

이학석사 학위논문

만성B형 간염환자의 HBV DNA와 간염 활성도의 상호관계

지도교수 송 영 환

이 論文을 理學碩士學位論文으로 提出함



부경대학교 산업대학원

산업미생물학과

김 지 선

이 논문을 김지선의 이학석사
학위논문으로 인준함

2003년 6월

주 심 이학박사 이훈구



위 원 농학박사 이원재



위 원 이학박사 송영환



목 차

ABSTRACT	1
I. 서 론	2
II. 연구대상 및 방법	10
1. 연구대상	10
2. 연구방법	10
III. 연구결과	15
1. 연령별 분포	16
2. 검사결과	17
IV. 고 찰	25
V. 요 약	27
VI. 참고문헌	28

List of Tables

Table 1. 만성B형 간염환자의 연령별분포	16
Table 2. 만성B형 간염환자중 HBe항원및 HBV DNA 검출율	18
Table 3. HBe항원 양성 환자에서 HBV DNA, AST 및 ALT 검사결과	20
Table 4. HBe항원 음성 환자에서 HBV DNA, AST 및 ALT 검사결과	22
Table 5. Group 1, Group 2 통계적 비교분석	24

List of Figures

Figure 1. HBV particles의 구조	3
Figure 2. HBV의 유전체 구조	4

The correlation between HBV DNA and hepatic activity in patients with chronic hepatitis B

Ji-Sun Kim

*Department of Industrial Microbiology, Graduate School of Industry,
Pukyong National University*

ABSTRACT

The correlation between HBV DNA and injury of hepatic cell were compared in 300 patients of chronic hepatitis B with or without HBe Antigen.

Fifty five percents (166/300) of patients were in age of forties to fifties and male patients(206) were more abundant to female patients.

HBV DNA was detected in 73% of chronic HBV hepatitis patients, with HBeAg and 70% of patients, with HBeAg showed the elevated serum level of AST and ALT.

However only 25% of chronic HBV hepatitis patients without HBeAg showed positive results in HBV DNA test and 78% of patients without HBeAg showed the elevated serum level of AST and ALT.

These results suggest that liver cell injury and viral replication are progressed in chronic HBV hepatitis patients without HBeAg.

In conclusion, continuous following-up and monitoring of viral replication and liver function tests are essential treatment of chronic HBV hepatitis patients without HBeAg.

I. 서론

Hepatitis B 바이러스(HBV)는 Hepadnavirus의 일종으로 woodchuck 간염 바이러스(30), ground squirrel간염 바이러스(23), duck B형간염 바이러스(24), heron B형간염 바이러스(28) 등과 함께 주로 간에 감염하는 DNA 바이러스이다. Hepatitis B 바이러스는 바이러스 유전자와 virion의 구조에 있어 유사성을 가지며, 자신의 DNA polymerase를 가지고 있다. HBV가 감염되면 급성 혹은 지속성 간염을 일으키며 일부 바이러스는 만성간염과 간암의 발생과 관련이 있다고 알려져 있다(27).

HBV particle의 구조를 보면 외부와 경계를 이루는 envelope은 large HBs와 이들의 S domain과 동일한 small HBs로 구성된다(17). large HBs는 S domain표면에 pre S1과 pre S2를, middle HBs는 S domain표면에 pre S2를 각각 포함하며 pre S는 B형간염 바이러스가 간세포 표면에 부착시 간세포상의 수용체를 인식하는데 관여하는 물질로 알려져 있다(27). envelope 내부에는 180개의 HBc 단백질로 구성되는 대칭형의 capsid가 있고 그 내부에 3.2kb 정도의 부분적인 이중선과 원형을 이루는 DNA 상태의 바이러스 genome이 존재하여 여기에 primase 단백질과(pr) DNA polymerase 단백질이(pol) 연결되어 있다 (Fig.1).

HBV의 genome은 core (C), polymerase (P), surface antigen (S), 그리고 X 유전자 등 네 개의 유전자를 갖는다 (Fig.2). S 유전자는 envelope을 구성하는 small HBs, middle HBs와 large HBs단백질에 대한 유전정보로 구성되고, P 유전자는 terminal protein, RNase H, reverse transcriptase에 대한 유전정보를 가지며, X 유전자는 B형간염 바이러스의 전사과정에서 조절인자의 역할을 하며 또한 일부 host gene에 대한 전사조절인자로 작용할 것으로 생각되어지는 X- 단백질에 대한 유전정보를 가진다.

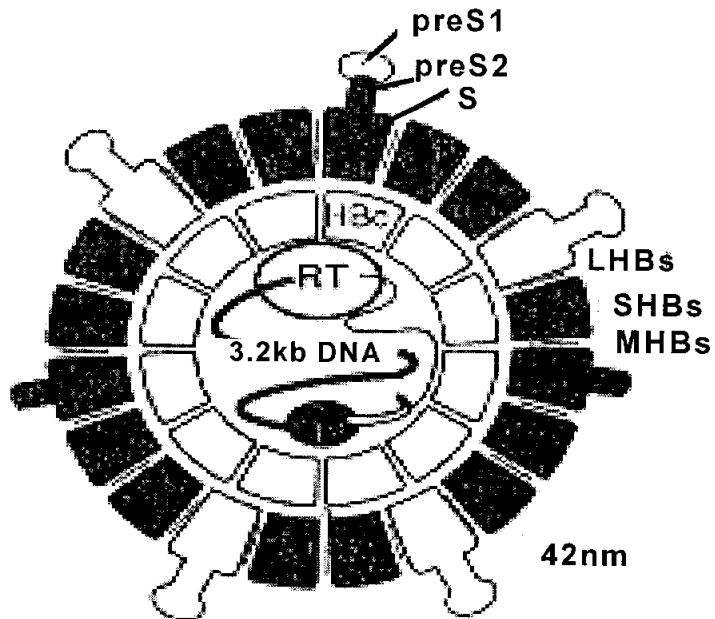


Fig.1 HBV particles의 구조.

Abbreviation : LHBs (Large Hepatitis B surface antigen)
 SHBs (Small Hepatitis B surface antigen)
 MHBs (Middle Hepatitis B surface antigen)

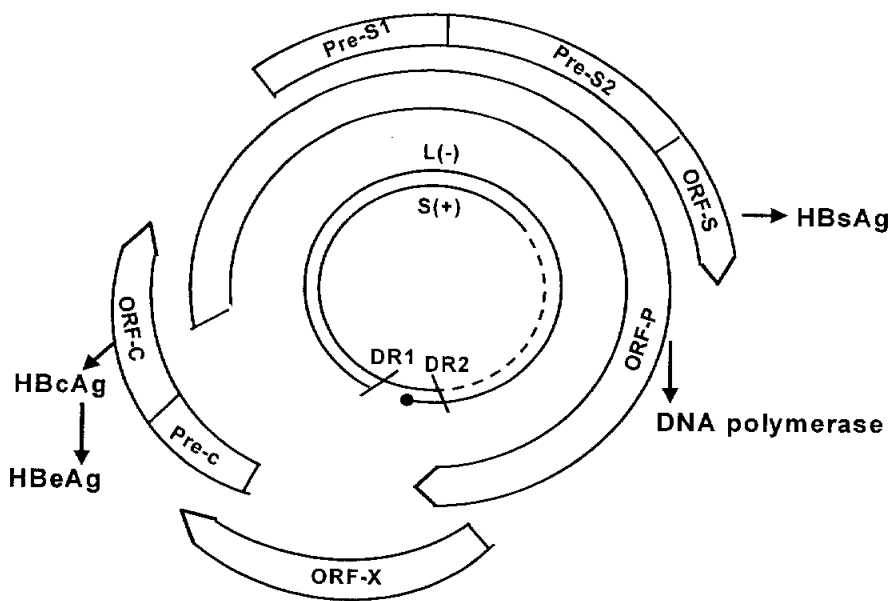


Fig.2 HBV의 유전체 구조.

HBc항원과 HBe항원의 형성에 필요한 유전정보를 가지고 있는 C 유전자는 translation되면 우선 precore 단백질이 생성되며, core단백질보다 N-terminal region에 29개의 oligopeptide를 더 가진다. 이 peptide 중 일부가 제거된 후 결국 10개의 extra amino acid로 구성된 precore molecule을 가지는 HBe항원이 된다(31).

만성B형 간염의 자연경과는 바이러스의 증식에 따라 증식기(replicative phase)와 비증식기(non-replicative phase)로 구분되며 증식기는 숙주의 면역반응에 따라 면역관용기(immune tolerance)와 면역제거기(immune clearance)로 구분할 수 있다. B형 간염 바이러스 감염이 만성적으로 지속되는 기전 중 가장 중요한 것은 HBc항원 및 HBe항원에 대한 면역관용인 것으로 알려져 있다. 특히 모자간의 수직감염에서는 태반을 통과한 HBe 항원에 태아가 이미 노출되어 면역관용이 야기되어 수직감염을 받은 신생아의 대부분이 만성 보유자가 된다. 이 시기에는 B형간염 바이러스의 증식이 왕성하여 혈청내 HBe항원과 HBV DNA의 양이 많고, 간세포의 핵내에 HBc항원이 다량 존재하나 조직학적인 염증소견과 aminotransferase 상승이 거의 없어 단기적 예후는 좋은 시기를 말한다(12). 관용기가 20-30년 지난후 바이러스의 증식이 점차 감소하고 동시에 이전의 면역 관용기가 점차 소실되면서 간손상과 Alanine aminotransferase(ALT)의 증가가 반복되면서 환자는 급성 악화의 소견을 자주 보이게 된다(12,20). 이과정에 thymus로부터 HBV antigen specific thymocyte가 출현하고 바이러스에 감염된 간세포의 표면에 histocompatibility antigen class I이 발현되면서 cytotoxic T cell이 간세포를 파괴한다(26). 이러한 면역병리기전에 관여하는 주된 바이러스의 항원은 HBc항원/HBe항원으로 생각되고 있다(32).

이 시기에서는 이전에 간세포 핵내에서만 관찰되던 HBc항원이 세포질내에서도 자주 관찰되며(19), 조직학적 소견으로는 만성지속성 간염, 만성활동성 간염, 간경화등 다양한 소견을 보이게 된다(19). 대부분의 환자는 급성 악화후 회복되나 지속적인 간세포 괴사로 간부전의 경과를 취하기도 하고(11) 또한 만성활동성 간염환자에게서는 급성악화가 반복되어 약 40%에서는 간경화로 이행이 불가피하다(10).

마지막으로 B형간염 바이러스를 생산하는 간세포가 파괴되면 B형간염 바이러스의 활발한 증식은 중단되지만 간세포 chromosomal DNA에 바이러스 유전체의 일부가 삽입되어 HBs항원의 형성은 지속되는데 이 시기를 integrated phase 라고하며(10) 간세포내에서 바이러스의 활발한 증식이 없거나 혹은 미약하므로 간세포는 면역세포로부터의 공격을 회피할 수 있고 그 결과 숙주는 다시 tolerance를 얻게 된다. HBs항원은 존재하나 HBe항원은 관찰되지 않으며 증상은 대개 경미하지만 조직학적으로 간경화의 변화가 있는 경우 20-30년후 그에따른 임상합병증이 발생하고(11) 일부환자에서는 간암이 발생하기도 한다(12).

HBe항원은 전통적으로 바이러스의 증식 및 전염성의 표지자로 알려져 왔다. 어미 woodchuck이 HBV 보균자이면서 HBe항원이 음성인 경우 새끼woodchuck에 전염은 시켰으나 지속감염은 발생하지 않았고, 반면 어미 woodchuck이 HBe항원 양성인 경우 지속감염을 발생시켰는데, 이러한 사실로 HBe단백질이 HBV를 생산하는 간세포의 면역학적 제거를 억제하는 기능을 가진다는 가정을 해볼 수 있으며, Milich등(25)은 HBe단백질이 태반을 통과하여 태아의 T cell에서 HBc단백질에 대한 tolerance를 부여하여 결국 HBc/HBe epitope에 대한 cytotoxic T cell의 반응을 억제시킨다고 하였다(25). 급성간염의 경우는 HBs항원이 검출되는 시기에 나타나 일

반적으로 alanine aminotransferase (ALT)가 최고치로 증가했을 때 강양성을 보이며 이후 반응성이 저하되다가 HBs항원이 소실되기 전에 음전되나, 12주이상 지속될 경우 만성으로의 진행을 의미하고(15) seroconversion시 간염회복을 의미한다. 만성간염에서 HBe항원은 바이러스의 증식이 활발한 증식기(replicative phase)에서 강양성을 보이며 ALT 정상화 및 조직학적 간염의 관해를 보이는 비증식기(nonreplicative phase)에서는 음성화됨으로써 바이러스의 증식을 검출하는 손쉬운 표지자로 활용되어 왔다. 또한 수직감염의 연구에서 어머니가 HBe항원 양성인 경우 주산기 감염이 훨씬 증가하는등 감염성의 지표로 인식되고 있다.

그러나 최근에 mutant HBV의 출현으로 HBe항원과 anti HBe의 분석에 세밀한 주의가 필요하다. 바이러스증식과 감염이 심하지만 HBe항원은 음성인 경우가 있어서 anti HBe양성이지만 정량적인 hybridization법으로 검사시 HBV DNA은 다량 존재하는 경우이다. Carman(8) 등은 HBV DNA의 precore region의 1896위치에 nonsense mutation에 의해 stop codon형성되어 HBe항원의 형성이 중단되지만 HBc항원의 형성은 계속되며 완전한 virion의 형성을 지속할 수 있게되고 이런 환자의 일부에서는 적격성 간염을 일으킨다고 보고하였다. 결국 HBe항원이 음성인 환자에서도 지속적인 간세포괴사와 바이러스의 증식이 있을 수 있으므로 바이러스 증식의 표지자로서 HBV DNA의 역할이 중요하게 되었다.

전세계적으로는 3억 5천만명이 B형 간염 바이러스에 만성적으로 감염되어 있는 것으로 알려져 있으며, 우리나라에서 B형 간염 백신 프로그램이 실시된 지 20년이 지난 현재 국내 B형 간염보유자는 전 인구의 7%를 차지하며, 30대 남자에서 유병율이 가장 높은 것으로 보고되고 있다. 수직감염의 경우 면역 관용기를 지난 이 시기는 면역 제거기에 해당하며 HBe

항원이 소실되고 HBe항체가 형성되는 과정을 거친다. 또한 HBe항원의 혈청전환은 만성B형 간염의 항 바이러스제 치료반응을 보는 중요한 척도의 하나이다.

B형간염은 만성화의 경향이 강해 성인에서는 약10%(16), 신생아의 경우 90%이상(16)에서 만성간염으로 이행되고 많은 수에서 간경화, 간암의 원인이 됨으로써(6) 사회적으로 심각한 문제가 되고 있다.

HBV는 일반적으로 직접적인 세포독성이 없고, 바이러스 역가와 만성 간염의 조직학적 중증도와는 관계가 없다. 간 이식후 재발한 B형 간염의 경우에는 직접적인 세포손상을 줄 수 있지만 HBV증식이 간손상과 항상 관계되지 않는다(18,21). 또한 초기 면역관용기에는 활발한 바이러스 증식에도 불구하고 간조직 소견은 정상이거나 거의 정상에 가깝고 간의 손상은 바이러스에 감염된 간세포에 대한 숙주의 면역반응의 결과로 나타난다. HBe항원 양성인 환자의 경우에는 바이러스 증식과 간손상 사이에 의미있는 관계가 없는 것으로 알려져 있고, HBe항원 음성인 만성B형 간염의 경우에는 precore mutant와 관계되어 HBV DNA 농도와 간손상의 정도와 관련이 있다는 보고가 있다(22).

만성간염의 진단은 혈액에서 간생화학적 검사 특히 Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT)와 같은 aminotransferase activity의 이상을 확인하여 의심하게 되며 6개월 이상 지속적으로 이상이 있을 경우 임상적으로 만성간염을 진단하게 된다.

만성 간염의 임상 소견은 무증상에서부터 간부전까지 다양하나 대부분은 증상이 없거나 비특이적인 것이 특징이다. 일반적으로 만성적 피로감, 전신권태, 식욕부진, 소화불량, 안구피로, 복부불쾌감 등을 호소하나 만성 간염의 특이적 자각증상은 없다. 이학적 소견상 황달, 간종대로 인한 간

촉지, 비장종대, 복수로 인한 복부팽만, 수장홍반, 거미상 혈관종 등의 소견을 관찰할 수 있으나 대부분 간경화로 진행되거나 만성 활동성 간염이 악화될 경우에 나타나는 소견이며 초기에는 특이소견이 없다. 영상학적 진단의 발달로 만성간염을 복부초음파, 간동위원소 주사, CT검사등으로 진단의 도움을 받고자 하는 노력이 시도되어 어느 정도 도움이 되나 대부분 진행된 형태의 만성간염이나 지방간에 참조가 되는 정도이다.

간생검은 간염의 진단과 예후를 알아보는데 중요한 검사이고 복강경 검사는 간표면의 육안적 소견을 관찰함으로써 염증과 섬유화반응 등 간염의 진행상태를 추정하는데 도움이 된다. 지금까지 만성간염의 감염의 지표로 Hepatitis e 항원(HBeAg) 검사가 널리 사용되어 왔으나 최근에는 분자생물학적 방법으로 HBV DNA를 검출하는 방법이 널리 이용되고 있다. 만성B형 간염은 주로 HBe항원 양성 시기에 염증이 악화되며, 간염 바이러스 증식이 왕성하여 간경변이나 간암으로 진행될 가능성이 높다.

그러나 항체가 생긴 후에도 혈중 HBV DNA가 양성으로 나타날 수 있으며 이러한 결과는 HBe항원이 소실된 후에도 염증반응이 지속하여 예후가 좋지 않은 것으로 추정된다. 따라서 본 연구에서는 HBe항원 음성인 만성B형 간염에 대한 HBV DNA 검출률과 간손상, HBe항원 양성인 만성B형 간염환자의 HBV DNA 검출률과 간손상의 관계에 대해 알아보고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

2002년 1월~12월까지 부산 K의료원을 내,입원한 만성B형 간염환자 300명을 대상으로 하였으며, 이들중 남자가 206명(69%), 여자가 94명(31%)이었다.

2. 연구방법

대상환자 300명에게 간기능 검사인 AST(Aspartate aminotransferase), ALT(Alanine aminotransferase) 검사와 혈청내의 B형 간염 e항원검사(HBeAg), HBV DNA 정량검사를 실시하였다.

1) 검사방법 및 내용

가. AST, ALT의 효소 활성도 측정

AST 및 ALT는 간세포 안에 들어있는 효소로서 간세포가 파괴되거나 손상을 받으면 유출되어 혈중 농도가 증가하게 된다. 급성이나 만성간염 시 이들 수치가 올라간다. 따라서 간염의 정도를 대략적으로 알려주는 검사로서 일반인들이 흔히 '간수치' 또는 '간염수치'라고 부르는 것이다. 정상은 대개 40까지이며, ALT가 AST보다 더 정확히 간질환을 반영한다. 본 실험에서 AST, ALT검사는 자동화 기기인 Olympus를 이용하여 측정하였으며, 측정시약은 Merck사에서 만든 ASAT(AST), ALAT(ALT) kit를 사용하였다.

Kit의 내용물은 다음과 같다.

① ASAT(AST)

No	kit의 내용 명세	시약 내용
1	R-1 효소, 완충액	Tris buffer pH 7.5, L-Aspartate NADH, MDH, LDH
2	R-2	Tris buffer, 2-Oxoglutarate

② ALAT(ALT)

No	kit의 내용 명세	시약 내용
1	R-1 효소, 완충액	Tris buffer pH 7.5, L-Alanine NADH, LDH
2	R-2	Tris buffer, 2-Oxoglutarate

③ 시약의 조제방법은 R-1의 경우 효소와 완충액을 섞어서 사용하고 R-2의 경우 본품 그대로 사용한다.

④ AST와 ALT의 정상참고치는 다음과 같다.

AST: 5-45 IU/L, ALT: 5-40 IU/L

나. B형 간염 e항원검사

HBe항원은 core 단백질 내부에 존재하는 단백질이며, HBe 항원에서 HBe 항체로의 seroconversion은 HBV증식 저하, 간염의 침체화, 감염력의 저하 또는 소실 등 임상적으로 중요하다.

또한 감염력이 가장 강한 시기에 나타나는 지표로서 보통 3~6주간 존재한다. HBe항원이 검출되면 바이러스의 복제 활동이 활발함을 뜻하고 그 환자는 전염성이 매우 높다.

HBe 항원검사방법은 EIA (immunoenzyme assay) 방법을 이용한 자동화

기기인 COBAS CORE (Roche Co., Indianapolis, USA)의 immunoassay 방법을 사용하였다.

Bead에 monoclonal antibodies anti-HBe 가 흡착되어 있으며 혈청내의 HBe항원이 일차 반응으로 결합되며 이차 반응으로 IgG monoclonal anti-HBe항체가 반응하는"SANDWICH"방법이다.

다. HBV DNA 정량검사

B형 간염 바이러스(HBV) DNA 정량검사는 만성 B형 간염 환자의 예후를 추정하고 감염이 지속되는 환자의 경과를 추적할 수 있을 뿐만 아니라 항바이러스 제제를 이용한 B형 간염 치료의 효과를 판정하고자 할 때 이용될 수 있다.

특히 HBe항원을 분비하지 않는 precore 변이형에 감염된 환자에서는 HBV의 복제 활성을 알기 위하여 본 검사가 매우 유용하다.

검사의 원리는 HBV DNA에 특이한 RNA Probe를 이용하여 DNA:RNA Hybrid를 만든 후, 이에 특이적인 항체를 결합시켜서 결합한 항체의 양을 화학발광법(Chemiluminescence)으로 측정하여 존재하는 HBV DNA의 양을 알아내는 검사이다.

본연구에서는 Digene HBV Test Hybrid Capture II (Digene Co., USA) 방법을 이용하였다.

검사과정은 아래와 같다.

① 시료준비

검사에 사용되는 모든 시약과 검체는 검사를 시작하기 전에 적어도 15-30분동안 20-25℃에 방치하여두며 수조 온도를 65℃로 미리 맞추어 둔다. negative 및 positive control은 2개씩 준비하였다.

② 시료 전처리

Hybridization rack에 Hybridization Tubes를 넣고 control, standards 그리고 검체를 각각 50 μl 씩 넣어준다. 여기에 Sodium azide를 첨가한 시료 희석액 25 μl , Sample Preparation Reagent(proteolytic solution containing dithiothreitol) 25 μl 씩 첨가후, 뚜껑을 덮고 회전교반기에 30초 동안 1,100 rpm 으로 교반한다. 이때 색이 옅은 파란색으로 변한다. 그다음 65℃의 수조에 20분 동안 반응한다.

③ Denaturation 과 Hybridization

Denaturation과 Hybridization단계에서 tube안의 검체가 수조에 충분히 잠기도록 하여, 검체에 Probe를 넣은 후, 자색에서 노란색으로 변하지 않으면 적당한 Probe의 양을(5-10 μl) 다시 첨가 후 충분히 혼합한다. 각각의 Hybridization Tubes에 indicator Dye가 첨가된 Denaturation reagent 50 μl 첨가한 후 30초 동안 1,100 rpm 으로 혼합한다. 이때 색깔이 자색으로 변한다. 그리고 65℃의 수조에 30분 동안 반응한다. 여기에 50 μl 의 HBV Probe를 첨가하고 3분 동안 1,100 rpm 으로 혼합하여 색깔이 자색에서 노란색으로 변한 후 다시 65℃의 수조에서 60분 동안 반응한다.

④ Hybrid Capture

수조에서 hybridization tubes를 꺼내 control과 standard와 검체를 각각의 capture tube로 옮긴 다음 Parafilm등으로 capture tube를 덮고 1,100 rpm, 20-25℃에서 60분 동안 잘 섞어준다. 반응이 끝나면 tube의 상층여액을 버린 후 2-3회 깨끗한 흡수지에 두들겨서 여액을 완전히 제거한다.

⑤ Hybrid Detection

각 capture tube에 detection reagent 1(anti-RNA:DNA-alkaline

phosphatase conjugate)를 250 μl 씩 분주하고 손으로 rack을 전후좌우로 여러번 흔들어 준 다음 20-25℃에서 30분 동안 반응시킨다.

⑥ Washing

반응이 끝나면 tube의 여액을 완전히 제거한 후 희석된 세척액으로 5회 세척한다. 세척한 tube는 깨끗한 흡수지 위에서 5분간 뒤집어서 방치하여 남은 여액을 흡수시킨다.

⑦. Signal Generation

control, 검체 및 Blank의 순서로 detection reagent 2(Lumiphos ® 530)를 각각 250 μl 씩 분주하고 20-25℃에서 30분 동안 직사광선을 피하여 반응시킨다. 반응이 끝난 후 30분 이내에 detection reagent 2를 분주한 순서대로 측정한다.

⑧ 측정결과의 표시는 5 pg/ml 이상인 경우는 Positive, 5 pg/ml 이하인 경우는 Negative로 표시한다.

Ⅲ. 연구결과

1. 대상환자의 연령별분포

대상환자의 연령별 분포를 보면 10-20대가 33명, 30-40대 166명, 50-60대 98명, 70대 이상이 3명이었고, 만성B형 간염환자 300명중 남자가 206명, 여자가 94명이었다 (Table 1).

Table 1. 만성B형 간염 환자의 연령별분포

Age	만성B형 간염		Total
	Male	Female	
10~20	30/33	3/33	33/300(11%)
30~40	117/166	49/166	166/300(55%)
50~60	57/98	41/98	98/300(33%)
70~80	2/3	1/3	3/300(1%)
Total	206/300(69%)	94/300(31%)	300

2. 검사결과

간기능검사인 AST, ALT의 경우 AST가 정상인 경우(5-45 IU/L)가 141명(47%)이며 평균값이 26.3 IU/L 이고, 비정상인 경우가 159명(53%)으로 평균값이 82.2 IU/L 이었다. ALT의 경우 정상인 경우(5~40 IU/L)가 213명(71%)으로 평균값이 21.0 IU/L 이고 비정상인 경우가 87명(29%)으로 평균값이 131.6 IU/L 이었다.

HBc항원 검사에서 Negative가 182명(61%), Positive가 118명(39%)이고, HBV DNA의 경우 5.0 pg/ml 이하의 값을 보인 Negative인 경우는 168명(56%), Positive는 132명(44%)이며, Positive 나온 환자의 평균값은 544.30 pg/ml 이었다 (Table 2 및 Table 5).

Table 2. 만성B형 간염환자중 HBe항원 및 HBV DNA 검출율

	HBe항원	HBV DNA
Positive	118명(39%)	132명(44%)
Negative	182명(61%)	168명(56%)

만성B형 간염환자 중 간염 바이러스증식이 더 활발한 HBe항원 양성인 경우 (118명) HBV DNA 정량검사 결과, HBV DNA 양성이 86명(73%)으로 HBV DNA 음성 32명(27%)에 비해 높았다. 이들 환자 각각의 간 효소 수치검사(AST, ALT)에 있어서는 HBe항원 양성이면서 HBV DNA 양성인 86명 중에서 AST, ALT 모두 정상인 경우가 21명(25%)이었고, 비정상 범위에 속하는 경우가 65명(75%)이었다. 그리고 HBe항원이 양성 이면서 HBV DNA 음성인 32명 중 AST, ALT 모두 정상인 경우가 10명 (31%)이었고 비정상 범위에 속하는 경우가 22명(69%)이었다 (Table 3). 간손상 정도에 있어서는 HBV DNA 양성과 음성 모두 높은 수치를 나타내므로 만성B형 간염환자에게서 HBe항원이 양성일 경우 70%이상이 간세포가 파괴됨을 나타낸다.

Table 3. HBe항원 양성환자에서 HBV DNA, AST및 ALT검사결과

	HBe항원 양성환자군		Total
	HBV DNA :양성	HBV DNA : 음성	
AST, ALT : 정상	21/86(25%)	10/32(31%)	31/118(26%)
AST, ALT :비정상	65/86(75%)	22/32(69%)	87/118(74%)
Total	86/118(73%)	32/118(27%)	118

* 정상 : AST: 5~45 IU/L , ALT: 5~40 IU/L

비정상 : AST: 5~45 IU/L ↑, ALT: 5~40 IU/L ↑

만성B형 간염환자가 HBe항원이 음성인 경우(182명) HBV DNA 정량검사 결과, HBV DNA음성이 136명(75%)으로 HBV DNA양성 46명 (28%)에 비해 높았다. 그리고 이들 환자 각각의 간 효소수치 검사 (AST, ALT)에 있어 HBe항원 음성이고 HBV DNA 양성인 46명 중 AST, ALT 모두 정상인 경우가 10명(22%)이었고, 비정상 범위에 속하는 경우가 36명 (78%)이었다. 그리고 HBe항원 음성이면서 HBV DNA 음성인 136명 중 AST, ALT 모두 정상인 경우가 87명(64%)이었고 비정상 범위에 속하는 경우가 49명 (36%)이었다 (Table 4).

만성B형 간염환자 중에서 HBe항원 검사결과 음성으로 나왔다 하더라도 간 효소 수치가 비정상범위인 경우(AST: 5~45 IU/L ↑, ALT: 5~40 IU/L ↑) HBV DNA 정량검사에 있어서는 양성으로 나올 가능성이 높았다.

Table 4. HBe항원 음성환자에서 HBV DNA, AST및 ALT검사결과

	HBe항원 음성환자군		Total
	HBV DNA : 양성	HBV DNA : 음성	
AST,ALT :정상	10/46(22%)	87/136(64%)	97/182(53%)
AST,ALT :비정상	86/46(78%)	49/136(36%)	85/182(47%)
Total	46/182(28%)	136/182(72%)	182

* 정상 : AST: 5~45 IU/L , ALT: 5~40 IU/L

비정상 : AST: 5~45 IU/L ↑, ALT: 5~40 IU/L ↑

만성 B형 간염환자 중 HBe항원 음성을 Group 1 이라하고, HBe항원 양성
을 Group 2 라고 하였을 때 Group별 환자수를 χ^2 검정한 결과, Table 5에
서 보는바와 같이 Group 1의 환자수가 높았으며($P<0.001$), HBV DNA
positivity는 Group 2에서의 비율이 월등히 높았다($P<0.001$).

분산분석 결과, Group 간에 AST, ALT, HBV DNA 수치가 모두 유의하
게 차이가 있었다.

AST에서는 Group 1에서 평균 45.8, Group 2에서 평균 71.8로 Group 2
에서 고도로 유의하게 높았다($P<0.001$).

ALT에서는 Group 1, Group 2에서 각각 평균 40.9, 평균 71.9로 Group 2
에서 높았다($P<0.01$).

HBV DNA는 Group 1에서 평균 23.7, Group 2에서 평균 554.3로
Group 2에서 월등히 높았다($P<0.001$).

Table 5. Group 1, Group 2 의 통계적 비교분석

	Group 1 (HBe항원 음성군)	Group 2 (HBe항원 양성군)	p value
Number of patients	182(61%)	118(39%)	<0.001
HBV DNA positivity(%)	46/182(28%)	86/118(72%)	<0.001
AST (mean, IU/L)	45.8 IU/L	71.8 IU/L	<0.001
ALT (mean, IU/L)	40.9 IU/L	71.9 IU/L	<0.01
HBV DNA (mean, pg/mL)	23.7 pg/mL	554.3 pg/mL	<0.001

IV. 고찰

HBV 감염은 급·만성 간염의 원인이며, 간암의 Cocarcinogen으로 우리나라에서 가장 심각한 바이러스성 질환의 하나이다. HBV 감염의 진단에는 HBV항원과 HBV 관련항체를 검사하는 혈청학적 방법과 분자생물학적 방법으로 HBV DNA를 검출하는 방법이 널리 쓰이고 있다.

대부분의 만성 HBs항원 보유자는 무증상인 경우가 흔하지만 이들의 임상적, 생화학적, 혈청학적 그리고 조직학적 양상은 매우 다양하다(6,13). 만성 HBs항원 보유자의 간조직 검사 소견은 보고자에 따라 많은 차이가 있다(9,10,20). 그러나 일반적으로 과거에 급성 간염의 과거력이 있는 경우나 간조직 검사 당시의 AST, ALT치가 상승된 경우에 만성 간질환의 빈도 및 재발의 가능성이 높다. 또한 간기능이 정상인 만성 HBs항원 보유자의 간생검 소견도 외국보다는 국내의 보고에서 만성 간질환의 빈도가 높게 나타난다. 이는 감염 시기에 따른 차이로 서양에서는 성인에서 HBV 감염이 대부분인 것과는 달리 국내의 경우 수직 감염이 주된 만성B형 간염의 경로를 차지하기 때문이라고 생각된다.

간염 활성화는 간세포의 괴사와 염증을 말하며 그 정도를 대변할 수 있는 것이 혈청 AST와 ALT치이며, 간소염의 괴사정도를 반영한다고 알려져 있다. 간 이외 조직의 손상에서도 증가될 수 있는 AST에 비해 간에 대해 특이성을 갖는 ALT가 간염의 활성도를 예측하는데 있어 보다 민감한 지표로 사용되어 왔다. 근래에는 ALT는 소염 내 염증 활성도를 반영하지 못하며 오히려 AST가 간염활성도의 더 민감한 예측지표라는 보고도 있다. 본 연구에서는 만성B형 간염만을 진단받은 300명의 환자들을 대상으로 하였으며, AST와 ALT수치 모두 간세포 괴사와 염증에 반영하였다.

이들중 연령별 분포에서 30-40대가 166명으로 전체대상 환자의 55%를 차지 하였으며, 남자가 206명으로 69%를 차지하였다. 이는 우리나라에서 30대 남자에서 유병률이 높다는 국내의 보고와 유사하였다(2). 이들 만성B형 간염환자에게서 HBe항원이 음성인 환자(182명)가 양성인 환자(118명)에 비해 많은 결과는 대상 환자들의 특성이 다르고 이미 만성B형 간염을 진단받은 환자들을 대상으로 하였기 때문인 것으로 생각된다.

HBV DNA는 간의 염증과 관계가 있고 질환의 활성 및 만성 간염의 진행과 관계가 있으며 지역이나 인종, 연령과도 관계가 있다. 건강보균자자가 아닌 만성B형 간염환자의 경우 HBV DNA 검출율이 12%(3/26), 15%(2/13)등으로 다양하게 보고 되고 있으며, 44%를 보인 본 연구결과와는 대조적인데, 이렇게 차이를 나타내는 이유 중 하나로 대상 환자들의 HBV 감염이 대부분 후천적 감염인 서구에 비해 우리나라 환자들은 대부분 선천감염으로 인해 clearance 기간이 긴 사실을 들수 있을 것으로 생각된다. HBe항원 음성인 환자중 HBV DNA 양성환자의 많은 부분이 HBV mutant일 것으로 생각되며, 이러한 HBV mutant의 유무는 DNA sequencing등을 통해 확인할 수 있겠으나 임상적으로 기술적 문제가 있어 보편적으로 사용하기 어려우므로 보다 간단한 검사법의 개발이 필요하다 하겠다.

V. 요약

본 연구에서는 HBe항원 음성인 만성B형 간염의 경우 HBV DNA농도와 간세포손상 그리고 HBe항원 양성인 만성B형 간염환자의 HBV DNA 농도와 간세포손상의 관계에 대하여 알아본 것이다. 대상환자의 연령별 분포에 있어서는 30-40대가 166명으로 전체대상 환자의 55%를 차지하였고 남자가 206명으로 여자 94명에 비해 69%나 차지함을 알 수 있었다. HBe항원이 양성으로 나온 만성B형 간염환자의 경우 HBV DNA 검사에서 양성이 73%를 차지 하였으며 간세포 손상에 있어서는 HBV DNA검사 양성, 음성 모두 70%이상인 간세포가 손상됨을 알 수 있었다. 그러나 HBe항원이 음성으로 나온 만성B형 간염환자의 경우에는 HBV DNA 검사에서 음성이 75%를 차지 하였으며 간세포 손상에 있어서는 HBV DNA 검사에서 양성으로 나온 환자에게서 78%로 음성인 환자에 비해 훨씬 높음을 알 수 있었다. 따라서 HBe항원이 음성으로 나온 만성B형 간염환자의 경우에도 간세포 파괴와 바이러스 증식이 있음으로 바이러스 증식 표지자로서 HBV DNA 검사가 중요하다 하겠다. 그러므로 만성B형 간염환자의 경우 HBe항원의 유무와 관계없이 바이러스 표지자 검사와 생화학적 간기능 검사를 지속적으로 추적, 감시하는 것이 중요하리라고 판단된다. 그리고 만성B형 간염의 치료 적응증은 바이러스 증식(HBe항원:양성, 혈청 HBV DNA: 양성)과 간질환의 증거(비정상적인 ALT치)가 있는 경우로 HBV DNA가 음성인 경우는 항바이러스 치료의 적응이 되지 않으므로 HBV DNA음성인 만성B형 간염환자에 대한 치료대책의 연구가 많이 있어야 할것으로 판단된다.

VI. 참고문헌

1. 김영기, 오영철, 김기홍. 1993. HBsAg 및 anti-HCV 양성 헌혈자의 수종생화학 검사분포 양상. 대한수혈학회지 4, 207-214.
2. 박병규, 박영년, 한광협, 안상훈, 이관식, 전재윤, 문영명, 박찬일. 2000. 만성간염의 새로운 등급체계에 따른 만성 B형간염의 장기간 추적결과. 대한간학회지 6, 287-300.
3. 오덕자, 황유성, 최중문, 민태희. 1997. 공혈자의 간염표지자 양성률 및 양성군의 ALT평균 수치. HBs항원 및 항체 음성 공혈자의 HBc 항체 양성률. 대한수혈학회지 8, 9-17
4. 정보찬, 이선호, 김두성, 김상인. 1994. 한국 헌혈자에서의 B형, C형 간염표지자 양성률. 대한수혈학회지 5, 143-149.
5. 조남선, 안형식. 1997. 헌혈자에서의 간염 표지자 양성률에 대한 고찰과 대리표지자로서 ALT의 유용성에 대한 검토. 대한수혈학회지 8, 19-29.
6. Beasley, R.P., L.Y. Hwang, C.C. Lin, and C.S. Chien. 1981. Hepatocellular carcinoma and HBV : a prospective study of 22,707 men in Taiwan, Lancet 2, 1129-1131.
7. Carman, W.F., M.R. Jacyna, S. Hadziyannis, and P. Karayiannis. 1989. Mutation prevention formation of hepatitis B e antigen in

patients with chronic hepatitis B infection. Lancet 2, 588-590.

8. Carman, W.F., S. Dourakis, P. Karayiannis, M. Crossey, R. Drobner, and H.C. Thomas. 1991. Incidence of hepatitis B viremia, detected using the polymerase chain reaction, after successful therapy of hepatitis B virus carriers with interferon- α . J of Med Virol. 34, p. 114.
9. Chen, D.S. 1987. Hepatitis B virus infection, its sequelae, and prevention in Taiwan. In :Okuda K, Ishak KG(ed.), Neoplasms of the liver Spring-Verlag, Tokyo, p. 71.
10. Chen, D.S. and J.L. Sung. 1987. Hepatitis Be antigen and its antibody in chronic type B hepatitis. J Gastroenterol Hepat. 2, 255-257.
11. Chen, D.S. 1993. Natural history of chronic hepatitis B virus infection : New light on old story, J Gast hepat. 8, 470-472.
12. Chen, D.S., B.H. Hoyer, J. Nelson, R.H. Purcell, and J.L. Gerin. 1982. Detection and properties of hepatitis B viral DNA in liver tissue from patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology 2, p. 542.

13. Chu, C.M., P. Karayiannis, M.J.F. Fowler, J. Monjardino, Y.F. Liaw, and H.C. Thomas. 1985. Natural history of chronic hepatitis B virus infection in Taiwan : Studies of hepatitis B virus DNA in serum. *Hepatology* 5, p. 431-435.
14. Cu, I.J., M.Y. Lai, H.C. Hsu, D.S. Chen, P.M. Yang, and S.M. Chuang. 1991. Diverse virological, histopathological and prognostic implications of seroconversion from hepatitis Be antigen to anti-HBe in chronic hepatitis B virus infection. *J Hepat.* 3, p. 372-375.
15. Decker, R.H. 1993. Diagnosis, In Zuckerman AJ, Thomas HC(eds) *Viral hepatitis*, p. 171.
16. Facyna, M.R. and H.C. Thomas. 1993. Pathogenesis and treatment of chronic infection, In : Inckerman AJ, Thomas HC(eds) : *Viral hepatitis*. p. 185.
17. Gerlich. 1993. Structure and molecular biology. In:Zuckerman A.J., Thomas HC (Eds): *Viral hepatitis*. Churchill Livingstone. p. 88-90.
18. Hadziyannis, S.J. and D. Vassilopoulos. 2001. Hepatitis Be antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 3, p. 617-624.

19. Hsu, H.C., Y.H. Lin, M.H. Chang, I.J. Su, and D.S. Chen. 1988. Pathology of chronic hepatitis B virus infection in children with special reference to the intrahepatic expression of hepatitis B virus antigens. *Hepatology* 8, p. 378.
20. Liaw, Y.F., C.M. Chu, K.U. Su, M.J. Huang, D.Y. Lin, and C.S. Chang-Chen. 1983. Clinical and histological events preceding hepatitis Be antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 84, p. 216.
21. Lok, A.S. 2000. Hepatitis B infection. Pathogenesis and management. *J. Hepat.* 32, p. 89-97.
22. Linch, M., P. Horal, A.P. Dhillon, and G. Norkrans. 2000. Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 7, p. 258-267.
23. Marion, P.L., L.S. Oshiro, D.C. Regnery, G.H. Scullard, and W.S. Robinson. 1980. A virus in Beechey ground squirrels that is related to hepatitis B virus of humans, *Proc Natl Acad Sci USA*, 7, p. 2941.
24. Mason, W.S., G. Seal, and J. Summers. 1980. Virus of Pekin

- ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus, *J. Virol.* 36, p. 829-835.
25. Milich, D.R., J.E. Jones, J.L. Hughes, J. Price, A.K. Raney, and A. McLachlan. 1990. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 87, p. 6599.
26. Montano, L., G.C. Miescher, A.H. Goodall, K.H. Wiedmann, G. Janossy, and H.C. Thmas. 1982. Hepatitis B virus and HLA antigen display in the liver during chronic hepatitis B virus infection, *Hepatology* 2, p. 557-558.
27. Okamoto, H. 1985. Hemagglutination assay of polypeptide coded by the pre-S region of hepatitis B virus with monoclonal antibody : correlation of pre-S polypeptide with the receptor for polymerized human serum albumin in serums containing hepatitis B antigens. *J. Immun.* 134, p. 1212.
28. Sprengel, R., E.F. Kaleta, and H. Will. 1988. Isolation and characterization of a hepatitis B virus endemic in herons, *J. Virol.* 62, p. 3832-3833.
29. Schlicht, H.J., and H. Schaller. 1988. The secretory core protein

of human hepatitis B virus is expressed on the cell surface.
Journal of Virology 63, p.5399.

30. Summers, J., J.M. Smolec, and R. Suyder. 1978. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks, Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A., 75, p. 4533-4536.
31. Standring, D.N., J.H. Ou, F.R. Masarz, and W.J. Rutter. 1988. signal peptide encoded within the precore region of hepatitis B virus directs the secretion of a heterogeneous population of antigens in Xenous oocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 85, p. 8405.
32. Tsai, S.L., P.J. Chen, M.Y. Lai, P.M. Yang, J.L. Sung, and D.S. Chen. 1992. Acute exacerbations of chronic type B hepatitis are accompanied by increased T cell responses to hepatitis B core and e antigens Implications for hepatitis Be antigen seroconversion. J. Clin. Invest. 89, p.87.
33. Yang, P.M., D.S. Chen, and M.Y. Lai. 1987. Clinicopathologic studies of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers with special emphasis in carriers older than 40 years. Hepatogastroenterol. 34, p. 251.

VII. 감사의 글

논문이 완성되기까지 많은 지도와 학문적 가르침을 주신 송영환 지도 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

본 논문의 심사를 맡아주시고 논문의 중요성을 일깨워 주신 이훈구 교수님과 이원재 교수님께도 감사를 드리며 또한 여러 가지 많은 배려를 해주시고 가르침을 주신 김진상 교수님, 김영태 교수님, 이명숙 교수님과 최태진 교수님께도 감사를 드립니다.

바쁜 가운데서도 학업을 마치도록 많은 도움과 배려를 해주신 직장 동료 선생님들과 대학원 동기분들께도 감사를 드립니다.

늘 부족한 자식을 사랑으로 대하시는 부모님과 시부모님, 그리고 항상 나의 힘이되는 사랑하는 가족과 이 기쁨을 나눕니다.