

라미부딘으로 유도된 B형 간염 표면항원 소실 예에서의 간내 바이러스 양상

연세대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실², 소화기병연구소, 간경변증 임상연구센터

이진형 · 김자경 · 박영년² · 류한작 · 김성애 · 안상훈 · 한광협

=Abstract=

Intrahepatic HBV-DNA of the patients with HBs seroclearance by lamivudine

Jin Hyoung Lee, M.D., Ja Kyung Kim, M.D., Young Nyun Park, M.D.²,

Han Jak Ryu, M.D., Sung Ai Kim, M.D.,

Sang Hoon Ahn, M.D. and Kwang Hyub Han, M.D.

Departments of Internal Medicine and Pathology², Institute of Gastroenterology

Liver Cirrhosis Clinical Research Center

Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

The ideal goal for the treatment of chronic hepatitis B is the complete eradication of HBV. With prolonged lamivudine therapy, the HBeAg seroconversion rate can be increased. It has been reported that in some Caucasian patients, lamivudine induced not only HBeAg seroconversion, but also HBsAg seroconversion. However, such reports about Asian patients are rare. We report here on two Korean patients who experienced HBsAg seroclearance by lamivudine, and they had different HBV-DNA liver statuses. They were 35 and 30 years old males and they were treated with lamivudine for 36 and 18 months, respectively. As the HBeAg and HBsAg were lost, both patients developed anti-HBs. Liver biopsy revealed improvement of inflammation and fibrosis in one patient. Even though the other patient also developed anti-HBs, HBV-DNA was still detected in the liver tissue. Our cases show that lamivudine can bring HBsAg seroclearance in Korean patients suffering with chronic hepatitis B, but further research is needed to eliminate HBV-DNA in liver tissue. (Korean J Med 71:S998-S1002, 2006)

Key Words : Hepatitis B virus, lamivudine, Hepatitis B surface antigen

서 론

만성 B형 간염의 치료에 있어 가장 이상적인 목표는 B형 간염바이러스(Hepatitis B virus, HBV)의 완전한 제거이다. 알파인터페론으로 치료한 결과에 따르면 HBeAg의 혈청소실 후 Hepatitis B surface antigen (HBsAg, 표면항

원)의 소실률은 서구의 경우 5~10%에서 보고되고 있으나 이와 달리 아시아권에서는 2.4% 정도로 매우 낮다¹⁾. 라미부딘으로 치료한 경우에도 서구에서는 HBeAg의 혈청소실 후 표면항원의 소실률 23%이나²⁾ 아시아권에서는 매우 드물고³⁾, 국내에서는 지금까지 이에 대한 보고는 없었다. 저자들은 만성 B형 간염에서 라미부딘 치

• Received : 2005. 5. 29.

• Accepted : 2006. 3. 22.

• Correspondence to : Kwang Hyub Han, M.D., Departments of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, 134 Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea E-mail : gihankhys@yumc.yonsei.ac.kr

료 후 표면항원의 혈청소실 2예를 경험하여 이들의 간조직내 바이러스 DNA 정량과 함께 보고하는 바이다.

증 례 1

환 자 : 35세, 남자

주 소 : 만성 B형 간염으로 라미부딘을 복용하며 외래에서 경과관찰하던 중 표면항원이 소실되어 간내 바이러스 양상 확인을 위한 간조직 생검을 시행하였다.

현병력 : 건강검진상 표면항원 양성으로 1995년 11월 본원 소화기내과 외래로 내원하여 당시 HBeAg 양성, AST 42 IU/L, ALT 71 IU/L였다. 외래에서 추적관찰하던 중 1998년 6월 HBeAg 양성, HBV-DNA (DML 2000 Luminometer, Digene Diagnostics, Silver Spring,

USA, detection limit : 0.5 pg/mL) 2,450 pg/mL, AST 138 IU/L, ALT 243 IU/L로 1998년 9월부터 14주간 라미부딘 100 mg을 매일 경구투여하였으며, 치료시작 6개월째 혈청내의 HBV-DNA <0.5 pg/mL, AST 26 IU/L, ALT 28 IU/L로 라미부딘 투여를 중단하였다. 치료 중단 4개월 후 시행한 혈청 HBV-DNA 1,530 pg/mL, AST 111 IU/L, ALT 219 IU/L로 1999년 7월부터 2002년 7월까지 라미부딘을 재투여하였다. 재치료 5개월째 혈청내의 HBV-DNA가 검출되지 않았으며, 재치료 8개월째인 2000년 3월 HBeAg가 음전되었고, 재치료 36개월에 HBeAg(-)과 Anti-HBe(-) 및 HBV-DNA <0.5 pg/mL, AST 22 IU/L, ALT 17 IU/L로 라미부딘 투여를 종료하였다. 재치료 48개월째(치료 종료 12개월째)인

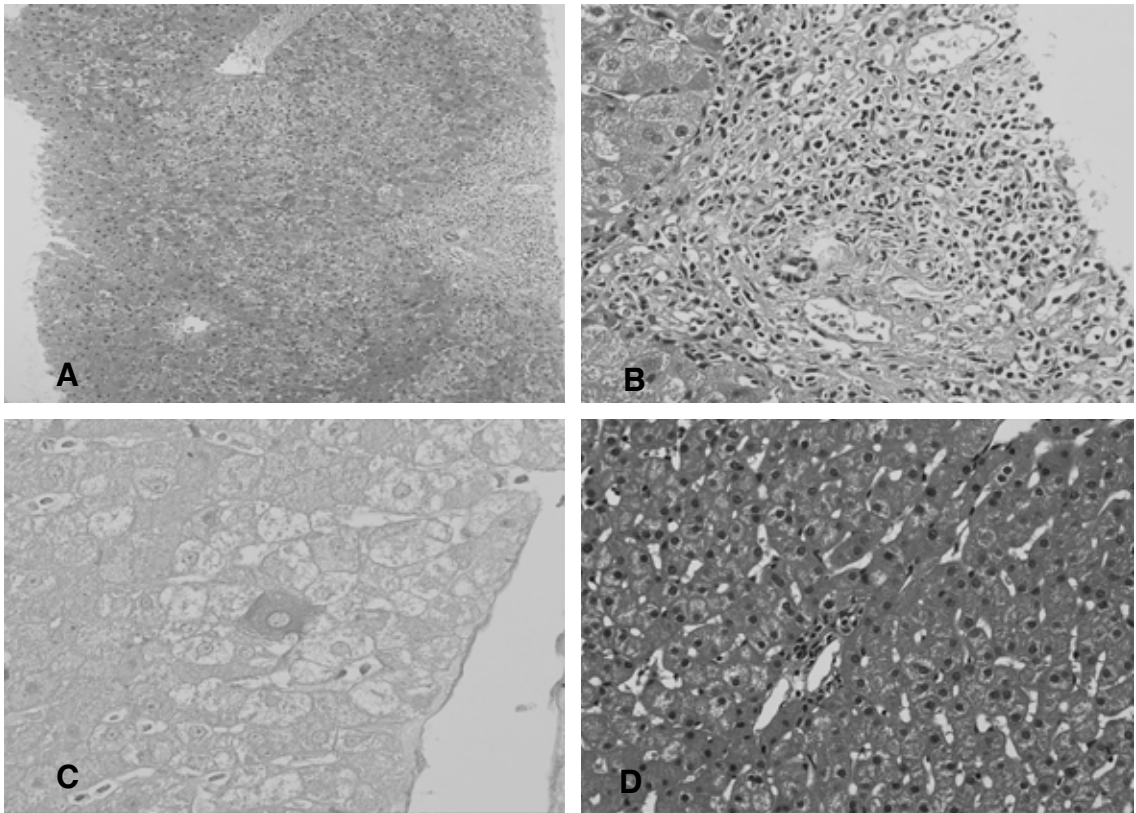


Figure 1. Initial liver biopsy (A, B, C) and the follow up liver biopsy (D) in Case 1. The initial liver biopsy showing chronic hepatitis B with moderate lobular necroinflammation, moderate portoperiportal activity and periportal fibrosis (A). The portal tract shows fibrotic widening with chronic inflammation and piecemeal necrosis (B). The ground glass cell was found on Victoria-blue stain (C) (A $\times 100$, B $\times 400$, C $\times 400$). Follow up liver biopsy showing a nearly normal appearance without hepatic activity or ground glass cells (D) (D $\times 400$)(D $\times 400$).

2003년 7월 표면항원의 소실이 확인되었고, 재치료 61개월째(치료 종료 25개월째)인 2004년 8월 anti-HBs 16 IU/L로 확인되어 간조직 생검을 시행하였다.

과거력 및 가족력 : 특이소견 없었다.

진찰 소견 : 입원 당시 활력징후는 혈압 120/80 mmHg, 맥박 80회/분, 호흡 14회/분, 체온 36.4°C였다. 의식은 명료하였고, 전신의 피부 및 공막에 황달은 없었으며, 흉부 청진상 심음은 규칙적이었고 호흡음의 이상은 없었다. 복부는 부드럽고 편평하였으며, 간과 비장은 촉진되지 않았고 복부 압통은 없었다.

검사실 소견 : 일반 혈액 검사상 백혈구 7,400/mm³, 혈색소 14.9 g/dL, 혈소판 223,000/mm³이었고, 혈청 생화학 검사상 BUN 17.3 mg/dL, creatinine 1.0 mg/dL, total protein 6.6 g/dL, albumin 4.2 g/dL, AST 25 IU/L, ALT 24 IU/L, total bilirubin 1.5 mg/dL, alkaline phosphatase 66 IU/L, 혈액응고 검사상 프로트롬빈 시간은 11.3초(INR 0.88), activated PTT는 31.9초였다. B형 간염표지자 검사에서 HBsAg 음성, anti-HBc 양성, anti-HBs 양성이었다. 혈청 알파태아단백은 6.88 ng/mL였다.

병리조직학적 소견 : 환자는 라미부딘 치료 전인 1998년 7월 복강경을 통한 간조직 생검을 시행하였으며, HBsAg에 대한 항체 형성 후인 2004년 9월 초음파를 통한 간조직 생검을 시행하였다. 병리소견은 대한병리학회 소화기병리연구회의 것을 기준으로 하였다. 처음 간조직 생검 소견은 중등도의 소엽 활성도(lobular activity 3/4), 문맥역-문맥주변부 활성도(porto-periportal activity 3/4) 및 문맥주변부 섬유화 소견(periportal fibrosis, stage 2)을 보여 만성 활동성 B형 간염에 합당하였다. 추적 간조직 생검 소견에서는 미세 소엽 활성도(lobular activity 1/4)를 보였고 문맥역-문맥주변부 활성도(porto-periportal activity 0/4), 문맥역 섬유화(portal fibrosis, stage 1)의 호전이 있었다(그림 1).

DNA 정량 : 추적 간생검 조직에서 실시간 중합효소 연쇄반응(realtime PCR; TaqMan Universal PCR Master Mix, Biosystems, Branchburg, USA)⁴⁾을 이용한 간내 HBV DNA 검출을 시도하였으나 검출되지 않았다.

결과 : HBsAg 소실 20개월 후인 2005년 3월 외래 추적검사서 AST 25 IU/L, ALT 17 IU/L, HBsAg 음성, anti HBs 33 IU/L로 지속되고 있으며, 현재 외래 추적 관찰 중이다.

증 례 2

환 자 : 30세, 남자

주 소 : 만성 B형 간염으로 라미부딘 복용하며 외래에서 경과관찰하던 중 표면항원이 소실되어 간내 바이러스 양상 확인을 위한 간조직 생검을 시행하였다.

현병력 : 1년 이상 표면항원 양성인 환자로 1995년 2월 HBeAg 양성, AST 103 IU/L, ALT 213 IU/L였다. 추적관찰하던 중 1997년 9월 HBeAg 양성, HBV-DNA 34.7 pg/mL, AST 75 IU/L, ALT 81 IU/L로 라미부딘 75 mg을 매일 경구투여하였다(당시 환자 연령 25세). 치료시작 2개월째 혈청내의 HBV-DNA가 검출되지 않았고, 치료 9개월째인 1998년 6월 HBeAg의 음전 및 anti-HBe 형성이 확인되었다. 1999년 3월까지 총 18개월간 라미부딘을 복용하다가 중단하였다. 추적관찰 중 치료 종료 35개월째인 2002년 2월 HBsAg의 혈청소실이 확인되어 간조직 생검을 시행하였다.

과거력 및 가족력 : 형이 만성 B형 간염에 의한 간경변증 진단을 받았고, 다른 가족력은 없었다.

진찰 소견 : 입원 당시 활력징후는 혈압 120/80 mmHg, 맥박 74회/분, 호흡 14회/분, 체온 36.7°C였다. 의식은 명료하였고, 전신의 피부 및 공막에 황달은 없었으며, 흉부 청진상 심음은 규칙적이었고, 호흡음의 이상은 없었다. 복부는 부드럽고 편평하였으며, 간은 늑골하 2횡지 부위에서 촉진되었으나 비장은 촉진되지 않았고 복부 압통은 없었다.

검사실 소견 : 말초 혈액 검사상 백혈구 5,590/mm³, 혈색소 14.9 g/dL, 혈소판 144,000/mm³이었고, 혈청 생화학 검사상 BUN 12.5 mg/dL, creatinine 1.0 mg/dL, total protein 7.2 g/dL, albumin 4.4 g/dL, AST 17 IU/L, ALT 15 IU/L, total bilirubin 1.5 mg/dL, alkaline phosphatase 72 IU/L, 혈액응고 검사상 프로트롬빈 시간은 14.1초(INR 1.22)였다. HBsAg 음성, anti-HBc 양성, anti-HBs 음성이었다. 혈청 알파태아단백은 2.81 ng/mL였다.

병리조직학적 소견 : 거대결절 및 미세결절경변(macro and micronodular cirrhosis)으로, 미세 소엽 활성도(lobular activity, 1/4)와 중격 활성도(septal activity) 소견 및 5% 미만의 거대세포 및 미세세포성 지방변성(macro and microvesicular fatty change)을 보였고, HBsAg, HBcAg에 대한 면역조직화학 염색에서는 모두

Table 1. Quantification of HBV cccDNA in Case 2.

Cta	cccDNA (copy/ μ L)	Elution Volume (μ L) ^b	Liver DNA (μ g) ^b	cccDNA (copy)	
				/ μ g of Liver DNA	/Cell
28.1	3.4×10^4	25	2.4	8.8×10^4	0.6

^aThe content of the intrahaptic HBV cccDNA was derived by interpolation of the Ct value with using the standard curve obtained from standard DNA that ranged from 0 to 10^7 copies.

^bTotal DNA per biopsy tissue.

^{*}The serologic markers for HBsAg, HBeAg, anti-HBs and anti-HBe were determined by enzymelinked immunoassays (Behringwerke, Marburg, Germany). The detection limit of this assay is 10 IU/L

음성소견을 보였다.

DNA 정량 : 실시간 중합효소 연쇄반응⁴⁾을 이용하여 간내 HBV covalently closed circular DNA (cccDNA)를 정량하였으며, cccDNA는 간 DNA의 μ g당 값으로 표준화한 Zanella 등⁵⁾의 논문에 근거하여 1 μ g의 간 DNA를 1.5×10^5 개의 세포로 계산하였다. 1 μ g당 간내 HBV genome의 농도는 간 DNA μ g당 8.8×10^4 copy로 이는 세포당 0.6 copy에 해당한다(표 1).

결과 : 간생검 12개월 후인 2003년 11월 외래 추적검사에서 AST 15 IU/L, ALT 17 IU/L, HBsAg 음성, anti-HBs < 7.2 IU/L로 추적관찰 중이다.

고 찰

만성 B형 간염의 치료에 있어 B형 간염바이러스의 완전한 제거 여부를 확인하는 표지자로는 HBsAg의 혈청소실 및 혈청과 간 내의 HBV-DNA가 소실되는 것이다.

만성 B형 간염바이러스 감염 환자에서 HBsAg의 자발적인 혈청소실은 서구에서 연간 약 1~2%이며, 아시아권에서는 연간 0.1~0.8% 정도이다⁶⁻⁸⁾. 라미부딘 치료를 받은 환자에서 HBeAg의 혈청소실률은 서구에서는 치료 1년간 16~32%, 5년간 50% 정도⁹⁾이며, Dienstag 등²⁾은 라미부딘 투여 후 HBeAg이 음전된 서구환자들에서 평균 36개월 후 23%의 HBsAg 소실을 확인하였다. 그러나 라미부딘 치료 후 HBsAg 혈청소실의 아시아권 보고는 골수나 간이식 등을 받은 환자들의 증례들을 제외하면 거의 없는 실정이다^{10, 11)}. Yuen 등³⁾은 중국인에서 라미부딘 치료 24개월 후 HBsAg의 음전과 65개월 후 anti-HBs 형성을 보인 1예와 12주간의 Famciclovir와 27개월간의 라미부딘 투여 후 HBsAg이 소실되고, 71개월 후 HBsAg에 대한 항체형성을 보인 1예를 보고하였다.

안 등⁴⁾은 HBsAg이 자발적으로 소실된 환자들의 장

기 추적 간조직 생검에서 괴사염증 정도는 현저히 호전되고 섬유화 정도는 변화가 없거나 감소됨을 확인하였고, HBsAg이 소실되었지만 10.6%의 환자에서는 간세포암이 발생하였고, 간 조직검사를 시행했던 15예 모두에서는 HBV-DNA를 확인하였다고 보고하여 HBsAg의 소실만으로 HBV의 제거를 예상할 수는 없었다. 또한, Lo 등¹²⁾도 여러 국가에서 시행한 조사에서 HBsAg 음성인 환자의 간조직 내에 0~11%까지 HBV-DNA가 잔존함을 보고하였다.

본 증례 1에서는 라미부딘 치료 전후로 시행한 간조직 생검의 병리학적 소견상 소염 활성도와 문맥주위 활성도의 호전뿐 아니라 문맥 섬유화 소견의 호전을 보임으로써 라미부딘 치료로 만성 B형 간염의 혈청학적인 호전과 조직학적인 호전을 동시에 얻었음을 확인하였다.

본 증례들의 경우 HBsAg의 소실은 B형 간염에서 라미부딘 치료 후 일어났는데, 증례 1에서는 간 조직에서 DNA가 검출되지 않았으나 증례 2에서는 DNA가 검출되었으며, 검출된 HBV가 이후 간질환의 진행에 영향을 줄 것인가와 이런 경우의 치료에 대해서는 더 많은 연구가 따라야 할 것이다.

요 약

저자들은 만성 B형 간염으로 라미부딘 치료를 받은 환자의 장기 추적관찰기간동안 HBsAg가 소실된 2예와 간내 바이러스 검출양상을 보고하는 바이다.

중심 단어 : B형 간염, 라미부딘, 표면항원

REFERENCES

- 1) Yuen MF, Hui CK, Cheng CC, Wu CH, Lai YP, Lai CL. Long-term follow-up of interferon alfa treatment

- in Chinese patients with chronic hepatitis B infection: the effect on Hepatitis B e antigen seroconversion and the development of cirrhosis-related complications. Hepatology 34:139-145, 2001*
- 2) Dienstag JL, Cianciara J, Karayalcin S, Kowdley KV, Willems B, Plisek S, Woessner M, Gardner S, Schiff E. *Durability of serologic response after lamivudine treatment of chronic hepatitis B. Hepatology 37:748-755, 2003*
 - 3) Yuen MF, Wong DK, Yuan HJ, Sum SM, Lai CL. *HBsAg seroclearance in Chinese patients receiving lamivudine therapy for chronic hepatitis B virus infection. J Clin Microbiol 42:4882-4884, 2004*
 - 4) Ahn SH, Park YN, Park JY, Chang HY, Lee JM, Shin JE, Han KH, Park C, Moon YM, Chon CY. *Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. J Hepatol 42:188-194, 2005*
 - 5) Zanella I, Rossini A, Domenighini D, Albertini A, Cariani E. *Real-time quantitation of hepatitis B virus (HBV) DNA in tumorous and surrounding tissue from patients with hepatocellular carcinoma. J Med Virol 68:494-499, 2002*
 - 6) Alward WL, McMahan BJ, Hall DB, Heyward WL, Francis DP, Bender TR. *The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. J Infect Dis 151:604-609, 1985*
 - 7) Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. *Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. Hepatology 13:627-631, 1991*
 - 8) Sampliner RE, Hamilton FA, Iseri OA, Tabor E, Boitnott J. *The liver histology and frequency of clearance of the hepatitis B surface antigen (HBsAg) in chronic carriers. Am J Med Sci 277:17-22, 1979*
 - 9) Yuen MF, Lai CL. *Current and future antiviral agents for chronic hepatitis B. J Antimicrob Chemother 51:481-485, 2003*
 - 10) Lau GK, Lok AS, Liang RH, Lai CL, Chiu EK, Lau YL, Lam SK. *Clearance of hepatitis B surface antigen after bone marrow transplantation: role of adoptive immunity transfer. Hepatology 25:1497-1501, 1997*
 - 11) Lo CM, Fung JT, Lau GK, Liu CL, Cheung ST, Lai CL, Fan ST, Wong J. *Development of antibody to hepatitis B surface antigen after liver transplantation for chronic hepatitis B. Hepatology 37:36-43, 2003*
 - 12) Lo YM, Lo ES, Mehal WZ, Sampiero M, Fiorelli G, Ronchi G, Tse CH, Fleming KA. *Geographical variation in prevalence of hepatitis B virus DNA in HBsAg negative patients. J Clin Pathol 46:304-308, 1993*