,254	
B	1,954 ± 960	5,119 ± 5,069	6,892 ± 5,670	
C			14,632	
Class II	2,917 ± 2,787	3,694 ± 1,655	4,579 ± 3,001	0.18
DR*	2,353 ± 1,236	3,452 ± 1,703	3,352 ± 2,135	
sDR	3,777 ± 4,160	2,472	4,481 ± 3,858	
DQ	1,730	5,276 ± 356	7,129 ± 2,995	

*secondary DR molecules are not included.

Abbreviations: sDR, secondary DR (DR51, 52, 53).

표 3. 전체 환자 중 DSA 특이성의 분포

HLA class	I			II		
Number of cases (%)	23 (50.0)			25 (56.8)		
Number of DSAs (%)	26 (39.4)			40 (60.6)		
HLA specificity	A	B	C	DR	sDR	DQ
Number of cases (%)	9 (20.0)	14 (31.1)	2 (4.4)	19 (42.2)	10 (22.2)	5 (11.1)
Number of DSAs (%)	9 (13.6)	15 (22.7)	2 (3.0)	24 (36.4)	10 (15.2)	6 (9.1)

표 4. HLA locus 에 따른 탈감작 전후 MFI reduction rate (% , cutoff = 500)

Class I / II	Class I		Class II		<i>P</i>
Total	61.9 (n = 370)		54.7 (n = 208)		0.001
t-point 1g	65.5 (n = 95)		50.4 (n = 83)		< 0.001
t-point 2g	53.7 (n = 181)		46.3 (n = 46)		0.07
t-point 3g	74.1 (n = 94)		64.2 (n = 79)		0.002

Class I	A	B	C	<i>P</i>
Total	69.8 (n = 78)	61.0 (n = 228)	55.6 (n = 64)	0.019
t-point 1g	69.9 (n = 27)	70.7 (n = 49)	46.0 (n = 19)	< 0.001
t-point 2g	64.5 (n = 32)	52.7 (n = 129)	43.0 (n = 20)	0.1
t-point 3g	78.6 (n = 19)	72.8 (n = 50)	73.1 (n = 25)	0.533

Class II	DR*	sDR	DQ	DP	<i>P</i>
Total	55.6 (n = 102)	56.8 (n = 23)	58.9 (n = 36)	48.6 (n = 47)	0.123
t-point 1g	54.0 (n = 42)	50.8 (n = 10)	53.7 (n = 13)	39.2 (n = 18)	0.013
t-point 2g	47.7 (n = 24)	59.7 (n = 6)	44.4 (n = 7)	35.2 (n = 9)	0.139
t-point 3g	62.8 (n = 36)	62.9 (n = 7)	69.4 (n = 16)	63.1 (n = 20)	0.782

표 5. HLA locus 에 따른 탈감작 전후 MFI reduction rate (% , cutoff = 1000)

Class I / II	Class I	Class II			P
Total	46.7 (n = 370)	42.5 (n = 208)			0.074
t-point 1g	42.8 (n = 95)	39.2 (n = 83)			0.343
t-point 2g	44.1 (n = 181)	39.4 (n = 46)			0.209
t-point 3g	55.6 (n = 94)	47.8 (n = 79)			0.066

Class I	A	B	C	P
Total	52.6 (n = 78)	46.3 (n = 228)	40.8 (n = 64)	0.102
t-point 1g	50.5 (n = 27)	48.1 (n = 49)	18.2 (n = 19)	< 0.001
t-point 2g	50.3 (n = 32)	43.6 (n = 129)	37.3 (n = 20)	0.432
t-point 3g	59.5 (n = 19)	51.5 (n = 50)	60.8 (n = 25)	0.342

Class II	DR*	sDR	DQ	DP	P
Total	42.5 (n = 102)	47.2 (n = 23)	46.9 (n = 36)	37.1 (n = 47)	0.159
t-point 1g	42.8 (n = 42)	38.5 (n = 10)	41.1 (n = 13)	29.9 (n = 18)	0.152
t-point 2g	37.8 (n = 24)	52.5 (n = 6)	40.3 (n = 7)	34.3 (n = 9)	0.229
t-point 3g	45.3 (n = 36)	55.0 (n = 7)	54.4 (n = 16)	44.7 (n = 20)	0.536

표 6. 시행횟수에 따른 탈감작 전후 MFI reduction rate (% , cutoff = 500)

	t-point 1g	t-point 2g	t-point 3g	<i>P</i>
Class I / II	58.4	52.2	69.6	< 0.001
Class I	65.5	53.7	74.1	0.06
A	69.9	64.5	78.6	0.118
B	70.7	52.7	82.8	0.733
C	46.0	43.0	73.1	0.002
Class II	50.4	46.3	64.2	< 0.001
DR*	54.0	47.7	62.8	0.081
sDR	50.8	59.7	62.9	0.225
DQ	53.7	44.4	69.4	0.044
DP	39.2	35.2	63.1	< 0.001

표 7. 시행횟수에 따른 탈감작 전후 MFI reduction rate (% , cutoff = 1000)

	t-point 1g	t-point 2g	t-point 3g	<i>P</i>
Class I / II	41.1	43.1	52.1	0.001
Class I	42.8	44.1	55.6	0.008
A	50.5	50.3	59.5	0.253
B	48.1	43.6	51.5	0.629
C	18.2	37.3	60.8	< 0.001
Class II	39.2	39.4	47.8	0.014
DR*	42.8	37.8	45.3	0.674
sDR	38.5	52.5	55.0	0.12
DQ	41.1	40.3	54.4	0.154
DP	29.9	34.3	44.7	0.004

표 8. 시술 전부터 t-point 1 의 감소율과, t-point1 에서 t-point 2 의 MFI 감소율 비교 (% , cutoff = 500)

	n	t-point 0 to 1	t-point 1 to 2	P
Class I	58	49.0	34.6	0.07
A	18	58.0	28.9	0.021
B	34	43.8	37.2	0.919
C	6	52.3	36.7	0.438
Class II	20	60.1	-13.3	< 0.001
DR	14	58.7	-16.1	< 0.001
sDR	2	54.0	-34.0	0.5
DQ	4	68.0	6.8	0.125
Pretreatment MFI				
1,000-3,000	30	59.2	-1.7	< 0.001
3,001-1,0000	30	60.3	45.6	0.318
10,001-15,000	11	29.1	24.5	0.7
> 15,000	7	20.1	21.6	0.297
Total	78	52.0	22.0	< 0.001

t-point 0: pretreatment.

t-point 1: after third plasma exchange.

t-point 2: after sixth plasma exchange.

표9. 이식 후 거부반응과 DSA의 시술 전 MFI의 관계

	n	Total	n	AR	n	No AR	P	n	AMR	n	No AMR	P	n	TMR	n	No TMR	P
Class I/II	48	4,388	32	4,322 ± 3,552	16	3,878 ± 3,583	0.566	24	3,892 ± 2,294	24	4,457 ± 4,477	0.66	22	4,459 ± 3,912	26	3,933 ± 3,231	0.615
Class I	18	5,233	10	5,841 ± 5,351	8	4,245 ± 4,249	0.697	5	3,945 ± 2,871	13	5,589 ± 5,422	0.703	8	6,123 ± 5,761	10	4,339 ± 4,069	0.573
A	5	3,295	4	2,861 ± 1,890	1	3,410	0.8	3	2,022 ± 1,067	2	4,394 ± 1,392	0.2	3	3,354 ± 1,976	2	2,396 ± 1,434	0.8
B	11	4,721	4	4,427 ± 2,993	7	4,364 ± 4,576	0.788	2	6,830 ± 1,720	9	3,844 ± 4,107	0.146	3	3,220 ± 2,168	8	4,825 ± 4,432	0.776
C	2	14,632	2	14,632	0			2	14,632				2	14,632	0		
Class II	30	3,807	22	3,632 ± 2,180	8	3,511 ± 3,025	0.696	19	3,878 ± 2,212	11	3,119 ± 2,680	0.216	14	3,509 ± 2,044	16	3,680 ± 2,701	0.919
DR	17	3,174	13	3,389 ± 1,975	4	2,299 ± 267	0.549	10	3,785 ± 2,021	7	2,201 ± 772	0.109	10	3,412 ± 2,101	7	2,735 ± 1,229	0.74
sDR	7	3,878	6	3,239 ± 2,841	1	1,634	0.857	6	3,239 ± 2,841	1	1,634	0.857	2	2,062 ± 1,425	5	3,389 ± 3,083	0.857
DQ	6	5,612	3	5,469 ± 643	3	5,754 ± 4,434	1.0	3	5,469 ± 643	3	5,754 ± 4,434	1.0	2	5,440 ± 907	4	5,697 ± 3,622	1.0

AR: all rejections, AMR: antibody mediated rejection, TMR: T-cell mediated rejection

표10. 이식 후 거부반응과 DSA의 시술 후 MFI의 관계 (cutoff = 500)

	n	Total	n	AR	n	No AR	P	n	AMR	n	No AMR	P	n	TMR	n	No TMR	P
Class I/II	48	1,424	32	1,337 ± 1,585	16	1,342 ± 1,546	0.459	24	1,154 ± 1,047	24	1,524 ± 1,1943	0.265	22	1,348 ± 1,724	26	1,331 ± 1,433	0.778
Class I	18	1,236	10	1,553 ± 2,430	8	855 ± 381	0.891	5	392 ± 303	13	1,422 ± 2,149	0.128	8	1,804 ± 2,689	10	794 ± 361	0.492
A	5	935	4	754	1	952	0.717	3	532	2	1,186	0.139	3	806	2	775	0.767
B	11	820	4	602 ± 127	7	841 ± 410	0.62	2	632 ± 186	9	781 ± 376	0.902	3	637 ± 132	8	798 ± 398	1.0
C	2	5,054	2	5,054	0			0		2	5054		2	5,054	0		
Class II	30	1,453	22	1,239 ± 1,070	8	1,830 ± 2,106	0.18	19	1,307 ± 1,131	11	1,551 ± 1,836	0.45	14	1,086 ± 840	16	1,668 ± 1,741	0.278
DR	17	1,218	13	1,291 ± 1,050	4	1,184 ± 348	0.459	10	1,436 ± 1,152	7	1,023 ± 402	1.0	10	1,223 ± 970	7	1,327 ± 924	0.556
sDR	7	1,264	6	784 ± 304	1	1,203	0.449	6	784 ± 304	1	1,203	0.449	2	698 ± 15	5	902 ± 372	0.845
DQ	6	2,411	3	1,922 ± 1,961	3	2,900 ± 3,549	1.0	3	1,922 ± 1,961	3	2,900 ± 3,549	1.0	2	792 ± 197	4	3,220 ± 2,967	0.533

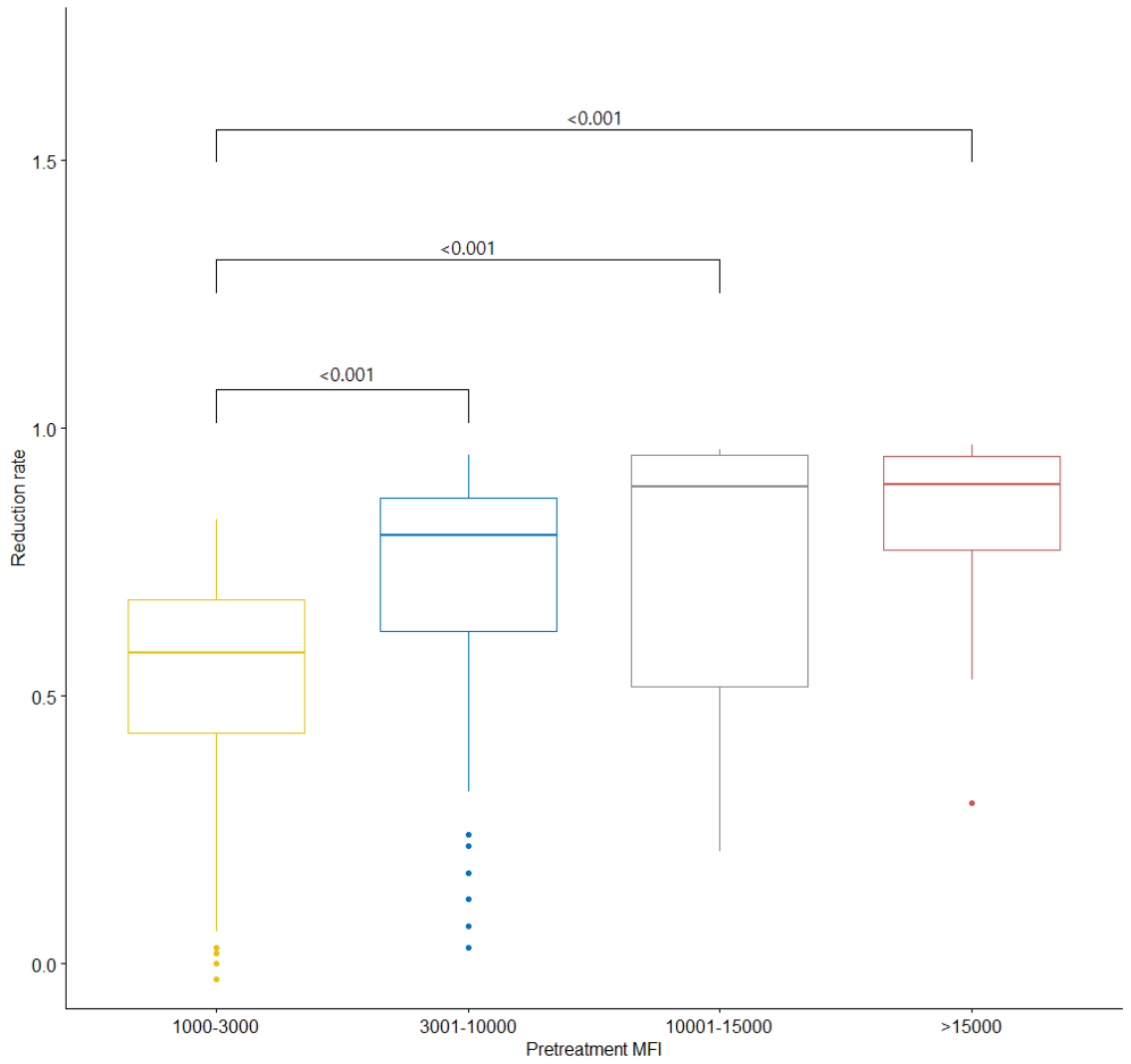


그림 1. 시술 전 MFI 와 reduction rate (% , cutoff = 500) 와의 관계.

참고문헌

1. Suthanthiran M, Strom TB. Renal transplantation. *N Engl J Med.* 1994;331(6):365-76.
2. Kim CD. Kidney Transplantation. *Korean J Med.* 2014;86(2):142-51.
3. Sethi S, Choi J, Toyoda M, Vo A, Peng A, Jordan SC. Desensitization: Overcoming the Immunologic Barriers to Transplantation. *J Immunol Res.* 2017;2017:6804678.
4. Becker LE, Süsal C, Morath C. Kidney transplantation across HLA and ABO antibody barriers. *Curr Opin Organ Transplant.* 2013;18(4):445-54.
5. Lucas DP, Leffell MS, Zachary AA. Differences in Immunogenicity of HLA Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response. *Transplantation.* 2015;99(1):77-85.
6. Park BG. Desensitization in HLA Incompatible Transplantation. *Korean J Blood Transfus.* 2019;30(1):1-14.
7. Yang J. ABO Incompatible Kidney Transplantation. *The Korean Journal of Nephrology.* 2011;30:355-58.
8. Jeong JC, Jambaldorj E, Kwon HY, et al. Desensitization Using Bortezomib and High-dose Immunoglobulin Increases Rate of Deceased Donor Kidney Transplantation. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(5):e2635.

9. Nguyen TC, Kiss JE, Goldman JR, Carcillo JA. The Role of Plasmapheresis in Critical Illness. *Critical Care Clinics*. 2012;28(3):453–68.
10. Choi GR, Choi SJ, Shin SA, Lee K, Kim S, Kim HO. A Choice and Precautions of Replacement Fluids for Therapeutic Plasma Exchange. *Korean J Blood Transfus*. 2015;26(1):9–17.
11. Lee S, Kang DH. ABO–Incompatible Kidney Transplantation. *Ewha Med J*. 2015;38(1):7–13.
12. Kennedy C, Magee CC. Therapeutic Plasmapheresis. In: Magee CC, Tucker JK, Singh AK, eds. *Core Concepts in Dialysis and Continuous Therapies*. Springer US; 2016:245–56.
13. Padmanabhan A, Connelly-Smith L, Aqui N, et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice – Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Eighth Special Issue. *J Clin Apher*. 2019;34(3):171–354.
14. Lee S, Kim S, Kim C, Park Y, Lee K, Kim HO. The Efficiency of Plasma Exchange for Renal Allograft Recipients with HLA Antibody before Transplantation. *Korean J Blood Transfus*. 2007;18(1):1–8.
15. Simmons SC, Adamski J, Berg M, et al. The apheresis management of patients undergoing transplantation: a concise review. *Transfusion*. 2019;59(5):1863–69.

16. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. Chapter 5, The ABO blood group. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2267/>
17. Kim H, Choe W, Shin S, et al. ABO-incompatible kidney transplantation can be successfully conducted by monitoring IGM isoagglutinin titers during desensitization. *Transfusion*. 2020;60(3):598–606.
18. Böhmig GA, Farkas AM, Eskandary F, Wekerle T. Strategies to overcome the ABO barrier in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol*. 2015;11(12):732–47.
19. Rees L, Kim JJ. HLA sensitisation: can it be prevented? *Pediatr Nephrol*. 2015;30(4):577–87.
20. Orandi BJ, Luo X, Massie AB, et al. Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA–Incompatible Live Donors. *N Engl J Med*. 2016;374(10):940–50.
21. Malvezzi P, Jouve T, Noble J, Rostaing L. Desensitization in the Setting of HLA–Incompatible Kidney Transplant. *Exp Clin Transplant*. 2018;16(4):367–75.
22. Tait BD. Detection of HLA Antibodies in Organ Transplant Recipients – Triumphs and Challenges of the Solid Phase Bead Assay. *Front Immunol*. 2016;7:570.
23. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, et al. Consensus Guidelines on the

- Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation*. 2013;95(1):19–47.
24. Schinstock CA, Gandhi MJ, Stegall MD. Interpreting Anti-HLA Antibody Testing Data: A Practical Guide for Physicians. *Transplantation*. 2016;100(8):1619–28.
25. Caro-Oleas JL, Gonzalez-Escribano MF, Gonzalez-Roncero FM, et al. Clinical relevance of HLA donor-specific antibodies detected by single antigen assay in kidney transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2012;27(3):1231–38.
26. Hirai T, Kohei N, Omoto K, Ishida H, Tanabe K. Significance of low-level DSA detected by solid-phase assay in association with acute and chronic antibody-mediated rejection: Significance of low-level DSA. *Transpl Int*. 2012;25(9):925–34.
27. Lee H, Oh EJ. Luminex-based Immunoassay for Organ Transplantation. *J Korean Soc Transplant*. 2015;29(2):54–60.
28. Jung K, Nam M, Hong YJ, et al. A Technical Note: Removal of Non-specific Reactions of LABScreen Single Antigen Class II Assay by Fetal Bovine Serum Treatment. *Ann Clin Lab Sci*. 2019;49(5):678–81.
29. Tambur AR, Wiebe C. HLA Diagnostics: Evaluating DSA Strength by Titration. *Transplantation*. 2018;102:S23–S30.
30. Pinelli DF, Zachary AA, Friedewald JJ, et al. Prognostic tools to

assess candidacy for and efficacy of antibody–removal therapy. *Am J Transplant*. 2019;19(2):381–90.

31. Health Insurance Review and Assessment Service. Health Insurance medical care costs 2020. Wonju; Health Insurance Review and Assessment Service; 2020.
32. Zachary AA, Montgomery RA, Leffell MS. Factors Associated With and Predictive of Persistence of Donor–Specific Antibody After Treatment With Plasmapheresis and Intravenous Immunoglobulin. *Hum Immunol*. 2005;66(4):364–70.
33. Yamada C, Ramon DS, Cascalho M, et al. Efficacy of plasmapheresis on donor–specific antibody reduction by HLA specificity in post–kidney transplant recipients: Plasmapheresis Effect on HLA Specificity. *Transfusion*. 2015;55(4):727–35.
34. Tambur AR. HLA–Epitope Matching or Eplet Risk Stratification: The Devil Is in the Details. *Front Immunol*. 2018;9:2010.
35. Reeves HM, Winters JL. The mechanisms of action of plasma exchange. *Br J Haematol*. 2014;164(3):342–51.
36. Zachary AA, Montgomery RA, Ratner LE, et al. Specific and durable elimination of antibody to donor HLA antigens in renal–transplant patients. *Transplantation*. 2003;76(10):1519–25.
37. Velidedeoglu E, Cavallé–Coll MW, Bala S, Belen OA, Wang Y, Albrecht R. Summary of 2017 FDA Public Workshop: Antibody–mediated Rejection in Kidney Transplantation. *Transplantation*.

2018;102(6):e257–e264.

38. Guardiola J, and Maffei A. Control of MHC Class II gene expression in autoimmune, infectious, and neoplastic diseases. *Crit Rev Immunol.* 1993;13:247–68.
39. Glimcher LH, Kara CJ. Sequences and Factors: A Guide to MHC Class–II Transcription. *Annu Rev Immunol.* 1992;10:13–49.
40. Le Bouteiller P. HLA class I chromosomal region, genes, and products: facts and questions. *Crit Rev Immunol.* 1994;14:89–129.
41. Sullivan HC, Liwski RS, Bray RA, Gebel HM. The Road to HLA Antibody Evaluation: Do Not Rely on MFI. *Am J Transplant.* 2017;17(6):1455–61.

Abstract

Factors affecting preoperative plasmapheresis induced anti- HLA antibody reduction in kidney transplantation patients

Kiwook Jung

Laboratory medicine, College of Medicine

The Graduate School

Seoul National University

Backgrounds: Desensitization using plasmapheresis is clinically important in transplantation. It widened transplantation compatibility by suppressing graft rejection by antibodies. Human leukocyte antigens (HLA) are the most clinically important antigens in kidney transplantation. HLA typing, crossmatch, and Luminex platform-based solid phase assay are standard pre-transplantation tests of HLA compatibility. There are, however, few methods to predict the effect of plasmapheresis on the elimination of anti-HLA antibodies. We tried to assess the effect of plasmapheresis in HLA-incompatible

transplantation using single antigen bead assay (SAB).

Methods: We included 46 kidney transplant recipients who received preoperative plasmapheresis at Seoul National University Hospital from January 2007 to February 2020. We compared SAB results of the participants before and after desensitization. We evaluated the antibody removal effect by MFI reduction rate.

Results: Patient with HLA Class I antibodies (61.9%) showed greater MFI reduction before and after desensitization than those with HLA class II antibodies (54.7%). MFI reduction of anti-HLA-C and anti-HLA-DP antibodies during the first three plasmaphereses was lower than those of other HLA. The effects of the first three procedures (52.0%) are higher than the subsequent three procedures (22.0%). Weak initial MFI group showed the least MFI reduction rate (51.5%).

Conclusion: We evaluated anti-HLA antibody removal effect of plasmapheresis in HLA incompatible transplantation. Plasmapheresis reduced DSA of mean MFI 4,388 to 1,424. We found MFI reduction is affected by HLA specificity, pre-treatment MFI, and the number of plasmapheresis performed. This results could be useful for predicting the number of pre-transplant plasmapheresis and coordinating treatment schedules.

Key words: kidney transplantation, human leukocyte antigen, desensitization, plasma exchange, single antigen bead assay, donor specific antibody, mean fluorescent intensity.

Student number: 2018-24816