

심장 이식된 백서에서의 거부반응 진단의 핵의학적 방법

정원상* · 김상헌* · 김 혁* · 김영학* · 강정호* · 최윤영** · 이철범***

Nuclear Medicine Methods of Rejection Diagnosis in Transplanted Rat Model

Won Sang Chung, M.D.*, Sang Heon Kim, M.D.*, Hyuck Kim, M.D.*, Young Hak Kim, M.D.*,
Jung Ho Kang, M.D.*, Yun Young Choi, M.D.**, Chul Beom Lee, M.D.***

Background: An accurate diagnosis of the severity of the rejection after a heart transplantation relies on endomyocardial biopsy, but because of its invasiveness and the need for repeated examination makes it is an inappropriate monitoring method. Therefore, we have tried to find a monitoring method that is continuous and less invasive. **Material and Method:** Heterotopic heart transplantation using Ono-Lindsey Method was done in 20 rats, and then ^{99m}Tc-Pyrophosphate (PYP) scan was done after a month. Uptake ratio of transplanted heart to vertebrae (H/V) was obtained to be compared with the biopsy result. **Result:** Rejection was defined when the H/V uptake ratio was higher than 0.09, and we compared the uptake ratio with the results of biopsy. The result was true positives was 3, true negatives 12, false negatives 2, and false positives 3. Therefore sensitivity was 60% and specificity was 80%, diagnostic value was 75%. **Conclusion:** ^{99m}Tc-Pyrophosphate (PYP) scan was a useful method for the evaluation of the heart transplantation rejection and it will be helpful for monitoring rejection as a non-invasive and simple method.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2003;36:379-383)

- Key words:** 1. Heart transplantation
2. Graft rejection
3. Rejection
4. Radionuclide imaging

서 론

일반적으로 이식수술 후의 거부반응은 흔히 일어날 수 있으며 이들 환자들에서의 임상적인 추적관찰에 의한 거부반응의 조기진단과 치료가 예후에 중요한 영향을 미치게 되므로, 거부반응의 정도를 조기에 발견, 인식하는 것

이 매우 중요하다. 경 정맥을 통한 이식된 심장의 조직검사로써 거부반응을 진단하는 방법이 정확하고 일반적으로 시행되고는 있으나, 이 방법은 매우 침습적인 방법으로, 자주 시행하기에는 부적합하므로 이를 대체할 수 있는 비침습적 방법이 연구되고 현재까지 약 40가지 이상이 제안되고 있는 실정이다. 이들 수많은 방법 중 거부반응

*한양대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Hanyang University

**한양대학교 의과대학 핵의학교실

Department of Nuclear Medicine, College of Medicine, Hanyang University

***한양대학교 의과대학 구리병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Hanyang University, Guri Hospital

†본 논문은 제34차 대한흉부외과학회 추계학술대회에서 발표되었음.

‡본 논문은 한양대학교 임상교수 연구비 및 동문 연구비 지원에 의한 것임.

논문접수일 : 2002년 12월 5일, 심사통과일 : 2003년 4월 11일

책임저자 : 정원상 (133-792) 서울특별시 성동구 행당동 산 17번지, 한양대학교 의과대학 흉부외과학교실

(Tel) 02-2290-8461, 8470, (Fax) 02-2290-8462, E-mail: drkkkkkkk@hanmail.net

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

이 국소적 분포(focal distribution)를 보일 경우에 위 음성 반응(false-negative result)을 보이기도 하며, 혹은 반대로 위 양성반응(false-positive result)을 보이는 경우도 있으므로, 거부반응의 조직 검사결과와 비침습적 방법을 비교 검토함으로써 모순점(discrepancy)을 최소화하고자 함이다. 동종이형이식(allograft function)의 거부반응의 진단(rejection diagnosis)하는 데 있어 많이 이용되고 있는 비침습적 방법으로는 심전도(Electrophysiology), 심초음파(Echocardiography), 면역학적인 방법(cytoimmunologic monitoring method; transferrin receptor, interleukin-2 receptor), 여러 가지 생화학적 지표들(meoperines, prolactin, urine lymerases & B2-microglobulin), 여러 방사선학적 방법들(anti-myosin-mono-clonal antibodies scintigraphy, thallium scintigraphy, gallium scintigraphy, Technetium scintigraphy, Indian-labeled cells) 등이 있으며 그 외에도 최근에 발전된 MRI (Magnetic resonance Imaging) 등이 있을 수 있다. 이와 같이 변형되고 덜 침습적인 방법으로 생검조건에만 의존하지 않고 거부반응을 조기진단 및 치료에 적용될 수 있다면, 환자의 거부반응에 따른 장기성적의 저하를 보다 개선할 수 있을 것으로 판단된다. 이에 저자들은 동종이형의 심장 이식된 백서에서 비침습적이고 간단히 시행할 수 있는 ^{99m}Tc -Pyrophosphate (PYP)스캔과 조직검사 결과를 비교하여 심장이식 후 거부반응을 진단하는 데 도움이 되는지를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

실험대상으로는 기증군 및 수혜군 각각 200~300 gm내외의 20마리씩의 실험용 쥐(rat)를 이용하였다. 수술방법은 6배울의 현미경하에 마취 후 기증군에서 심장을 적출한 후 4°C의 생리 식염수에 담아 두었다가 수혜군의 쥐를 흡입마취 후 정중 복부 절개 후 하공정맥 및 복부대동맥을 박리한 후 혈관 감자로 잡은 다음 하공정맥과 복부대동맥을 절개한 다음, 기증군의 폐동맥과 수혜군의 하공정맥을, 또한 기증군의 상행 대동맥과 수혜군의 복부대동맥 사이를 각각 9-0 Nylon으로 단측 문합술(end-to-side anastomosis)을 시행하는 방법인 Ono-Lindsey Method로써 시행하였다(Fig. 1)¹⁾. 이 수술에서 적출술에서 이식술까지의 심장 허혈시간은 약 30분에서 1시간 이내였고, 관류액 및 보관액은 4°C의 생리 식염수를 이용하였으며, 수술 성공률은 약 95% 이상이었다. 수술 후 처치로 면역억제제인 사이클로스포린(cyclosporine A, 10 mg/kg, 한미약품)을 경구 투여하



Fig. 1. Post operative state of heterotopic heart transplantation using Ono-Lindsey method.

여 생존하도록 하였다. 이들 중, 1개월 이상 장기 생존한 실험동물 중에서 이식된 심장의 박동이 있고 심전도 검사상 확인된 20마리에 흡입 마취 후에 ^{99m}Tc 1.5 mCi를 꼬리 정맥을 통해 주입하고 1시간 후에 심장이 이식된 복부의 5분 전면상을 얻었다. 복부영상에서 심장/척추의 섭취비를 구하여 0.09 이상인 경우를 거부반응으로 판정하였으며, 이를 조직검사 결과와 비교하였다.

결 과

이러한 핵의학학을 이용한 방법은 현재 심근 영상화 기술로 각광을 받고 있으며, 임상에서도 많이 이용되고 있는 방법으로 덜 침습적이고 조직검사의 표본검사를 할 때보다 전체적인 이식 심장의 상태를 볼 수 있는 장점이 있다. 이에 심장 이식된 20마리의 백서에서의 거부반응을 알기 위해서 ^{99m}Tc -PYP scan 결과는 Fig. 2A, B, C와 같았다. 20마리의 이식된 심장에 대한 ^{99m}Tc -PYP scan에서의 심장/척추의 섭취비와 조직 검사 결과를 분석한 결과 심장/척추 섭취비가 0.09 이상을 거부 반응이 있는 것으로 판정하였을 때(Table 1) 14마리에서는 음성, 6마리가 양성이었으며, 이식된 심장을 적출하여 조직 검사를 시행하여 이와 비교 검토하여 본 바, 양성의 6마리 중 3마리에서, 음성의 14마리 중 2마리에서 거부반응 양성 소견을 보여 진음성(True negative) 12마리, 진양성(True positive) 3마리, 가양성(False positive) 3마리, 가음성(False negative) 2마리로 예민도(Sensitivity)는 60%, 특이도(Specificity)는 80%, 진단율(Diagnostic value)은 75%의 결과를 얻었다. 가양성

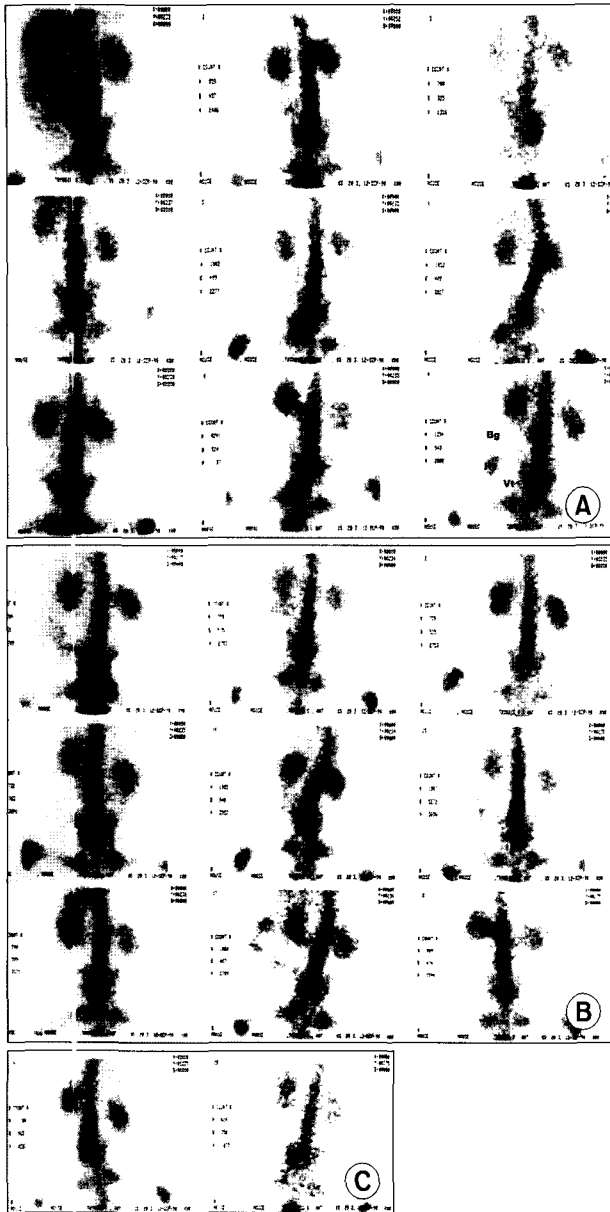


Fig. 2. (A) ^{99m}Tc -pyrophosphate scan. The comparison of ^{99m}Tc -pyrophosphate uptake on transplanted heart, background and vertebra. Ht, transplanted heart; Bg, background; Vt, vertebra, (B) ^{99m}Tc -pyrophosphate scan. The comparison of ^{99m}Tc -pyrophosphate uptake in transplanted heart, background and vertebra, (C) ^{99m}Tc -pyrophosphate scan. The comparison of ^{99m}Tc -pyrophosphate uptake in transplanted heart, background and vertebra.

을 보인 3예는 조직 검사 결과 이식 심장의 심한 염증소견과 농양 소견으로 확인되었다.

그러므로 Heart (이식심장)/background/vertebrae의 비가 높

Table 1. Data of uptake ratio in ^{99m}Tc -pyrophosphate scan

	No	Heart	Bg	Vertebra	h_b	h_b_v
	1	2899	791	3200	3.66	.115
	2	959	457	2406	2.10	.087
	3	700	325	1386	2.15	.155
	4	798	680	3344	1.17	.035
	5	1002	499	2277	2.01	.088
	6	1052	489	3027	2.15	.071
	7	948	616	3352	1.54	.046
	8	4241	524	3217	8.09	.259
	9	1354	543	2800	2.49	.089
	10	1204	469	2789	2.57	.092
	11	759	525	2753	1.45	.053
	12	759	525	2753	1.45	.053
	13	732	703	3891	1.04	.027
	14	1985	940	3953	2.11	.053
	15	1987	527	3696	3.77	.102
	16	590	599	3171	.98	.031
	17	1084	487	2799	2.23	.080
	18	909	474	3594	1.92	.053
	19	1106	965	4507	1.15	.025
	20	624	350	1873	1.78	.095

No, number; bg, background; h_b, uptake ratio between heart and background; h_b_v, uptake ratio between heart and background and vertebra.

Table 2. Sensitivity and specificity of ^{99m}Tc -pyrophosphate scan

	Rejection (+)	Rejection (-)	Total
Diagnosis (+)	3	3	6
Diagnosis (-)	2	12	14
Total	5	15	20

Sensitivity=3/5=0.6, Specificity=12/15=0.8.

을수록 경색이나 이식거부반응을 나타냄을 알 수 있었다.

고 찰

1980년대 초반 이후 전형의 심장이식술(Orthotopic Heart Transplantation)이 말기의 심장 부전 환자들에서 임상적 치료 방법으로 확립되었으며, 면역억제제의 발달과 생존율의 증가에도 불구하고 일반적으로 이식수술 후의 거부반응은 흔히 일어날 수 있으며, 이들 환자들에서의 임상적

인 추적관찰에 의한 거부반응의 조기진단 및 치료가 예후에 중대한 영향을 미치게 되므로, 거부반응의 정도를 조기에 발견 진단하는 것이 매우 중요하다. 현재 경정맥을 통한 이식심장의 우심실의 심장조직 검사로써 거부반응을 진단하는 방법²⁾이 가장 정확하고 일반적으로 시행되고는 있으나, 이 방법은 매우 침습적인 방법으로 자주 시행하기에는 부적절하므로써 이를 대체할 수 있는 비침습적 방법이 연구되어 있다. 동종이형이식(allograft)의 거부반응을 진단(rejection diagnosis)하는 데 있어 많이 이용되고 있는 비침습적 방법으로는 1) 심전도³⁾, 2) 심초음파^{4,5)}, 3) 면역학적인 방법(cytoimmunologic monitoring method; transferrin receptor, interleukin-2 receptor), 4) 여러 가지 생화학적인 지표들(meoperines, prolactin, urine lymerases & B2-microglobulin), 5) 여러 방사선학적 방법들(anti-myosin-monoclonal antibodies scintigraphy, thallium scintigraphy, gallium scintigraphy, Technetium scintigraphy, Indian-labeled cells) 등이 있으며⁶⁻¹²⁾ 그 외에도 6) 최근에 발전된 MRI (Magnetic resonance Imaging) 등이 있을 수 있다¹³⁾.

임상적인 여러 연구에서도 ^{99m}Tc의 침착의 증가⁶⁾나 Gallium 67의 증가⁷⁾, Thallium 201의 심근 침착의 감소⁸⁾ 등이 급성거부반응의 섬광조영 진단(scintigraphic detection)을 할 수 있음을 보여주었다. 이러한 고무적인 결과에도 불구하고 동물실험의 여러 연구에서는 만족스럽지 못한 것이 사실이었다. 같은 영상화 약제(imaging agent)라 할지라도 서로 다른 연구 결과로써 임상적으로 거부반응을 발견하고 약제의 값을 측정하는 것이 다르게 유도되었다. 25년 전에 Carr 등이 Caesium 131 (potassium analog)이 임상적으로나 실험적으로 심장 동종이식 거부반응(heart allograft rejection)의 진단과 발견에 매우 유용하다는 것을 증명 한 후 실험적인 심장이식에서는 Technetium 99m이 보다 효과적이라는 연구논문이 보고되었다¹⁰⁾. 이식심장의 거부반응을 조기 발견하는 데에 거부반응이 진행된 상태(advance stages)에 이르기 전에 이루어질 수 있는 유용한 방법이며, 이를 연속영상화(serial imaging)하게 됨으로써 보다 정확히 진단할 수 있을 것으로 판단된다. 더욱이 이들 약제들 (agents)의 시간에 따라 시행되는 연속영상화에 의한 추적관찰의 가능한 유용성은 아직 잘 알려지지 않았다. 심근 촬영 방법(Myocardial imaging techniques)은 거부반응의 진단에 있어 몇 가지 장점이 있는 바, 덜 침습적인 뿐만 아니라 조직검사 표본보다는 보다 전체적인 심장을 표현할 수 있다는 장점이 있다.

Technetium은 심근 괴사에 예민한 지표자이고 심근 경

색이나 심한 거부반응(myocardial infarction or severe rejection)시에 심근 괴사가 진행된 이식 거부반응의 중요한 모습으로 나타남으로써 중요한 지표자가 된다고 한다⁶⁾. Thallium 201 영상은 관상 동맥 혈류의 지표자으로써 관상 동맥 질환의 진단에 도움이 된다고 하는 바 심한 동종이형 이식 시의 거부반응 시에 관상 동맥 혈류를 방해함으로써 거부 반응을 일으킨 심장에서는 Thallium 201의 uptake가 감소되어 나타난다고 한다⁸⁾. 그러나 불행히도 이 방법으로는 급성 거부반응 시의 조기 진단에 대한 예측치(predictive value)가 없다. Gallium 67 영상 또한 acute & chronic inflammatory lesion을 발견하는 기본검사으로써 이용되고 있는 바⁹⁾ 이식된 신장이식의 급성 거부반응의 발견에 이용되어 왔으며, 이식심장의 급성 거부반응의 조기 진단에 예민한 한 방법이 될 수 있으나, 심한 방사선 노출이나 흉골에 축적되는 단점이 있다고 한다.

Bergland 등의 실험적 연구에 따르면 이들 약제들의 흡착(uptake)은 정도의 거부반응 또는 거부반응이 없는 경우와 중등도의 거부반응간에 심한 차이를 보여준다고 하였다¹¹⁾. 이는 조기 거부반응과 조금 진행된 거부반응(early & moderately advanced rejection) 사이의 차이가 가능할 수 있음을 시사한다고 보여진다. 더욱이 이들 약제들의 가능한 유용성은 아직 잘 알려지지 않았으며, 시간이 지남에 따라 연속된 영상의 추적 관찰이 되지 않음으로써 보여진 한계로 보여진다¹²⁾. 이식심장의 거부반응을 조기 발견하는 데는 거부반응이 진행된 상태에 이르기 전에 이루어질 수 있는 유용한 방법으로 이를 연속하여 촬영함으로써 보다 정확히 진단 발견할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

저자들은 이소성의 심장 이식된 백서(In Our Rat Heterotopic Heart Transplanted Model)에서 이식된 심장의 거부반응을 Technetium-99m (^{99m}Tc) pyrophosphate 스캔 상 섭취비의 증가로써 특징적으로 나타나게 됨을 알 수 있었다. 또한 이 검사법은 비침습적이고 간단하게 시행할 수 있는 방법으로 현재는 예민도와 특이도가 낮으나 연속적으로 검사함으로써 이를 극복할 수 있을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Ono K, Lindsey ES. Improved technique of heart transplant in Rats. J Thorac Cardiovasc Surg 1969;57:225-9.

2. Caves PK, Stison EB, Billingham ME, Shumway NE. *Serial transvenous biopsy of the transplanted human heart. Improved management of acute rejection episodes.* Lancet 1974;1:821-6.
3. Habert R, Weber M, Reichenspurner H, et al. *Frequency analysis of the surface electrocardiogram for recognition of acute rejection after orthotopic cardiac transplantation in man.* Circulation 1987;76:101-8.
4. Schietz A, Kemkes BM, Breuer M, et al. *Kinetics and dynamics of acute rejection after heterotopic heart transplantation.* J Heart Transplant 1992;11:147-53.
5. Schroeder JS, Popp RC, Stinson EB, et al. *Acute rejection following cardiac transplantation: Phonocardiographic and ultrasonic observations.* Circulation 1969;40:155-64.
6. McIllopp JH, McDougall R, Goris MC, Mason JW, Reitz BA. *Failure to diagnose cardiac transplant rejection with Tc-99m PYP images.* Clin Nucl Med 1981;6:373-7.
7. Silver MA, Grusk BB, Dillehay GL. *Gallium-67 scanning is not useful in detecting cardiac allograft rejection.* J Heart Transplant 1988;7:65.
8. Bergland J, Hwang K, Drescoll R, et al. *Corobary blood flow & Thallium 201 uptake in rejecting rat heart transplantation.* J Heart transplant 1989;8:147-53.
9. Menechetti JC, Carmargo EE, Soares J, et al. *Gallium 67 imaging in human heart transplantation: Correlation with endomyocardial biopsy.* J Heart Transplant 1987;6:171-6.
10. Novitzky D, Boniaszczuk J, Cooper D, et al. *Prediction of acute cardiac rejection using radionucleide technique.* S Afr Med J 1984;56:5-7.
11. Bergland J, Carr EA, Carol M, et al. *Uptake of myocardial imaging agents by rejected heart.* J Heart Transplant 1985; 4:536-40.
12. Yamamoto S, Bergland J, Michlek SM, et al. *Uptake of myocardial imaging agents by rejecting & non-rejecting cardiac transplants: A comparative clinical study of Thallium 201, Technetium 99m & Gallium 67.* J Nucl Med 1989;30: 1464-9.
13. Walpoth BH, Tschopp A, Lazeyras F, et al. *Magnetic resonance spectroscopy for assessing myocardial rejection in the transplanted rat heart.* J Heart Transplant 1993;12: 271-82.

=국문 초록=

배경: 장기 심장 이식 후에 나타나는 거부반응의 정도와 상태에 대한 정확한 진단은 내심근 조직검사(endomyocardial biopsy)로 이루어지고 있으나, 이 방법은 환자에 침습적이고 보다 자주 시행하여 감시하기에는 부적합하여, 덜 침습적이고 계속 지속적으로 감시할 수 있는 방법을 찾고자 하였다. 대상 및 방법: 250~300 gm 정도의 백서에서 이소성의 심장이식(heterotopic heart transplantation)을 Ono-Lindsey Method로 시행한 후 1개월 후에 ^{99m}Tc-pyrophosphate (PYP) 1.5 mCi를 꼬리 정맥을 통해 주입한 후 스캔(scan)을 시행하고 심장과 척추의 섭취비를 구하여 이식된 심장의 거부반응에 민감하게 반응할 수 있을 지에 대해 조직 검사와 비교관찰 하였다. 결과: 20마리의 이식된 심장에 ^{99m}Tc-PYP 스캔에서의 심장/척추 섭취비와 조직 검사 결과를 분석하여 심장/척추 섭취비가 0.09 이상을 거부반응이 있는 것으로 판정하였을 때 20마리에서 진양성 3예, 진음성 12예, 가양성 3예, 가음성 2예로 예민도(Sensitivity) 60%, 특이도(Specificity) 80%의 결과를 얻었다. 결론: 이식된 장기의 거부반응이 장기이식의 예후에 미치는 중요한 원인이 되므로, 이에 대한 조기 진단할 수 있는 방법으로 ^{99m}Tc-PYP스캔이 유용하였으며, 비침습적이고 간단한 검사방법이므로 거부반응 여부를 감시하는 데 도움이 될 것으로 판단된다.

중심 단어 : 1. 심장이식
2. 거부반응의 진단
3. 핵의학 검사