대한병리학회지 1998; 32: 104~114

심장이식 환자에서 심내막근 생검의 병리학적 소견

[1]부천 세종병원 해부병리과, [3]흉부외과, [4]내과, [2]서울대학교 의과대학 병리학교실
[5]흉부외과, [6]내과, [7]울산대학교 의과대학부속 해성병원 해부병리과

오미혜[1,2] · 서정욱[2] · 박국양[3] · 정윤섭[3] · 이영탁[3] · 홍석근[4] · 노준량[5] · 오병희[6] · 김성숙[7]

Pathologic Analysis of Endomyocardial Biopsies in Heart Transplantation

**Mee-Hye Oh[1,2], Jeong-Wook Seo[2], Kook Yang Park[3], Yoon Seop Jeong[3]
Young Tak Lee[3], Suk Keun Hong[4], Joon Ryang Rho[5]
Byung Hee Oh[6], and Sung Sook Kim[7]**

[1]Departments of Pathology, Thoracic and [3]Cardiovascular Surgery and [4]Internal Medicine,
Sejong General Hospital, Puchun 422-050, Korea
[2]Departments of Pathology, [5]Thoracic Cardiovascular Surgery and [6]Internal Medicine
College of Medicine, Seoul National University, Seoul 110-799, Korea
and [7]Department of Pathology, Haeseong Hospital, College of Medicine, Ulsan University

Endomyocardial biopsy (EMB) is a valuable diagnostic procedure for the surveillance of cardiac allograft rejection. Interpretation of individual cases is still problematic due to variations of findings for grading of rejection and other associated lesions. We reevaluated an experience on endomyocardial biopsies to develop better diagnostic criteria for rejection and other complications. Immunohistochemical studies against cytokines were performed to assess the usefulness of the method for the diagnosis or researches. A total of 249 EMBs taken from 33 cardiac allograft recipients were reviewed. There were 25 males and 8 females. Dilated cardiomyopathy was present (24 cases) and valvular heart disease (4 cases), restrictive cardiomyopathy (3 cases) were also common conditions. We applied the grading system of the International Society for Heart Transplantation (ISHT) for the assessment of acute cellular rejection. Grades of 0, 1A, 1B, 2, 3A and 3B were 39.0%, 28.1%, 11.2%, 11.5%, 12.4% and 1.6% respectively, but 3.2% were inadequate. Thirty five episodes of grade 3A or 3B were present in 17 patients. The response to therapy was assessed using a next follow up biopsy, which revealed resolving or resolved rejection in 85% of patients. The intensity of immunohistochemical stains for IL-6 and TNF-α was increased in proportion to the histologic grade but Quilty lesion and cardiomyopathy also showed a positive reaction. The other pathologic findings were ischemic change, previous biopsy site, interstitial edema and fibrosis, and Quilty lesion. These findings showed usefulness of endomyocardial biopsy not only for the evaluation of cardiac allograft rejection but also for the diagnosis of associated cardiac lesions. Immunohistochemical study of the cytokines was related to the degree of inflammation rather than degree of rejection. **(Korean J Pathol 1998; 32: 104~114)**

Key Words: Endomyocardial biopsy, Heart transplantation, Allograft rejection, Cytokine

접 수: 1997년 6월 3일, 게재승인: 1997년 11월 20일
주 소: 서울 종로구 연건동 28, 우편번호 110-799
서울대학교 의과대학 병리학교실, 서정욱
ISSN : 0379-1149
*이 논문은 1996년도 서울대학교 병원 지정연구비 지원에 의해 이루어진 것임.

서 론

심장이식은 치료적 시술이 동물실험부터 시작하여 인간의 질병에 적용되어 획기적인 도움을 준 대표적인 예라 할수있다. 심장이식연구는 1900년초부터 시작되

어 반세기 이상에 걸친 꾸준한 연구가 지속되어 오다가 1960년대 말 처음으로 인간에게 시술되었으며 1980년대 초 cyclosporine의 개발로 거부반응이 어느정도 해결되면서 말기 심부전 환자의 가장 좋은 치료 방법으로 자리를 잡았다.

최근 전세계적으로 매년 3000예 정도의 심장이식이 시행되고 있으며 생존율도 점차 향상되고 있다. 현재는 전세계적으로 수술후 초기의 사망률 (1달이내)이 10% 내외이고 1년 생존율은 85%정도이다.[1,2] 사망원인으로는 급성 거부반응, 감염, 이식부전, 수술에 따른 합병증, 이식후 림프구 증식성 질환 (post-transplantation lgmphoproliferative disorder; PTLD), 이식후 관상동맥 질환등이 있으나 급성 거부반응 및 감염이 가장 높은 빈도를 보이고 있다.[3,4] 따라서 급성 거부 반응의 신속하고 정확한 진단은 적절한 치료에 필수적이다. 급성 거부 반응의 진단 방법은 임상증상 및 이학적 검사상의 심기능 저하, 심전도, 심에코도 등이 이용되나 심내막근 생검에 의한 방법이 가장 안전하고 확실하게 진단할 수 있다고 알려져 있다. 심내막근 생검은 급성 거부반응뿐 아니라 심근 허혈에 의한 괴사, 감염 및 이식후 관상동맥 질환, 감염 등의 원인을 진단할 수 있어 심장이식 환자진료에서 중요한 부분을 차지하고 있다. 그러나 심장이식 거부반응의 판정에 있어 여러 가지 분류체계가 활용되고 있으며 진단기준에서도 다소의 혼란이 있는 것이 사실이다.

국내에서는 1992년 11월 서울중앙병원에서 처음 시행된 이래 1996년 9월말 현재 7개 기관에서 약 60예의 심장이식이 시행되었다.[5-9] 저자들은 부천세종병원과 서울대학병원 심장이식 환자들의 심내막 생검조직을 국제심장이식학회 (International Society for Heart Transplantation; ISHT) 등급체계에 근거하여[3] 이식거부반응 등급을 판정하고 이식 거부반응의 기전에 관여하는 cytokine중 IL-6와 TNF-α의 거부반응 등급에 따른 연관성을 파악하며 급성 거부반응 이외의 병리학적 소견을 고찰하고 임상소견과의 연관성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

1994년 3월부터 1996년 9월까지 세종병원과 서울대학병원에서 심장이식 수술을 받은 환자 33명에서 시행한 심내막근 생검 249예를 대상으로 하였다 (Table 2). 환자들은 남자가 25명, 여자가 8명이었으며 연령은 11~58세 (평균 37.2세)였다. 그들은 모두 New York 심장학회 기능등급 III-IV 정도의 심한 심부전을 가지고 있었다. 환자들의 수술후 면역억제는 모두 통상적인 "triple therapy" (cyclosporine, azathioprine 및 steroid)를 받았는데 cyclosporine의 경우 혈중 농도가 일정하게 유지되도록 하면서 투여하였다. 각 환자들의 임상 정보는 의무기록지에 근거하였다.

2. 심내막근 생검

심내막근 생검은 수술후 첫달은 매주 1회, 둘째달은 2주에 1회, 이후 4개월 동안은 매월 1회 그 이후에는 3~6개월에 1회 추적생검을 하는것을 원칙으로 하였다. 심내막근 생검소견상 grade 3A 이상의 급성거부반응으로 진단되면 경구 스테로이드 또는 정맥 메틸프레드니졸론으로 3일간 치료후 7~10일후 다시 추적생검을 하는것을 원칙으로 하였다. 생검은 기존의 통상적인 방법으로 7F Caves-Stanford bioptome 또는 King's bioptome을 써서 내경정맥을 통하여 우심실에 접근한후 우심실의 여러곳에서 최대직경 2 mm이상인 절편을 3개이상 채취되는 것을 판독에 적합한 것으로 보았다.

3. 병리조직학적 검색

심내막근 생검을 통해 얻은 조직은 10% 중성 포르발린 용액속에서 상온으로 고정한후 통상적인 조직 표본 제작방법에 따라 탈수, 투명, 침투의 과정을 거친후 파라핀 포매하고 4 μm의 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin염색을 시행하고 필요하면 Masson's trichrome염색을 병행하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 급성거부반응의 등급매기기는 1990년 ISHT의 등급체계[3] (Table

Table 1. Grading of cellular rejection by endomyocardial biopsy[3]

Grade	Pathologic findings
0	No evidence of rejection or myocyte damage
1A	Focal perivascular or interstitial infiltrates without necrosis
1B	Diffuse but sparse infiltrate without necrosis
2	Only one focus of inflammatory infiltrate with focal myocyte necrosis
3A	Multifocal inflammatory infiltrate with myocyte necrosis
3B	Diffuse inflammatory process with necrosis
4	Diffuse polymorphous inflammatory infiltrate with necrosis, edema, hemorrhage or vasculitis

Table 2. Clinicopathologic features of 33 cases of heart transplantation

No.	Sex	Age	Original Disease	Survival	Duration
1	M	19	DCMP	D	2 yrs
2	M	31	VHD	S	2 yrs 5 mos
3	F	12	DCMP	S	2 yrs 2 mos
4	M	29	DCMP	S	2 yrs a mos
5	M	28	DCMP	D	1 yr
6	M	52	IHD	D	1 mo
7	M	11	CHD	D	11 mos
8	M	42	DCMP	S	2 yrs
9	M	39	DCMP	S	1 yr 11 mos
10	F	23	DCMP	D	3 wks
11	M	39	DCMP	D	5 mos
12	M	53	DCMP	S	1 yr 9 mos
13	M	30	DCMP	D	1 yr 5 mos
14	M	43	DCMP	S	1 yr 3 mos
15	F	58	DCMP	D	3 wks
16	M	24	DCMP	S	8 mos
17	M	57	DCMP	S	6 mos
18	M	35	DCMP	D	1 wk
19	M	38	DCMP	S	2 yrs 6 mos
20	M	53	DCMP	S	2 yrs 6 mos
21	F	46	RCMP	S	2 yrs 4 mos
22	F	12	RCMP	D	1 mo
23	M	44	DCMP	S	2 yrs 1 mo
24	F	56	DCMP	D	1 mo
25	M	23	RCMP	S	1 yr 9 mos
26	F	47	DCMP	S	1 yr 6 mos
27	M	55	DCMP	S	1 yr 3 mos
28	M	36	DCMP	S	1 yr 3 mos
29	F	38	DCMP	S	1 yr
30	M	53	DCMP	D	6 mos
31	M	38	VHD	S	8 mos
32	M	33	VHD	S	5 mos
33	M	32	VHD	S	2 wks

DCMP: dilated cardiomyopathy, IHD: ischemic heart disease, RCMP: restrictive cardiomyopathy, VHD: valvular heart disease, S: survived, D: died

1)를 이용하여 2명의 병리전문의가 진단한 원 진단 결과를 근거로 하였으며, 각 병원별로 50개씩 무작위 추출하여 진단의 일치도를 살펴보았다.

4. 면역조직화학적 검사

파라핀 포매조직을 4 μm두께로 박절한후 통상의 방법대로 파라핀을 제거하였다. 증류수로 씻고 3% 과산화수소수로 15분 동안 처리한 후 PBS 용액으로 3회 세척한 후 정상 쥐혈청으로 30분간 반응시키고 여기에 1차 항체 IL-6 (1:50), TNF-α (1:50)을 적당한 농도로 희석하여 상온에서 두시간이상 반응시켰다. PBS 용액으로 1차 항체와의 반응을 중지시키고 연결항체 (biotinylated horse anti-mouse serum)로 처리하여 30분간 상온에서 반응시켰다. PBS용액으로 세척한후 표지항체 (avidin-biotinylated peroxidase complex)로 30분간 반응시켰다. 발색을 위하여 Tris 완충액 10 ml에 diaminovenzidin stock 8 mg과 34% 과산화수소수 7 μl를 혼합하여 사용하였으며 증류수로 10분간 세척한후 hematoxylin으로 3분 동안 대조염색하였다. 1차 항체와 이후의 판정은 Vector사의 Vectastatin ABC kit를 사용하였

Table 3. Relationship between IL-6, TNF-α and acute cellular rejection

	No.	IL- 6(M±SEM)	No.	TNF-α(M±SEM)
DCMP	4	0.0	4	0.5±0.3
grade 0	8	0.0	7	0.0
grade 1A	7	0.6±0.3	7	0.3±0.2
grade 1B	8	0.9±0.3	10	0.5±0.2
grade 2	5	1.2±0.4	5	1.2±0.4
grade 3A	6	1.0±0.3	6	1.5±0.4
grade 3B	3	2.7±0.3	3	2.3±0.3
quilty lesion	6	0.8±0.4	7	1.3±0.3

M: mean, SEM: standard error of measurement

다. 염색후 등급매기기는 염색의 정도와 범위에 따라 0~3으로하여 이들의 평균값을 얻었고, 표준오차 (SEM)을 계산하였다.

결 과

수술전 진단은 확장성 심근병증이 24명으로 가장 많았다 (Table 3). 확장성 심근병증의 심장은 윤곽이 둥글고 심첨부의 위치가 불확실하였으며 심실벽이 미만성으로 두꺼워져 있었다. 절단면상 좌우심실은 모두 확장되어 있었고 약간의 심실벽 비후가 관찰되었다 (Fig. 1A). 현미경 소견으로는 대부분의 심근세포들이 크고, 비후되어 있었으며 다형성이 심한 핵을 가지고 있었고 국소적으로 경미한 만성 염증 세포의 침윤을 관찰할 수 있었으며 광범위한 섬유화가 관찰되었다 (Fig. 1B). 그러나 관상동맥의 이상은 없었다.

수술후 실시한 추적 심내막근 생검은 모두 249회였고 1인당 최고 17번까지 실시되었으며 평균 7.4회였다. 판독에 부적합한 표본이 8예로 전체의 3.2%에 달했다 (Fig. 2~4). Grade 0는 염증세포 침윤 및 근세포의 손상이 없는 경우이며, grade 1A는 근세포의 손상은 없이 혈관 주위에 림프구의 침윤을 보이고, grade 1B는 grade 1A의 혈관 주위 염증 세포 침윤이 주변 간질내까지 침범된 경우이며, grade 2는 한곳에서 근섬유 괴사를 동반한 림프구의 침윤이 관찰된다. Grade 3A는 여러 곳에서 근섬유 괴사와 이를 둘러싼 림프구의 침윤이 관찰되며, grade 3B는 미만성의 림프구 침윤과 함께 괴사를 동반한다. 두 병원의 grade별 빈도수는 약간 다른 분포를 보였는데 세종병원의 경우 grade 0의 빈도가 훨씬 높았다 (Fig. 5). 두 병원을 합친 전체 생검중 grade 1A 이상의 급성거부반응이 144회로 전체의 58%에 해당되었다. Grade 3A 이상은 모두 17명의 환자에서 35회 있었으며 처음 발현시기가 1~48주 (평균 13주)로 한 환자에서 1회에서 최대 5회까지 관찰되었으며 평균 1.8회였다. 이들 중 그 다음 생검과 비교할 수 있는 경

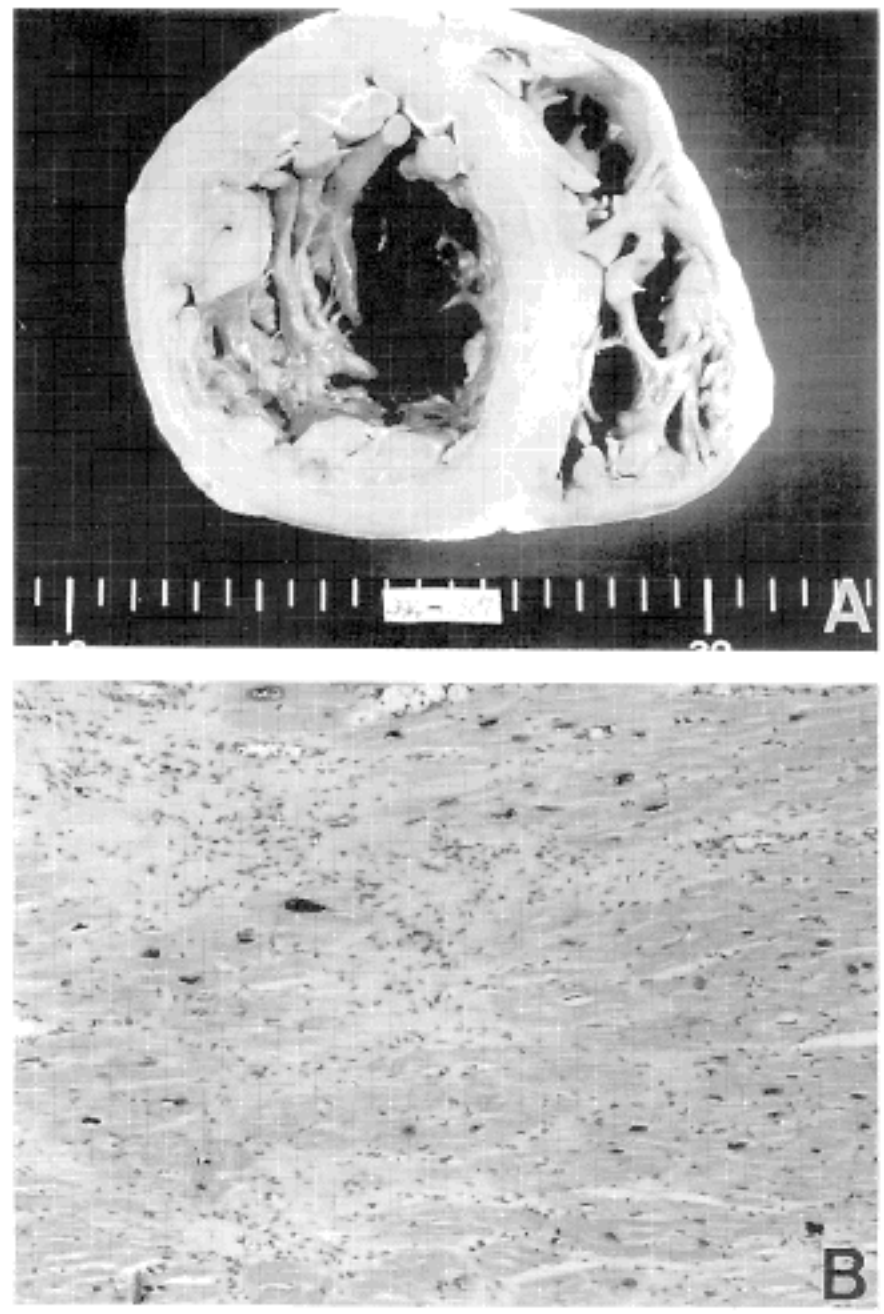

Fig. 1. A: Cross sectional features of dilated cardiomyopathy. Left ventricle is eccentrically dilated and myocardium is hypertrophied. **B:** Microscopic features of dilated cardiomyopathy. Foci of diffuse interstitial and replacement fibrosis are seen along with infiltration of inflammatory cells. Myocytes have hypertrophic sarcoplasm and large, pleomorphic nuclei.

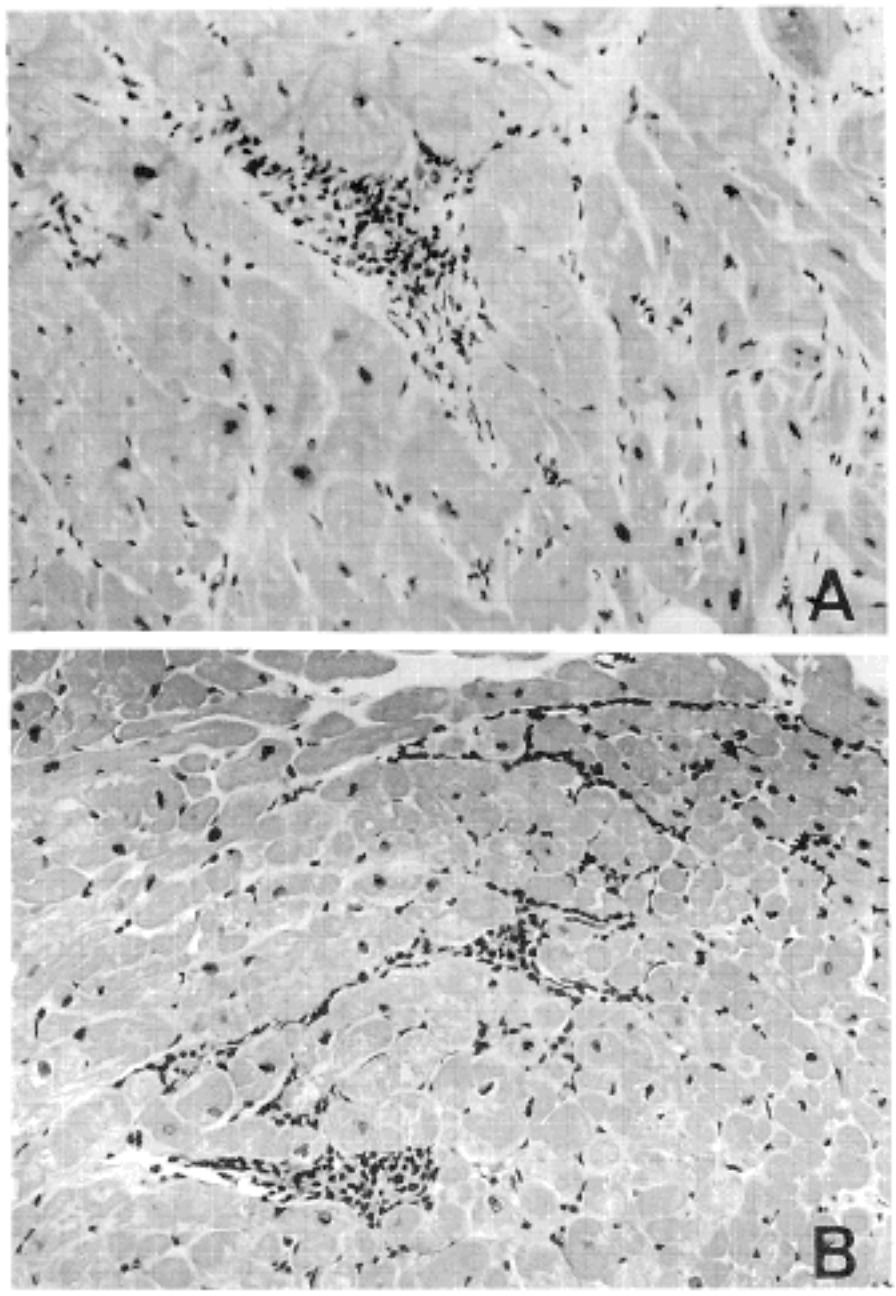

Fig. 2. A (Grade 1A): Focal perivascular infiltrates without myocyte necrosis are seen. **B** (Grade 1B): Diffuse but sparse interstitial infiltrates without myocyte necrosis are seen.

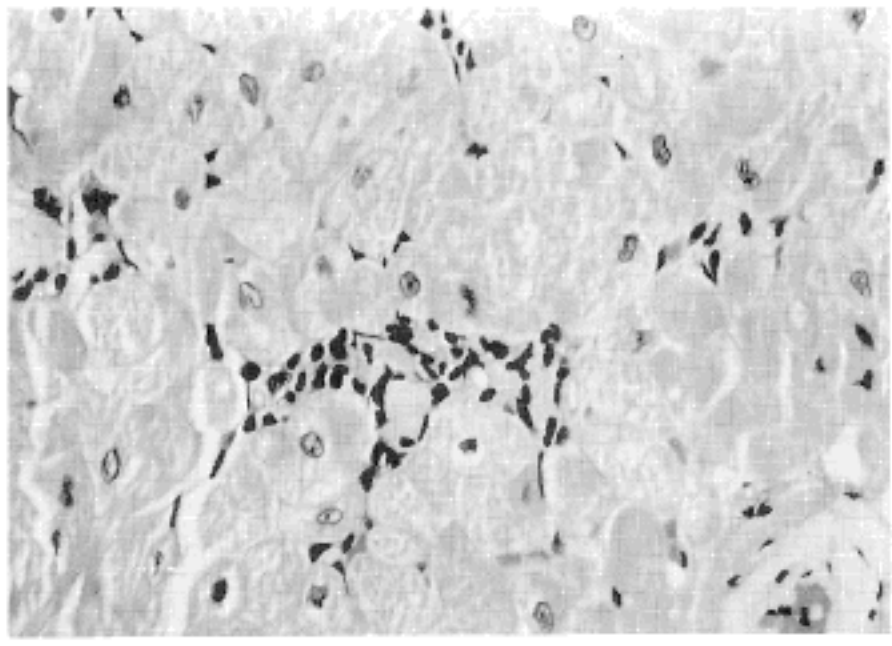

Fig. 3. (Grade 2) A single focus of a well defined infiltration with myocyte necrosis is seen.

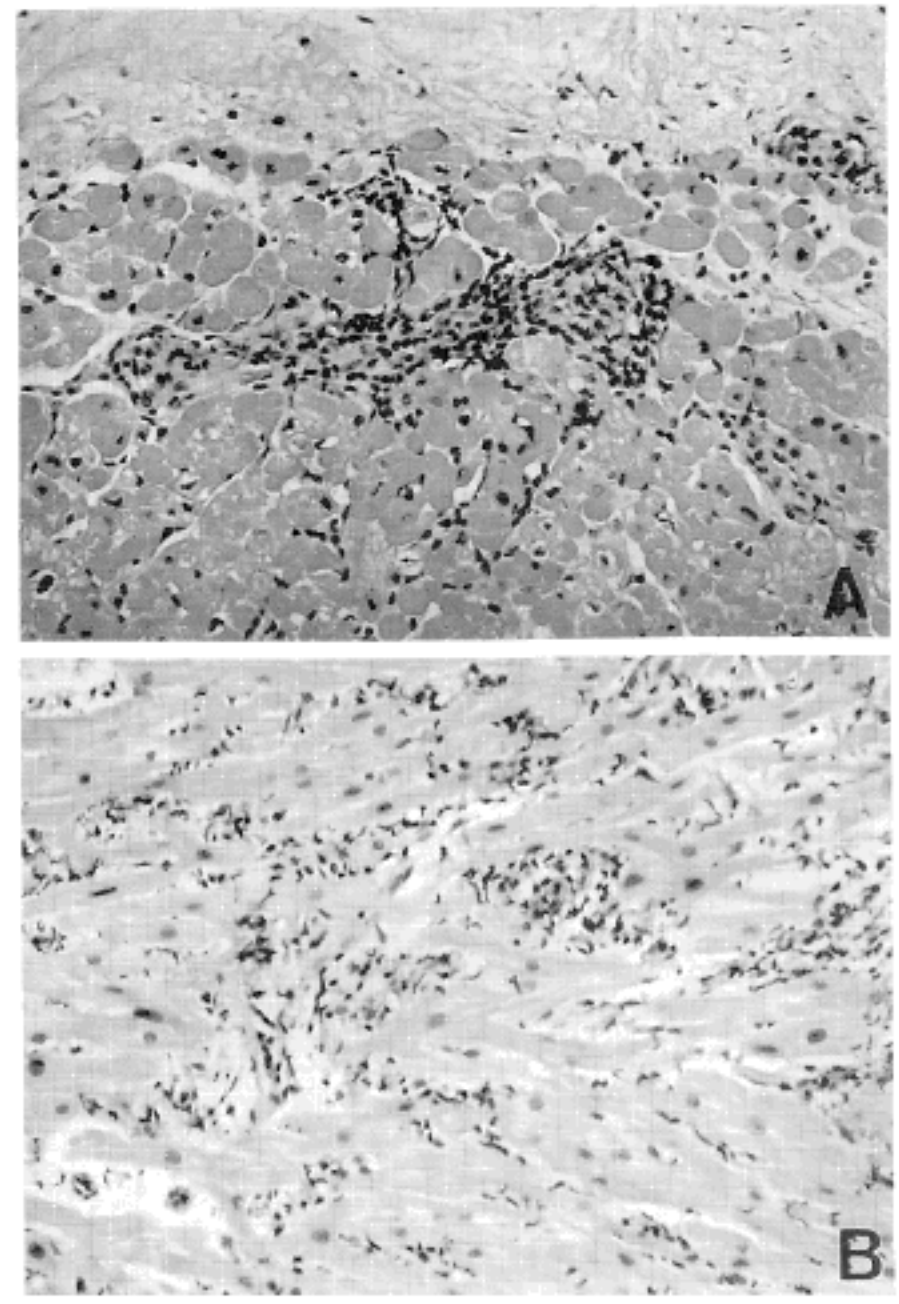

Fig. 4. A (Grade 3A): Multifocal areas of lymphocytes infiltrate with myocyte necroses are seen. **B** (Grade 3B): Diffuse lymphocytic infiltrates with more extensive myocyte necroses are seen.

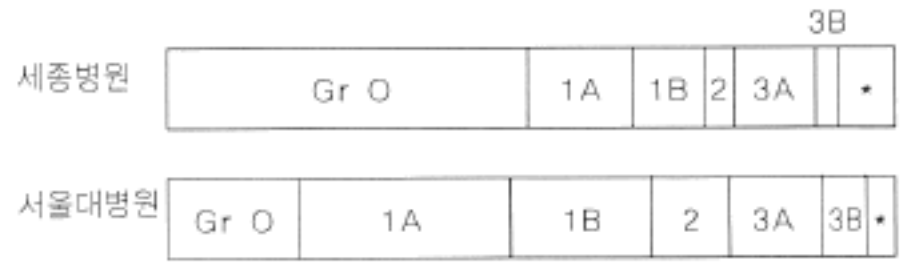

Fig. 5. Relative incidence of each grade of cellular rejection in two hospitals. (*: inadequate)

우는 모두 27회로 경구 또는 정맥 스테로이드를 투여하거나 cyclosporine의 양을 올려주는 등의 치료를 받은 경우가 20예인데 이중 17예 (85%)는 병변의 소실 또는 약화의 소견을 보였다. 병변이 지속되거나 악화되었던 3예의 경우 첫 번째 경우는 grade 2로 감소 되었다가 grade 0로 완전히 병변이 소실되었으며, 두 번째 경우는 grade 1A와 grade 1B, grade 0를 반복하고, 세 번째 경우는 grade 2로 감소하다가 다시 grade 3A로 악화되고 치료후 grade 1A가 되었다. 치료를 하지 않은 7예중

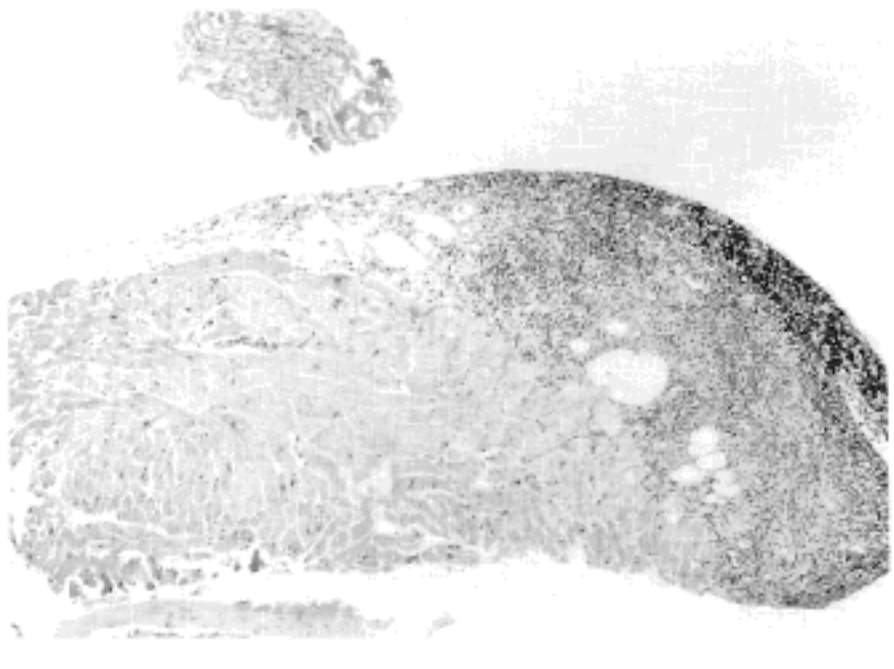

Fig. 6. Quilty effect. An well defined endocardial infiltration of mononuclear cell is seen but there is no evidence of acute rejection in the underlying myocardium.

병변이 감소 또는 소실되었던 예는 6예였는데 그중 3예는 그 다음 생검에서 다시 grade 3A이상으로 병변이 악화되었고 그후 한 예가 치료후 병변이 완전 소실되었고 나머지 두 예는 치료후 일시적 병변의 감소를 보이다가 다시 grade 3A 이상을 반복하는 소견을 보였다.

거부반응 이외의 소견으로는 심내막에 다양한 정도의 단핵구가 침윤되는 소위 "Quilty lesion"이 20회 (8.0%) 관찰되었으며 이들 침윤세포들은 심내막에 한정되어 있을 뿐 심근내로 확장되는 소견은 보이지 않았다 (Fig. 6). 그외에도 허혈성 변화 (4.0%), 이전 생검으로 인한 변화 (1.6%), 간질의 부종 (0.4%), 섬유화 (1.2%) 및 석회화 (1.2%)를 관찰할 수 있었다.

심장자체의 감염의 근거는 없었고 6명의 환자에서 수술후 4주~1년 사이에 Aspergillus, Cytomegalovirus, Herpes zoster, Candida를 각각 폐, 눈, 피부, 구강에서 관찰할 수 있었으며 대부분 2개월 이전에 발생하였고 이들은 itranidazole과 gancyclovir로 치료받고 호전되었다. 한 명에서는 사후 침생검에서 심낭막에 혈심낭과 함께 mucormycosis를 관찰할 수 있었다 (Fig. 7).

IL-6와 TNF-α에 대한 면역조직화학적 염색 결과는 Grade 0에서는 모두 음성반응을 나타내었고, 거부반응 등급에 비례하여 증가하는 염색정도를 보였으며, 확장성 심근병증 및 Quilty effect에서도 염색되는 소견을 보였다 (Table 3).

이식후 림프구 증식성 질환은 생검조직에서는 없었고 사망후 부검예중에서도 1명에서 발생하였는데 이 환자는 Table 2, 1번의 경우로 심장이식 후 2년만에 사망했고 cyclosporine은 불규칙적으로 복용하고 있었다. 심장의 부검 소견상 조직학적으로 많은 림프구의 침윤을 볼 수 있었고 면역조직화학염색상 B세포와 T세포의 다양한 증식을 보였다, 악성 림프종을 보이는 예는 없었다.

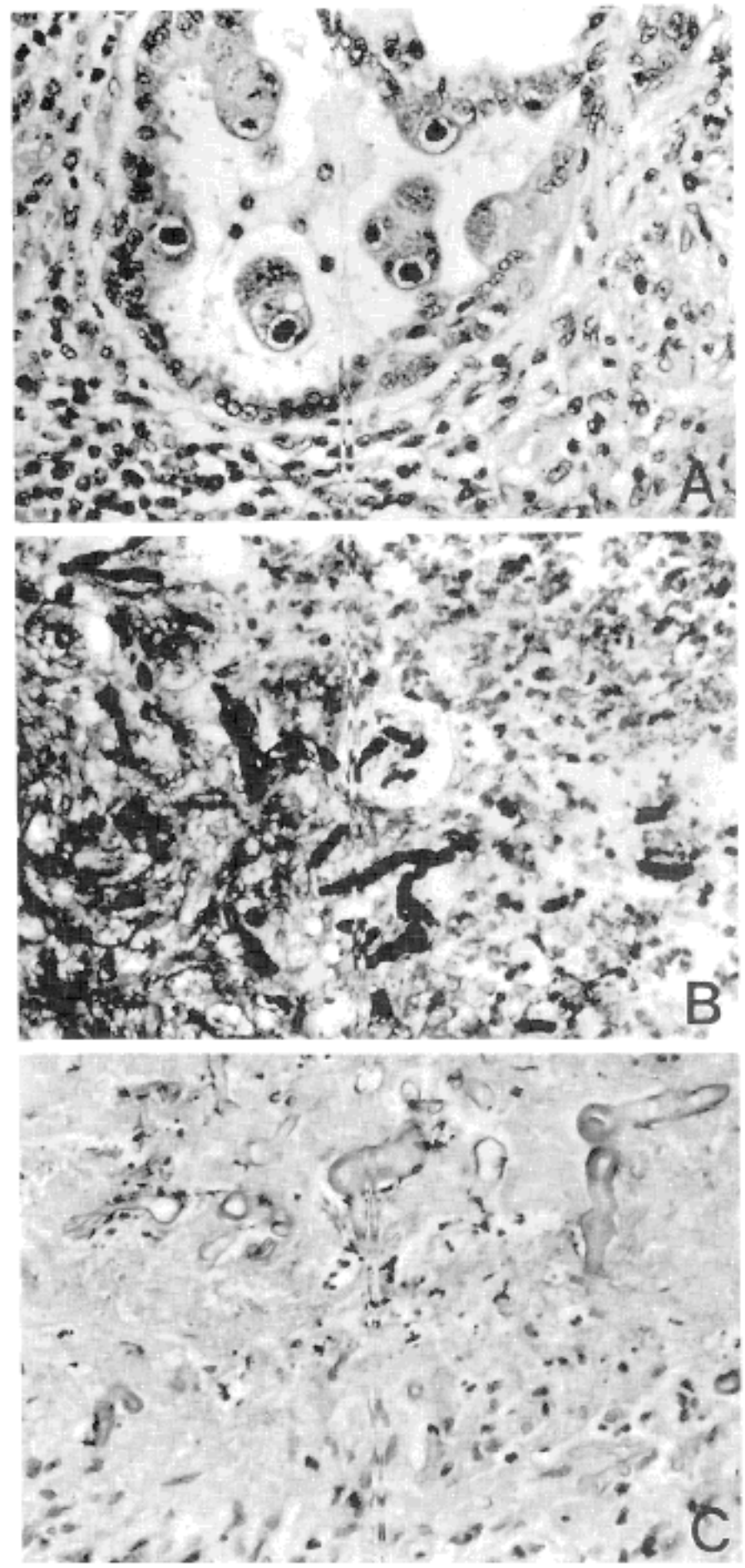

Fig. 7. Infection cases. (A) CMV infection in the pulmonary bronchiolar epithelium, (B) Invasive aspergillosis in the lung, (C) Mucormycosis in the pericardium.

ABO 부적합성 심장이식의 경우가 1 예 있었다. 수혜자는 table 2의 21번 환자로 수술전에는 수혜자와 공여자 모두 Rh(D) 양성, O형으로 알려져 있었으나 수술후에 공여자의 혈액형이 Rh(D) 양성, A형으로 밝혀졌다. 당시 활력징후는 안정된 상태였으며 거부반응의 증거는 없었으나 수술전 검사한 항A항체 및 항B항체의 역가가 각각 1:32로 나타나 바로 혈장교환 (plasmapheresis)을 시행하였으며 이후 항A항체와 항B항체의 역가

Table 4. Summary of expired cases

No.	Sex/Age	Cause of death	Survival Duration
1.	M/21	Post-transplant lymphoproliferative disease	24 mos
2.	M/29	Sudden death	12 mos
3.	M/52	Asthma attack	1 mos
4.	M/12	R/O rejection	11 mos
5.	F/23	Subarachnoid hemorrhage	3 wks
6.	M/39	R/O rejection	5 mos
7.	M/31	R/O rejection	16 mos
8.	F/58	Right ventricular failure	3 wk
9.	M/35	Primary pulmonary hypertension	1 wk
10.	F/12	Right ventricular failure	1 mo
11.	F/56	Hemopericardium, mucormycosis	1 mo
12.	M/53	Sudden death	6 mos

는 1:8로 유지되었다. 수술후 1주일째 시행한 생검에서 급성 세포성 거부반응의 증거는 없었고 면역형광검사에서 IgG, M, fibrinogen 면역복합체가 혈관에, IgG와 fibrinogen의 면역복합체가 근섬유초에 침착되어 체액성 거부반응을 의심케 하였다. 그이후 시행한 3번의 생검에서는 grade 1A의 소견을 보였으며 술후 6주째에 grade 3A로 나와 steroid pulse therapy를 하였으며 현재 정상적인 생활을 하고 있다.

현재까지 가장 오래 생존한 환자의 생존기간은 2년 6개월이며, 1명에서 혈관조영상 관상동맥의 좌전하행지의 중간부분이 완전히 막히는 소견을 보여 이식혈관질환이 강력히 의심되며 Table 2의 3번 환자이다.

사망한 환자는 모두 12명으로 Table 4에 요약하였다. 그러나 부검 및 사후 생검으로 원인이 확실히 밝혀진 경우는 2예 (case 1과 case 11)뿐이며 나머지 10예는 각각의 사인을 추정할 따름이다.

고 찰

심장이식의 역사는 1905년 Carrel과 Guthrie가 실험동물에서 처음으로 심장이식을 하였으며 1933년 Mayo clinic의 Mann은 이식된 심장의 생리학적 변화에 대하여 연구하였다. 그러나 이들은 모두 이소심장이식 (heterotopic heart transplantation)이었으며 동소심장이식 (orthotopic heart transplantation)으로는 1953년 Demikov가 처음으로 실험동물에서 시행하여 성공하였고 1958년에는 Shumway와 Lower가 사람에서의 심장이식 방법을 제시하였다. 그러나 심장이식의 임상적 적용은 1963년 Hardy가 침팬지의 심장을 68세 노인에게 이종이식수술을 시행한 것이 효시였으나 성공하지는 못했다. 사람에서는 1967년 Barnard에 의해 최초로 심장이식이 시행되어 성공하였다.[9,10] 그러나 심장이식을 받은 대부분의 환자가 거부반응으로 인하여 장기 생존이 불가능하였기 때문에 이후 1980년 초반까지 대부분의 심장센터에서는 심장이식을 거의 중단하기에 이르렀다.[11,12] 이에 대한 돌파구로 1976년 Borel은 진균의 대사산물인 cyclosporine이 면역억제 기능을 가진 것을 발견하여 보고하였고 1980년초 미국 Stanford group등은 cyclosporine을 심장이식에 사용하여 좋은 결과를 나타내어 1983년 이후에는 널리 이용되기에 이르렀다.

국내에서는 1992년 서울중앙병원에서 처음 시행하여 성공한 이래 7기관에서 약 60명이 심장이식 수술을 받았고 그 중 13명이 1년내에 사망하였으며 2명은 2년만에 사망하여 79%의 1년생존율을 보인다. 이는 외국의 경우 약 78~92%와 비슷한 수준이며,[13~16] 본 연구의 대상이었던 두기관의 성적은 대상환자 33명중 11명이 1년내에 사망하여 67%의 다소 낮은 1년 생존율을 보인다. 그러나 아직 국내에서의 심장이식이 초기단계임을 감안할때 앞으로 경험이 축적되고 심장이식에 관련된 각 분야의 협력이 향상될 때 발전의 가능성이 많다고 생각된다.

심장이식후 초기 사망에 기여하는 가장 중요한 원인으로는 급성 거부반응과 감염을 들수 있으며,[17] 그래서 급성 거부반응의 즉각적인 진단이 환자의 장기 생존에 중요하여 이에 대한 연구가 활발히 진행되어왔다. 즉 심내막근 생검이외에도 활성화된 림프모구의 발견,[18] 심전도 검사상 QRS voltage의 저하 또는 소실, 심방 및 심실의 부정맥,[19] 심초음파 검사상 좌심실벽의 비후, 등용성 이완 시간 증가, 좌심실 용량의 증가 및 이완기 유순도의 감소,[20] 방사선 동위원소 검사상 심근에서 Technetium-99m-pyrophosphate 섭취 증가,[21] antimyosin 항체의 유무,[22] NMR spectroscopy상 phosphocreatine치의 감소,[23] 소변내 thromboxane B2의 검출 및 putrescine치의 상승[24], 림프구 subset의 측정 (T4-T8 ratio)[25] 등이 제시되었다.

심내막 생검조직을 이용한 급성 거부 반응의 grading

Stanford		Mild		MOD	Severe	Resolving	Resolved
England	None	MIN	Mild	MOD	Severe	Resolving	
Texas		1	2	3	4 5 6 7 8	9 & 10	
Hannover	A-0	A-1		A-2	A-3	A-4	A-5a	A-5b
Cleveland clinic	None	MIN	Mild	A.M.	MOD	Severe	Resolving	
ISHT	0	1A		1B	2 & 3A	3B & 4	Resolving	Resolved

Fig. 8. A comparative diagram of classification systems of acute allograft rejection. (Modified from Kottke-Marchant and Ratliff[26]). MOD: Moderate, MIN: Minimal, A.M.: Accelerating Mild

system은 1974년 Stanford에서 처음 고안되어 1990년 ISHT에서 Working formulation으로 통일안 (Table 1)을 내놓기 까지 여러 기관에서 다양한 등급체계를 사용하여 왔다 (Fig. 8). 이중에서 Stanford system이 가장 간단하고, 가장 오랜 경험을 가지고 있으나 너무 단순하고 서술식 이라는 비판이 있으며 특히 moderate acute rejection은 ISHT 등급체계에서와 같이 세분하는 것이 치료방침에 도움이된다. England system은 모든면에서 Stanford system과 유사하나 아주 소수의 염증세포 침윤이 관찰될때인 acute minimal rejection을 따로 분류하였고, Hannover system과 Cleveland system은 mild rejection에서 각각 A-2와 accelerating mild rejection을 분류하였다. A-2 등급의 경우 근섬유에서 수축띠를 중요한 소견으로 인정하였는데 이는 정상 심근에서도 인공물로서 나타날 수 있으므로 논란의 여지가 많다. Texas system의 경우 moderate rejection에 해당하는 군을 grade 4~8까지 세분하고 있는데 이는 근섬유 변성에 근거하나 광학현미경만으로 근섬유 변성의 정도를 구분하기가 매우 어려워 전자현미경검색이 요구되기도 한다.[26]

본 연구 대상의 거부반응의 빈도는 grade 1A이상이 58%로 외국의 타 문헌상의 빈도인 약 30%보다는 매우 높은편이나, 반드시 치료가 필요한 grade 3A이상의 경우는 14%로 문헌상의 9~10%와 비교하여 보았을때는 약간 높았으며,[15,27] 또한 서울대학병원과 세종병원의 급성 거부반응 분포에서도 일부 차이를 보였다(Fig. 8). 이러한 결과는 상대적으로 mild rejection의 비율이 높음을 의미하며, 이는 grade 0와 grade 1A의 판독에 있어서 매우 경미한 림프구의 침윤 조차도 모두 grade 1A로 해석한 것이 이러한 차이에 일부 관여했을 것으로 생각되며, 치료가 필요한 grade 3A 이상이 높은 것에 대해서는 우리나라가 아직 심장이식 부분에 있어서는 초보 단계임으로 향후 발전의 여지가 많고 또한 이에 대한 추적분석이 필요할 것으로 사료된다.

Mild rejection은 치료는 하지 않지만 자주 반복될 경우 추적검사에서 치사율의 증가 및 좌심실 구혈률의 현저한 감소가 관찰되었다.[28-30] 그러므로 mild rejection의 진단 기준에 대하여 주의가 필요하다고 생각된다.

급성 거부반응의 판독시 고려해야 하며 또한 반드시 감별해야 할 것으로 다음과 같은 것들이 있다. 1) cy-

closporine으로 치료시 심근에 호산구의 침윤이 많이 보일수 있는데 이는 감염의 근거로 생각하지 않는다.[3] 2) 심내막에 연하여 점액양의 육아종성 조직과 심유소, 출혈의 소견이 보이며 때로 림프구의 침윤이 나타나기도 하는데 이는 이전의 생검 장소로 이때 림프구의 침윤은 거부 반응으로 판독하지 않는다.[3] 3) 심내막에 단핵구가 침윤되는 Quilty lesion은 심내막근 생검의 5~25% 정도에서 관찰되며, 심내막내에만 국한 되는 경우가 대부분이나 "spill over"되어 주변 심근세포내로 침윤되어 심근에 손상을 초래할수도 있으며 이때 급성거부반응과의 감별이 필요하다. 그래서 일단 심근내에 염증세포의 침윤이 관찰되면 심내막이 나올때까지 절편을 만들어 심내막과의 연결유무를 확인하는 것이 중요하다.[3] 이러한 현상을 여러 문헌에서 다양하게 설명하고 있는데 첫째, Quilty lesion은 cyclosporine 효과로 보며 실제로 azathioprine과 steriod로만 치료받은 군에서 그 빈도가 훨씬 적게 나타난다.[31] 둘째, 심내막내 림프구가 조기 림프종일수 있다.[32] 셋째, 과거 이식 거부 반응이 있었던 환자의 31%정도 관찰됨으로 이는 급성 거부 반응의 결과이며 거부반응의 정도와도 유관하다.[33] 넷째, graft vascular disease가 있는 환자의 40%에서 Quilty lesion이 관찰됨으로 만성거부반응의 혈관병증의 초기 상태일 수 있다[34]는 점이다. 이중에서 첫번재 가설이 가장 유력시 되고 있으며 장기적인 추적 조사가 필요할것으로 생각된다. 4) 공여자로부터 떼어내어 이식하기 까지의 허혈성 상태, 공여자 또는 수헤자에 투여된 catecholamine의 효과로 심근 괴사가 나타나는데 이때는 림프구의 침윤이 약하다.[3] 5) 심근의 감염시 다양한 종류의 염증 세포가 섞여서 침윤되는 것이 일반적이며, Cytomegalovirus의 경우는 대개의 경우 염증세포의 침윤없이 감염된 세포에서만 변화가 나타나나, 염증 세포의 침윤을 동반하기도 하며 이때 급성 거부반응과의 감별이 어려우므로 주의를 요한다. CMV가 심근에 손상을 입히는 기전은 MHC Class II를 증가시키고 혈관내피세포에의 직접적인 손상이다. Toxoplasma gondii의 경우는 낭상태일 때는 염증세포를 동반하지 않으나 심근염을 일으킬때는 중성구와 호산구를 포함한 심한 염증세포의 침윤을 동반한다.[35] 6) 이식후 림프구 증식성 질환 (PTLD)의 빈도는 1.8% 정도로 신장이식의 경우보다는 높고 간이나 심폐이식때 보다는 낮다. Epstein-Barr virus (EBV)가 중요한 역활을 하며 EBV에는 RNA가 많아 포르말린 고정 조직으로도 RNA in situ hybridization을 할 수 있다. PTLD의 발생기전은 EBV-driven B cell 증식에 대한 T cell의 부적절한 조절로 생각되고 있으며,[36] cyclosporine 치료를 중단하였을 경우 병변의 감소를 초래하여 면역억제제와 밀접한 관련이 있을것으로 추정되고 있다.[37] 또한 단일크론항체인 OK3로 치료하였을 경우 PTLD의 발생이 증가하였다는 보고도 있다.[38]

심장이식 환자의 거부반응을 일으키는 면역학적 기전은 T-세포와 자기항원 및 이식항원 사이의 상호작용에 의하여 발생하게 된다. 이식항원은 거부반응을 일으키는 정도에 따라서 주항원 (major antigen)과 부항원 (minor antigen)으로 구분되는데 주항원은 주조직 적합체 (major histocompatibility complex, MHC)의 유전자에 부착되어 있는 항원으로서 사람에서는 human lymphocyte antigen (HLA 항원)이 대표적이다. 이러한 항원이 우리 몸속에 유입되면 항원제시세포 (antigen presenting cell, APC)에 의하여 흡수되어 분해된후 작은 항원성 peptide 절편이 되어 APC의 세포 표면에 출현하게 되며 helper T-세포 ($CD4^+$)는 APC에 표현된 항원을 인지하여 면역반응이 일어나게 된다. 이때 다양한 cytokine들이 분비되어 세포면역 반응의 발현과 조절에 주역할을 한다. T 림프구에 관련된 cytokine으로는 interleukin-1 (IL-1), interleukin-2 (IL-2), interferon (INF)등이 있는데, APC로 부터 생산된는 IL-1은 helper T 림프구를 활성화시키고 활성화된 helper T 림프구로 부터 생산되는 IL-2는 활성화된 T 림프구의 증식을 유도한다. B 림프구 활성화에 관계된 cytokine은 IL-1과 IL-4가 있는데, IL-4는 활성화된 B 림프구가 항체를 생산하는 성숙한 형질세포로 분화하는 것을 촉진하고, IL-1은 IL-4를 포함한 B 림프구 분화 촉진인자들의 생산을 촉진한다. 현재 임상에서 거부반응을 억제하기 위하여 사용하는 부신피질 호르몬은 interferon, IL-1의 작용을 억제하며, cyclosporine은 IL-2의 생산 및 작용을 억제하고, azathioprine은 활성화된 림프구의 증식을 억제하는 작용을 한다.[39] 이러한 사실을 근거로 cytokine들이 거부반응에서 증가 할 것이라는 가정을 쉽게 할 수 있고 실제로 cytokine중 IL-6, soluble IL-2 receptors, tumor necrosis factor 등이 거부반응의 등급에 비례하여 증가한다는 보고가 있다.[40,41] 그러나 cytokine들이 급성 거부반응시 항상 증가하는 것은 아니며 급성 거부 반응과 관계없이 심장이식 후에는 항상 혈중 농도가 증가하며 또한 증가된 cytokine으로 거부반응, 감염 및 다른 염증성 병변과의 감별은 불가능하다는 보고도 있다.[42,43] 저자들이 시행한 IL-6와 TNF의 심내막생검조직을 이용한 면역조직화학염색에서 전반적으로 약한 염색성을 나타내었는데 이는 파라핀 포매 조직을 이용한 것이 원인으로 사료되며, IL-6의 경우 확장성 또는 제한성 심근염과 grade 0 group에서는 한 예도 표현되지 않은 것에 의미가 있다고 생각되며, 급성 거부 반응의 등급에 비례하여 염색 정도가 증가하는 소견을 보였다. TNF의 경우는 심근염의 경우 국소적 양성 반응을 보였으나 grade 0에서는 발현되지 않았고 거부 반응의 각 등급에 비례하여 발현되어 기본적인 cytokine과 거부 반응과의 상관성을 확인할 수 있었다. 그러나 Quilty lesion과 일부 심근염에서도 표현되므로 이러한 cytokine의 발현이 거부반응과 다른 염증성 병변을 확실히 나눌 수 있는 기준이 되기는 어려울 것으로 생각된다.

결 론

심장이식환자 33명에서 시행한 심내막 생검 249예의 병리조직학적 검사 및 면역조직화학적 염색을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다. 심장이식 수혜자의 기존 질환은 확장성 심근병증이 73%로 가장 많았으며, 남녀비는 약 3:1이었고 30대가 가장 많았다. 급성거부반응을 보인예는 전체의 58%로 외국의 경우보다는 높은 편이었고, grade 3A이상은 14%였고 치료후 85%에서 거부반응의 소실 또는 약화의 소견을 보였다. 거부반응 이외의 소견으로는 Quilty effect (8.0%), 허혈성 변화 (4.0%), 이전 생검으로 인한 변화 (1.6%), 간질의 부종 (0.4%), 섬유화 (1.2%) 및 석회화 (1.2%)가 있었다. 감염은 주로 2달이내에 발생하였으며 폐에 Aspergillus가 가장 많았고 그외에 CMV, Herpes zoster, Candida, Mucor등이 있었다. IL-6와 TNF-α의 면역조직화학 염색 정도는 거부반응 등급에 비례하여 증가하는 소견을 보여 거부반응의 정도를 잘 반영해 주었으나 Quilty effect와 확장성 심근병증에서도 비특이적으로 염색되어 거부반응과의 감별을 위해서는 이용할 수 없다.

참 고 문 헌

1. Calne RY, Rolles K, White DJG, et al. Cyclosporine-A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: Thirty two kidneys, two pancreases, two livers. Lancet 1979; 2: 1033-6.
2. Jamieson SW, Burton NA, Bieber CP, et al. Cardiac allograft survival in primates treated with cyclosporine A(letter). Lancet 1979; 1: 545.
3. The International Society for Heart Transplantation: Billingham ME, Cary NRB, Hammond ME, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: heart rejection study group. J Heart Transplant 1990; 9: 587-93.
4. Graham AR. Autopsy findings in cardiac transplant patients. A 10-year experience. Am J Clin Pathol 1992; 97: 369-75.
5. 송명근, 서동만, 이재원 등. 심장이식 1예 보고. 대한흉부외과학회지 1993; 26: 224-7.
6. 김성권, 윤형진. 이식편 거부반응 기전. Med Postgrad 1995; 23: 108-13.
7. 정재걸, 옥순애, 최기영 등. 심장이식 수술후 심내막근 생검의 병리학적 분석. 대한병리학회지 1995; 29: 431-41.
8. 조상호. 심장이식의 거부반응. Med Postgrad 1995; 23: 214-6.
9. 송명근. 장기이식의 현황과 발전방향. 심장이식. 대한의사협회지 1996; 39: 65-70.
10. Barnard CN. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. S Afr Med J 1967; 41: 1271-4.
11. Sabiston DC Jr. Textbook of Surgery. The biological basis of modern surgical practice. 13th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1986; 475-82.
12. Braunwald E. Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992; 520-34.
13. Fragomeni LS, Kay MP. The registry of the international society for heart transplantation: fifth official report-1988. J Heart Transplant 1988; 7: 249-53.
14. Winters GL, Costanzo-Nordin MR. Pathologic findings in 2300 consecutive endomyocardial biopsies. Mod Pathol 1991; 4: 441-8.
15. Gallo P, Grillo LR, Gioia CD, Coppola L, Francalanci P, d'Amati G. Working formulation nomenclature of heart transplant pathology: A retrospective evaluation of 1037 endomyocardial biopsies. Cardiovasc Pathol 1992; 1: 87-92.
16. Hausen B, Rohde R, Demertzis S, Albes JM, Wahlers T, Schäfers HJ. Strategies for routine biopsies in heart transplantation based on 8-year results with more than 13,000 biopsies. Eur J Cardiothorac Surg 1995; 9: 592-8.
17. Maria RD, Minoli L, Parolini M et al. Prognostic determinants of six-month morbidity and mortality in heart transplants recipients. J Heart Lung Transplant 1996; 15: 124-35.
18. Reichenspurner H, Ertel W, Hammer C, et al. Immunologic monitoring of heart transplant patients under cyclosporine immunosuppression. Transplant Proc 1984; 16: 1251-4.
19. Haberl 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.
20. Laurent F, Brun P, Aubry P, Loisance D, Bloch G, Cachera JP. Cardiac transplantation: noninvasive detection of rejection by echocardiography. Arch Mal Coeur Vaiss 1984; 77: 1434-42.
21. Mckillop JH, McDougall IR, Goris ML, Mason JW, Reitz BA. Failure to diagnose cardiac transplant rejection with Tc-99m-pyp images. Clin Nucl Med 1981; 6: 375-7.
22. Schuetz A, Fritsch S, Kemkes BM, et al. Antimyosin monoclonal antibodies for early detection of cardiac allograft rejection. J Heart Transplant 1990; 9: 654-61.
23. Fraser CD Jr, Chacko VP, Jacobus WE, et al. Evidence of 31P nuclear magnetic resonance studies of cardiac allografts that early rejection is characterized by reversible biochemical changes. Transplantation 1989; 48: 1068-70.
24. Carrier M, Russell DH, Davis TP, Emery RW, Copeland JG. Value of urinary polyamines as non-invasive markers of cardiac allograft rejection in the dog. Ann Thorac Surg

1988; 45: 158-63.
25. Womble JR, Larson DF, Copeland JG, Russel DH. Urinary polyamine levels are markers of altered T lymphocyte proliferation/loss and rejection in heart transplant patients. Transplant Proc 1984; 16: 1573-5.
26. Kottke-Marchant K, Ratliff NB. Endomyocardial biopsy. Pathologic findings in cardiac transplant recipients. Pathol Annu 1990; (pt 1): 211-44.
27. Winters GL. The pathology of heart allograft rejection. Arch Pathol Lab Med 1991; 115: 266-72.
28. Lloveras J-J, Escourrou G, Delisle MB, et al. Evolution of untreated mild rejection in heart transplant recipients. J Heart Lung Transplant 1992; 11: 751-6.
29. Yeoh TK, Frist WH, Easburn TE, Atkinson J. Clinical significance of mild rejection of the cardiac allograft. Circulation 1992; 86[suppl II]; II-267-71.
30. Anguita M, Lopez-Rubio F, Arizon JM, et al. Repetitive nontreated episodes of grade 1B or 2 acute rejection impair long-term cardiac graft function. J Heart Lung Transplant 1995; 14: 452-60.
31. Forbes RDC, Rowan RA, Billingham ME. Endocardial infiltrates in human heart transplants: A serial biopsy analysis composing four immunosuppression protocols. Hum Pathol 1990; 21: 850-5.
32. Kemnitz J. Endomyocardial lymphocytic infiltrates after heart transplantation. Hum Pathol 1991; 22: 301-2.
33. Stonin PGI, Al-Tikriti SA. The correlation of various features of rejection in myocardial biopsies after human heart transplantation. Pathol Res Pract 1989; 185: 836-42.
34. Kemnitz J, Cohnert TR, Schafers HJ, et al. A classification of cardiac allograft rejection. A modification of the classification of Billingham. Am J Surg Pathol 1987; 11: 503-15.
35. Billingham ME. The post-surgical heart: the pathology of cardiac transplantation. Am J Cardiovasc Pathol 1988; 1: 319-34.
36. Nalesnik MA, Makowka L, Starzl TE. The diagnosis and treatment of posttransplant lymphoproliferative disordors. Curr Probl Surg 1988; 25: 371-472.
37. Starzl TE, Porter KA. Iwatsuki S, et al. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporine steroid therapy. Lancet 1984; 1: 583.
38. Swinnen LJ, Costanzo-Nordin MR, Fisher SG, et al. Increased incidence of lymphoproliferative disorder after immunosuppression with the monoclonal antibody OK3 in cardiac transplantation. N Engl J Med 1990; 323: 1723-8.
39. Duqesnoy RJ, Cramer DV. Immunologic mechanisms of cardiac transplant rejection. Cardiovasc Clinic 1990; 20: 87-103.
40. Ruan XM, Qiao JH, Trento A, Czer LSC, Blanche C, Fishbein MC. Cytokine expression and endothelial cell and lymphocytic activation in human cardiac allograft rejection: An immunohistochemical study of endomyocardial biopsy samples. J Heart Lung Transplant 1992; 11: 1110-6.
41. Deng MC, Erren M, Kamerling L, et al. The relation of interleukin-6, tumor necrosis factor-α, IL-2, and IL-2 receptor levels to cellular rejection, allograft dysfunction, and clinical events early after cardiac transplantation. Transplantation 1995; 60: 1118-24.
42. Wijngaard PL, Tuijnman WB, G melig Meyling FH, et al. Endomyocardial biopsies after heart transplantation. The presence of markers indicative of activation. Transplantation 1993; 55; 103-10.
43. Azzawi M, Hasleton PS, Grant SCD, et al. Interleukin-10 in human heart transplantation: An in situ hybridization study. J Heart Lung Transplant 1995; 14: 519-28.