표면항원이 소실된
만성 B형 간질환 환자의
간조직학적 소견

연세대학교 대학원

의 학 과

박 준 용

표면항원이 소실된 만성 B형 간질환 환자의 간조직학적 소견

지도 전 재 윤 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2002년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

박 준 용

박준용의 석사 학위논문을 인준함

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

연세대학교 대학원

2002년 6월 일

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 자상한 지도와 깊은 애정으로 이끌어 주신 전재윤 교수님께 진심으로 감사드리며, 본 연구를 위하여 각별한 조언을 아끼지 않으신 한광협 교수님, 박영년 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 아울러 실험과정에서 많은 도움을 주신 김균환 선생님, 장혜영 선생님께 감사드립니다. 언제나 사랑으로 저를 아껴주시고 지켜주시는 부모님과 모든 일을 이해해 주는 가족들, 내과의국원 모두에게 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

차 례

그림 차례

표 차례

국문요약

표면항원이 소실된 만성 B형 간질환 환자의 간조직학적 소견

B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus, HBV)는 우리나라에서 만성 간질환의 가장 중요하고 흔한 원인으로 HBV 만성 감염의 자연 경과는 바이러스의 증식에 따라 그리고, 환자의 면역 상태에 따라 면역관용기, 면역제거기, 비증식기로 구분할 수 있다. B형 간염 바이러스 표면항원(Hepatitis B surface antigen ; HBsAg)의 자연소실은 비증식기에 일어나며 HBV 감염이 주로 주산기나 초기 학동기에 발생하는 우리나라를 비롯한 동북아시아에서는 HBsAg의 소실률이 서구의 경우보다 상대적으로 낮은 것으로 알려져 있다. 과거에는 이러한 HBsAg의 자연소실이 HBV 감염으로부터의 완전관해라 생각되었으나 최근에 분자생물학적 진단 방법의 발달로 인하여 적은 양이지만 HBV DNA가 간을 비롯한 체내에 존재한다는 것이 확인되었다.

본 연구에서는 HBsAg이 자연소실될 수 있는 시기, 즉 비증식기에 있다고 판단되는 만성 B형 간질환 환자에서의 HBsAg의 소실률과 HBsAg의 자연소실 후 간조직학적 소견 그리고,

HBsAg이 소실된 후 환자의 혈청과 간조직에서 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction ; PCR)을 이용하여 HBV DNA 존재 여부를 확인하고자 하였다.

2001년 10월부터 2002년 3월말까지 연세대학교 세브란스병원에 내원한 B형 간염 바이러스 보유자 중 HBeAg이 최소 1년 이상 음성이고 간효소치가 거의 정상으로 유지되어 비증식기 상태에 있다고 판단되는 환자를 대상으로 전향적인 연구로 진행하였으며, 대상 환자들의 의무기록을 후향적으로 검토하였다. HBsAg의 자연소실이 확인된 환자에서 혈액 채취 및 간조직검사를 시행하였다. PCR법을 시행할 때 사용한 primer는 S gene을 포함하는 5'–GTCCTCTAATTCCAGGATC-3'(sense, 473-492), 5'-GATGCTGTACAGACTTGG-3'(anti-sense, 761-778)였다.

대상 환자는 총 430예(남자 ; 268예, 여자 ; 162예)로 평균 연령은 48.5 ± 10.2세(22세 ~ 74세)였다. 추적 관찰 기간 중 49예(11.4%)에서 HBsAg이 자연소실 되었으며, 이중 29예(59.2%)에서 anti-HBs가 양성화되었다. HBsAg이 자연소실된 환자 중 1예에서 HBsAg의 자연소실이 확인된 후 원발성 간암이 발견되었다. 또한, HBsAg이 양성인 시기에 시행한 간조직검사상 만성간

염이었으나 HBsAg이 자연소실된 후에는 임상적으로 간경변증으로 진행된 경우가 2예 있었다. HBsAg의 자연소실과 연령, 성별, 가족력, 환자의 임상양상, 원발성 간암의 병력, 그리고 생화학적 간염활성도에 따른 관련성은 통계학적으로 유의한 관계가 없었다. HBsAg의 자연소실 확인 후 평균 2.1개월(1-5개월)에 15예에서 간조직검사를 시행하였으며, 소엽내 간염활성은 정도는 미미하지만 여전히 남아있으며, 문맥/문맥주변부 간염활성은 거의 없었고, 섬유화 진행 정도는 다양한 정도로 관찰되었다. HBsAg이 자연소실된 후 13예의 혈청과 간조직검사를 시행한 15예의 간조직에서 PCR법으로 HBV DNA의 존재 유무를 확인하였는데 혈청에서는 일반적인 PCR법으로는 HBV DNA를 확인할 수 없었으나 template와 PCR cycle 수를 증가시켰을 경우 HBV DNA를 확인할 수 있었다. 즉, 혈청에서는 PCR법으로 검출할 수 있는 검출한계 정도의 HBV DNA를 확인할 수 있었다. 간조직에서도 PCR법을 시행한 15예 모두에서 HBV DNA를 검출할 수 있었다.

HBV 만성 감염의 자연 경과 중 비증식기에 HBsAg의 자연소실이 일부에서 생길 수 있으며, 이와 같은 경우에도 간을 비롯한 체내에는 적은 양이지만 HBV DNA가 여전히 존재하며, 간조직

검사상 간세포의 손상 정도는 HBsAg이 양성인 시기에 비해 호전되지만 미미한 정도의 간염활성은 계속 남아있음을 확인할 수 있었다.

핵심되는 말 : HBV 만성 감염, 표면항원의 소실, 간조직학적 소견

표면항원이 소실된 만성 B형 간질환 환자의 간조직학적 소견

<지도교수 **전 재 윤**>

연세대학교 대학원 의학과

박 준 용

I. 서 론

B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus, HBV)는 우리나라에서 급성 간염 뿐만 아니라, 만성 간염, 간경변증 및 원발성 간암의 가장 흔하고 중요한 원인이다. 우리나라 성인 인구에서 B형 간염 바이러스 표면항원(Hepatitis B surface antigen ; HBsAg)의 양성률은 보고자마다 다소 차이가 있기는 하지만 최근에는 5 6 % 정도로 보고하고 있다.[1] 만성 B형 간염의 치료 목표는 B형 간염 바이러스의 활동을 중지시키고 간질환을 호전시켜 궁극적으로 만성 간질환의 진행을 막아 합병증 예방과 사망률의 감소

및 삶의 질을 향상시키는데 있다.[2]

우리나라는 HBV 감염이 주로 주산기나 초기 학동기에 발생하여 만성 감염으로 이행하는 확률이 높으며, 이와 같은 환자들의 임상양상은 무증상 HBsAg 보유자, 만성 B형 간염, 간경변증 및 원발성 간암까지 다양하게 나타난다. 이와 같은 다양한 임상 양상에는 바이러스와 환자 사이의 여러가지 요인, 특히 환자의 면역 상태가 깊이 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.[3] 즉, HBV 감염 후 나타나는 염증 반응은 환자의 면역 상태에 따라 변화되는데 면역관용기, 면역제거기, 비증식기에 따라, 또한 바이러스의 증식 상태에 따라 나타나는 환자의 반응은 달라지게 되며, 이에 따라 환자의 경과도 달라지게 된다.[4]

일반적으로 혈청 Hepatitis B e antigen(HBeAg) 양성 상태는 B형 간염 바이러스가 활발히 복제하고 있다는 것을 의미하며, 혈청에서 HBV DNA도 양성인 경우가 많다. HBV 만성 감염의 임상경과 중 HBeAg이 양성에서 음성으로 그리고, anti-HBe가 양성으로 혈청전환이 일어나면 HBV DNA가 소실되고 염증의 정도도 감소되면서[5,6] 비증식기로 이행하게 된다. 이 비증식기에 HBsAg의 자연소실이 일어나기도 하는데, 우리나라와 같이 HBV

감염이 주로 주산기나 초기 학동기에 발생하는 중국이나 일본에서는 HBsAg의 소실률이 연간 0.1~0.8%[7-9]로 서구의 0.4~2.0%보다 낮게 보고되고 있다.[10,11] HBV 만성 감염 환자의 혈청에서 HBsAg의 소실은 생화학적 그리고 조직학적으로 HBV 감염으로부터의 관해를 의미한다고 하였다.[12] 과거에는 HBV 만성 감염에 있어서 HBeAg이 anti-HBe로 음전되고 HBV DNA가 소실된 후 HBsAg 소실 및 간효소치가 정상화되면 B형 간염 바이러스가 체내에서 완전히 제거된 것으로 인식되었다. 그러나, 최근에 분자생물학적 진단 방법의 발달로 인하여 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction ; PCR)등을 이용하여 HBsAg이 소실된 환자의 혈청 및 간조직에서 HBV DNA가 검출되었다는 보고가 있다.[13-17] 또한 HBsAg은 음성이나 HBV DNA가 양성인 경우 그 전염력이 증명된 예가 드물게 보고되고 있으며 HBsAg 음성인 환자에서 간이식후 HBV 감염의 재발의 예가 보고되고 있다.[12] 그러나, 현재까지 국내에서는 HBsAg이 소실된 환자에 대한 연구가 거의 보고되지 않은 실정으로 이는 HBsAg의 자연소실이 적은 것에 기인한 것으로 생각된다.

이에 본 연구에서는 HBV 만성 감염의 자연 경과 중 비증식기

로 이행되었다고 판단되는 환자를 대상으로 혈청내 HBsAg의 소실률과 HBsAg의 자연소실 후 간조직학적 소견을 알아보고, HBsAg이 소실된 후 환자의 혈청과 간조직에서 PCR법을 이용하여 HBV DNA 존재 여부를 확인하고 이에 대한 의미를 고찰하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

가. 환 자

2001년 10월부터 2002년 3월말까지 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원에 내원하여 비교적 규칙적으로 경과 관찰하였으며, 과거병력상 바이러스성 간염 표지자 검사에서 HBsAg이 양성인 환자 중 HBeAg이 최소 1년 이상 음성이고 간효소치가 상위 정상치의 1.5배 이내인 환자를 대상으로 하였다. 과거력상 약물복용이나 알코올 섭취가 간기능에 영향을 줄 수 있다고 판단되는 환자와 인터페론 요법이나 다른 항바이러스 요법을 시행하였던 환자는 제외하였다.

나. 진단기준

무증상 HBsAg 보유자는 특별한 자각증상이 없고 간종대가 없으며, 혈청검사상 간효소치가 지속적으로 정상으로 유지된 경우로 하였고, 만성 B형 간염은 6개월이상 HBsAg이 혈중에 존재하면서 추적 관찰 기간동안의 혈청검사상 간효소치가 상승한 적이 있거나, 간조직검사에서 만성 간염의 소견을 보였던 경우로

정의하였다. 간경변증은 복강경검사나 수술소견상 간경변증의 소견이 있거나, 간조직검사상 조직학적으로 간경변증이 진단된 경우, 복부 초음파검사에서 간경변증의 소견이 있는 경우, 상부 소화관 내시경 검사상 정맥류가 관찰된 경우로 진단하였다. Child-Pugh 분류법에 따라 간경변증의 진행 정도를 판정하고 분류하였다. 원발성 간암은 병리학적으로 간암으로 진단된 경우나 영상진단 소견상 간에 종괴가 관찰되며, 알파 태아단백(alpha-fetoprotein:aFP)이 400 ng/ml 이상인 경우, 간동맥 조영술상 전형적인 원발성 간암의 소견을 보였던 경우로 정의하였다.

대상 환자들을 과거 혈청 간효소치의 변화에 따라 상위 정상치의 3배 이상 증가된 적이 있는 경우를 생화학적 간염활성군으로, 상위 정상치의 3배 이하로 지속된 경우를 생화학적 간염비활성군으로 구분하였다.

2. 연구 방법

본 연구는 전향적인 연구로 진행하였으며, 대상 환자들의 의무기록을 후향적으로 검토하여 가족력, 바이러스성 간염 표지자 상태, 생화학적 간기능검사 소견, 추적 관찰 기간을 조사하였다.

HBsAg이 자연소실된 환자 중 일부에서 복강경검사하 간조직검사 또는 초음파유도하 간조직검사를 시행하였다.

가. 혈청학적 검사

B형 간염 바이러스의 혈청학적인 표지자인 HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg, anti-HBe는 효소면역측정법(Behringwerke, Marburg, Germany)을 이용하였고, 생화학적 간기능검사는 sequential multiple autoanalyzer (Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하였다. 간기능검사 중 aspartate aminotransferase(AST)의 정상치는 13-34 IU/L, alanine aminotransferase(ALT)의 정상치는 5-46 IU/L로 하였다. 혈청 HBV DNA의 정량적 검사는 molecular hybridization 방법을 이용한 DML 2000TM Luminometer(Digene Diagnostics Inc., Silver Spring, Maryland, U.S.A)로 시행하였으며 검출한계는 0.5 pg/ml였다.

나. 간조직 염색

HBsAg이 양성인 시기에 10예에서, HBsAg이 소실된 후에는 15예에서 간조직검사를 시행하였다. 복강경검사하 간조직검사 또는 초음파유도하 간조직검사를 통해서 생검한 간조직 검체를

10% 포르말린용액에 고정한 후 파라핀으로 포매한 조직을 이용하여 hematoxyline-eosin 염색과 Masson's trichrome 염색을 시행하여 조직학적 진단을 하였다.

다. 만성 간염의 분류 (Table 1,2)

만성 간염의 조직학적 진단은 대한병리학회 소화기병연구회에서 제안한 새로운 만성 간염의 분류법을 사용하여, 간염활성 등급과 섬유화 진행 정도를 나누어 기술하였다. 간염활성 등급은 다시 소엽내 간염활성(lobular activity)과 문맥/문맥주변부 간염활성(porto-periportal activity)으로 나누어 기술하였다.

Table 1. Grading of Chronic Hepatitis proposed by the Korean Study Group for Pathology of Digestive Disease

Lobular activity	Porto-peiportal activity	Score	Descriptive disease
No necrosis	< mild portal inflammation	0	None
Sinusoidal lymphocytosis with or without 1 or less necrosis per 10× objective field	> mild portal inflammation with or without focal PMN in few portal tracts	1	Minimal
2-5 necrosis per 10× objective field	PMN, focal in some or most portal tracts or PMN, aound < 50% of a few portal tracts	2	Mild
6-20 necrosis per 10× objective field	PMN around < 50% of most portal tracts	3	Moderate
More than 20 necrosis per 10× objective field or confluent necrosis (Zone 3)	PMN around > 50% of most portal tracts or septal surfaces	4	Severe

PMN : piecemeal necrosis

Table 2. Staging of Chronic Hepatits proposed by the Korean Study Group for Pathology of Digestive Disease

Definition	Score	Descriptive disease
Normal connective tissue	0	No fibrosis
Fibrous portal expansion	1	Portal fibrosis
Periportal fibrosis with short septa extending into lobules or rare porto-portal septa (intact architecture)	2	Periportal fibrosis
Fibroussepta reaching adjacent portal tracts and THV (architectural distortion but but no obvious cirrhosis)	3	Septal fibrosis
Diffuse nodular formation	4	Cirrhosis

라. 간세포내의 HBsAg 및 HBcAg에 대한 면역조직화학염색

파라핀에 고정되어 있는 조직을 4-5 ㎛ 두께로 절편을 만들어 슬라이드에 부착시키고 1시간 이상 60℃에서 가온한 후 xylene과 100%, 90%, 70% 알코올로 탈파라핀 및 조직탈수를 시켰다. 3% 과산화수소에 10분간 담가 내인성 peroxidase와의 반응을 차단하였다. HBsAg과 HBcAg에 대한 면역조직화학염색은 상품화된 DAKO LSAB Plus KIT(DAKO Corp., 6392 Via Real, Carpinteria, U.S.A)를 이용하였다. 항원의 간조직내 발현을 위해 HBsAg에 대한 1차 항혈청(mouse anti-HBsAg)과 HBcAg에 대한 1차 항혈청(rabbit anti-HBcAg)을 실온에서 1시간에서 2시간 동안 반응시킨 후 2차 연결항체(biotinylated link antibody)로 실온에서 30분간 반응시켰다. 이후 peroxidase-conjugated

streptavidin을 결합시킨 후, AEC(aminoethylcarbazole)를 도포하여 발색하고 hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

마. 혈청내 HBV DNA의 추출

HBsAg이 자연소실된 후 복강경검사하 간조직검사를 시행한 환자 중 채혈이 가능하였던 13예에서 채혈을 하여 혈청을 분리하였다. 대상군의 혈청에서 HBV DNA의 추출은 상품화된 MIPSafe™ Blood Mini Sample Kit(Genotein(주), 대전, Korea)를 이용하여 지침서대로 시행하였다.

바. 간조직에서 HBV DNA 추출

파라핀 블록으로 보관중인 간조직을 절편으로 만들어 xylene과 100% 알코올을 이용하여 탈파라핀 및 균질화시킨 후 HBV DNA를 추출하였다. 간조직에서의 HBV DNA 추출은 상품화된 MIPSafe™ Tissue Mini Kit(Genotein(주), 대전, Korea)를 이용하여 지침서대로 시행하였다

사. Primer쌍의 합성

Primer는 S gene을 포함하는 5'–GTCCTCTAATTCCAGGATC-3'(sense, 473-492), 5'-GATGCTGTACAGACTTGG-3'(anti-sense, 761-778)이었고, primer의 제조는 COSMO GENETECH㈜ (서울, Korea)에 제작 의뢰하였다.

아. 중합효소연쇄반응을 이용한 HBV DNA의 검출

PCR법을 이용하여 HBV DNA를 증폭하였다. 환자에서 추출한 혈청 HBV DNA 1 μℓ에 sense primer 0.5 μℓ, antisense primer 0.5 μℓ, dNTP 2 μℓ, 10X buffer 5 μℓ, Taq DNA polymerase(Ex Taq) 0.2 μℓ를 혼합하여 thermal cycler에서 95℃에서 1분, 55℃에서 1분, 72℃에서 1분의 과정을 35회 반복하였다. 증폭된 DNA를 2% agarose gel에 전기영동시킨 후 320bp의 DNA 띠를 gel상에서 확인하였다. 증폭 산물 크기의 DNA 띠가 관찰되지 않는 경우에는 혈청 HBV DNA 3 μℓ로, PCR cycle을 40회로 증가시켜 2차 PCR을 시행하였다. 간조직에서 추출한 HBV DNA도 혈청과 마찬가지 방법으로 PCR을 시행하였다.

자. 통계학적 처리

모든 결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었고, 통계처리는 개인용 컴퓨터 통계 프로그램 SPSS for Windows 10.0을 이용하였다. 비교는 Unpaired sample *t*-test와 Chi-square analysis에 의해 통계학적 검증을 거쳐 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

III. 결 과

1. 대상 환자의 임상적 특성 (Table 3)

환자 430예를 대상으로 하였으며 이들의 평균 연령은 48.9 ± 10.2세(22 ~ 74세)였다. 이중 40세 이상은 350예(81.0%)였다. 남자는 268예(62.3%)였으며, 여자는 162예(37.7%)였다.

임상양상에 따라 무증상 HBsAg 보유자 86예(20.0%), 만성 B형 간염 181예(42.1%), 간경변증 163예(37.9%)였고, 원발성 간암의 병력이 있는 경우가 30예(7.0%)였다. AST는 28.8 ± 9.7 IU/L(12 ~ 51 IU/L)이고, ALT는 30.9 ± 14.7 IU/L(8 ~ 69 IU/L)였으며, 대상군의 평균 추적 기간은 83.2 ± 59.4개월(3-251개월)이었다.

.

Table 3. Clinical Characteristics of 430 chronic HBsAg carriers on enrollment

Characteristics	Patients (n=430)	
	No.	%
Age in years[1](range)	48.9 ± 10.2 (22-74)	
Sex		
Male	268	62.3
Female	162	37.7
Family history		
Positive	193	44.9
Negative	237	55.1
Clinical status		
Asymptomatic HBsAg carrier	86	20.0
Chronic hepatitis	181	42.1
Liver cirrhosis Child-Pugh A	136	31.6
Liver cirrhosis Child-Pugh B	27	6.3
Hepatocellular carcinoma	30	7.0
Anti-HBs		
Positive	54	12.6
Negative	376	87.4
AST[1](range)	28.8 ± 9.7 IU/L (12-51)	
ALT[1](range)	30.9 ± 14.7 IU/L (8-69)	
Follow-up period in months[1]	83.2 ± 59.4 (3-251)	

[1] Data values are expressed as means ± SD

anti-HBs, Hepatitis B surface antibody;

AST, aspartate aminotransferase ; ALT, alanine aminotransferase

2. B형 간염 표면항원의 자연소실

가. 소실률

대상 환자 430예 중 49예(11.4%)에서 추적 관찰 기간 중 HBsAg이 자연소실되었고, 이중 29예(59.2%)에서 anti-HBs가 양성화되었다. Anti-HBc는 49예 모두(100%)에서 양성이었다.

나. HBsAg이 양성인 군과 HBsAg이 자연소실된 군 사이의 임상적 특성 비교 (Table 4)

HBsAg이 자연소실된 49예 중 남자는 36예, 여성은 13예이었으며 평균 나이는 50.0 ± 10.0세였다. 무증상 HBsAg 보유자 86예 중 10예(11.6%), 만성 B형 간염 환자 181예 중 18예(9.9%), 간경변증 환자 163예 중 21예(12.9%)에서 HBsAg이 자연소실되었다. HBsAg이 자연소실된 49예 중 원발성 간암의 병력이 있었던 경우는 5예 있었으며, 이중 4예는 HBsAg이 양성인 시기에 원발성 간암을 진단받았으나, 1예는 HBsAg의 자연소실이 확인된 후에 원발성 간암이 발견되었다(case 10).

HBsAg이 양성인 군과 HBsAg이 자연소실된 군 사이에는 성별, 연령, 가족력, 환자의 임상 양상, 원발성 간암의 병력, 생화학적 간염활성도에 따른 통계학적인 유의한 차이는 없었다.

Table 4. Patients data with or without detecable serum HBsAg

Characteristics	HBsAg (+) (n=381)	HBsAg (-) (n=49)	*P*
M / F	232 / 149	36 / 13	0.087
Age in years[1](range)	48.3 ± 10.3 (22-74)	50.0 ± 10.0 (27-72)	0.286
< 40	74 (19.4%)	6 (12.2%)	0.224
≥ 40	307 (80.6%)	43 (87.8%)	
Family history			
` Positive	173 (45%)	20 (40.8%)	0.543
Negative	208 (55%)	29 (59.2%)	
Clinical status			0.679
Asymptomatic HBsAg carrier	76 (19.9%)	10 (20.4%)	
Chronic hepatitis	163 (42.8%)	18 (36.7%)	
Liver cirrhosis Child-Pugh A	118 (31.0%)	18 (36.7%)	
Liver cirrhosis Child-Pugh B	24 (6.3%)	3 (6.2%)	
Hepatocellular carcinoma	25 (6.6%)	5 (10.2%)	0.346
Biochemical hepatitis activity			0.359
Active	168 (44.1%)	25 (51.0%)	
Inactive	213 (55.9%)	24 (49.0%)	
AST[1] (IU/L)	29.1 ± 9.7	26.2 ± 9.3	0.07
ALT[1] (IU/L)	31.4 ± 14.8	26.8 ± 13.0	0.06

[1] Data values are expressed as means ± SD

anti-HBs, Hepatitis B surface antibody;

AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

다. 대상군에서 시행한 간조직학적 소견 (Table 5)

대상 환자 430예 중 10예에서 병력상 HBsAg이 양성인 시기에 간조직검사를 시행하였으며, HBsAg의 자연소실을 확인하였던 49예 중 15예에서 HBsAg이 소실된 후에 간조직검사를 시행하였다. 이중 5예는 HBsAg 소실 전,후에 모두 간조직검사를 시행하였다.

HBsAg이 양성인 시기에 간조직검사를 시행하였던 10예 중 2예는 당시에 이미 간경변증 상태이었으며, HBsAg이 양성인 시기에 시행한 간조직검사상 만성간염이었으나 HBsAg이 자연소실된 후에는 임상소견상 간경변증으로 진행된 예가 2예 있었다.

HBsAg이 소실된 후의 간조직검사는 HBsAg의 자연소실 확인 후 평균 2.1개월(1~5개월)에 시행하였으며 임상양상에 따라 2예는 무증상 HBsAg 보유자, 13예는 만성 B형 간염 상태였다. HBsAg이 소실된 후에 시행한 간조직검사 소견상 3예는 소엽내 간염활성이 없었지만 그외의 대부분의 환자에서 소엽내 간염활성은 정도는 미미하지만 여전히 남아있었다. 문맥/문맥주변부 간염활성은 3예를 제외한 나머지 예에서는 관찰할 수 없었다. 섬유화의 진행정도는 stage 0 3까지 다양한 정도로 관찰되었다. 문

맥/문맥주변부 간염활성을 보인 3예 중 1예는 임상적, 조직학적으로 비알코올성 지방간염과 혼재되어 있는 상태로 소엽내 감염활성도 grade 3이었다(case 8).

동일한 조직을 이용하여 시행한 면역조직화학 염색에서는 15예 모두에서 HBsAg과 HBcAg이 발현되지 않았다.

Table 5. Comparison of Liver histology and Laboratory data between liver biopsies before HBsAg loss and after HBsAg loss

Case No.	Liver histology						AST/ALT level (at biopsy, IU/L)		HBeAg/anti-HBe status (at the time of liver biopsy before HBsAg loss)	Time of biopsy after HBsAg loss (mon)	Clinical diagnosis (after HBsAg loss)	After HBsAg loss (at biopsy)			
	Before HBsAg loss			After HBsAg loss			Before HBsAg loss	After HBsAg loss				Immunohistochemical staining		HBV DNA quantitation (pg/ml)	Anti-HBs status
	a	b	c	a	b	c						HBsAg	HBcAg		
1	2	1	2	1	0	2	78/49	20/15	(-) / (+)	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(+)
2	3	4	2	1	0	2	94/248	20/15	(+) / (-)	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	Not tested	(+)
3	1	1	1	0	0	0	20/22	19/13	(-) / (+)	2	Asymptomatic carrier	(-)	(-)	< 0.5	(+)
4	3	4	2	1	0	2	78/191	19/28	(+) / (-)	5	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(+)
5	3	3	2	1	0	2	43/70	14/9	(-) / (+)	2	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(-)
6	No biopsy			1	0	3	·	27/33	·	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	Not tested	(+)
7	No biopsy			1	2	3	·	20/21	·	2	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(+)
8	No biopsy			3	2	2	·	50/69	·	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	Not tested	(+)
9	No biopsy			1	0	2	·	53/27	·	5	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(-)

10	No biopsy			1	0	2	·	23/15	·	2	Chronic hepatitis	(-)	(-)	Not tested	(+)
11	No biopsy			1	0	1	·	17/19	·	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	Not tested	(-)
12	No biopsy			2	0	2	·	23/17	·	1	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(-)
13	No biopsy			0	0	0	·	20/28	·	2	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(-)
14	No biopsy			1	0	2	·	17/12	·	3	Chronic hepatitis	(-)	(-)	< 0.5	(+)
15	No biopsy			0	1	0	·	35/51	·	1	Asymptomatic carrier	(-)	(-)	< 0.5	(-)
16	2	3	3	No biopsy			·	22/27	·	(-) / (+)	·	Liver cirrhosis A[1]	·	·	·	(+)
17	3	1	1	No biopsy			·	20/22	·	(-) / (+)	·	Chronic hepatitis	·	·	·	(-)
18	2	3	4	No biopsy			·	76/79	·	(+) / (-)	·	Liver cirrhosis A[1]	·	·	·	(+)
19	2	1	2	No biopsy			·	150/96	·	(+) / (-)	·	Liver cirrhosis A[1]	·	·	·	(+)
20	2	3	4	No biopsy			·	45/76	·	(+) / (-)	·	Liver cirrhosis A[1]	·	·	·	(-)

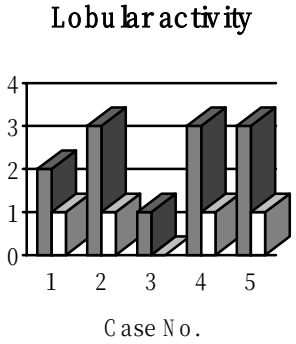
a. Lobular activity, b. Porto -periportal activity, c. Fibrosis

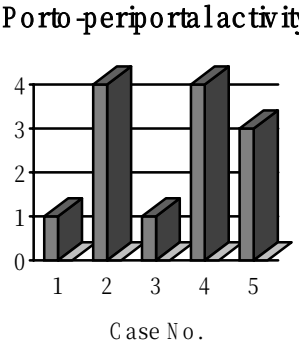
[1] Child -Pugh Classification A

라. HBsAg 자연소실 전후의 간조직학적 소견 비교

(Figure 1,2)

HBsAg이 소실되었던 환자 중 HBsAg의 소실 전후에 모두 간조직검사를 시행한 5예의 HBsAg 소실 전후의 간조직검사 소견을 비교하였다. HBsAg이 소실된 이후에 시행한 조직검사 소견은 HBsAg이 양성이었던 시기에 비하여 소엽내 간염활성, 문맥/문맥주변부 간염활성이 모두 호전되었다. 섬유화의 진행정도는 1예에서 stage 1에서 HBsAg이 소실된 이후에 정상 소견으로 호전되었으며, 나머지 4예에서는 전후 차이를 보이지 않았다.





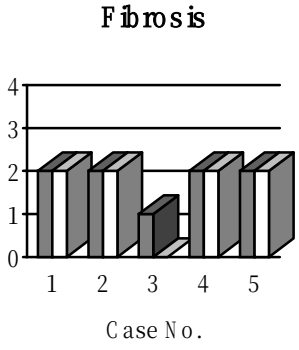


Figure 1. Comparison of liver histology between liver biopsies before HBsAg loss and after HBsAg loss
■ : Before HBsAg loss
□ : After HBsAg loss

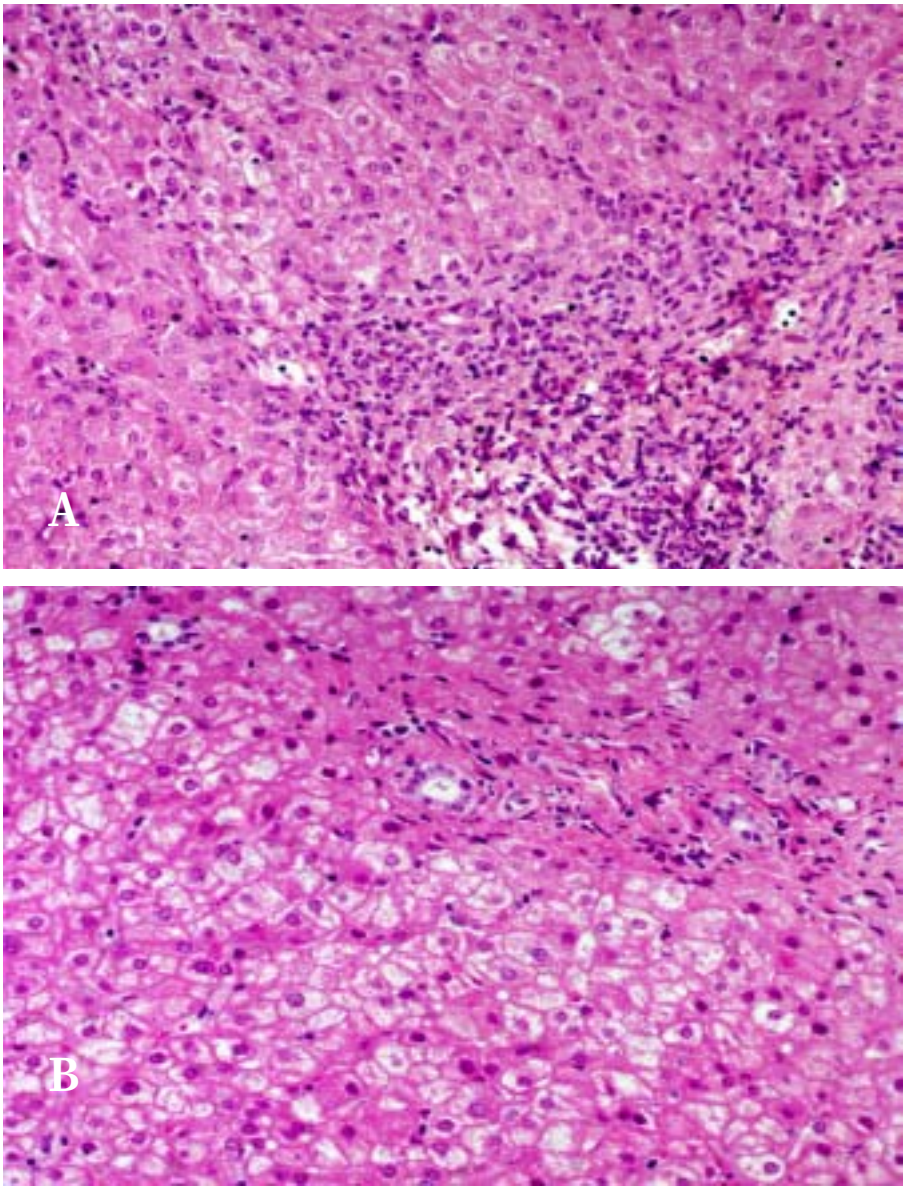


Figure 2. Comparison of liver histology between liver biopsies before HBsAg loss and after HBsAg loss of Case 2. (A) Before HBsAg loss. Chronic hepatitis with minimal lobular activity(3/4), no portoperiportal activity(4/4) and periportal fibrosis(2/4). (B) After HBsAg loss. Chronic hepatitis with minimal lobular activity(1/4), no portoperiportal activity(0/4) and periportal fibrosis(2/4).

마. HBsAg 자연소실 후 PCR법을 이용한 혈청과 간조직에서의 HBV DNA 검출 (Figure 3,4)

HBsAg의 자연소실 후 간조직검사를 시행한 15예의 간조직과 이중 채혈이 가능하였던 13예에서 채혈한 혈액에서 혈청을 분리, PCR법을 시행하여 HBV DNA의 존재 유무를 확인하였다.

혈청 HBV DNA 1 μℓ를 template로 하고 PCR cycle 수를 35회로 한 1차 PCR에서는 HBV DNA를 모든 예에서 확인할 수 없었다. 반면에 혈청 HBV DNA를 3 μℓ, PCR cycle 수를 40회로 증가시켜 시행한 2차 PCR에서는 13예 모두에서 HBV DNA띠를 확인할 수 있었다.

혈청에서 HBsAg이 자연소실된 환자의 간조직에서 시행한 PCR법에서는 15예 모두에서 HBV DNA를 1차 PCR에서 검출하였다.

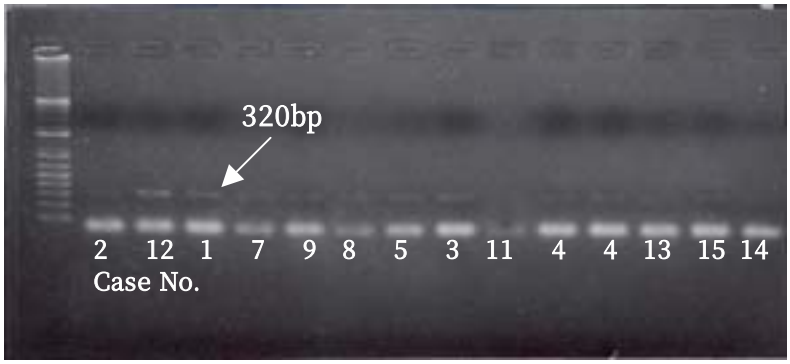


Figure 3. Detection of HBV DNA in the serum of patients with HBsAg loss (template HBV DNA 3 μℓ, PCR cycle 40)

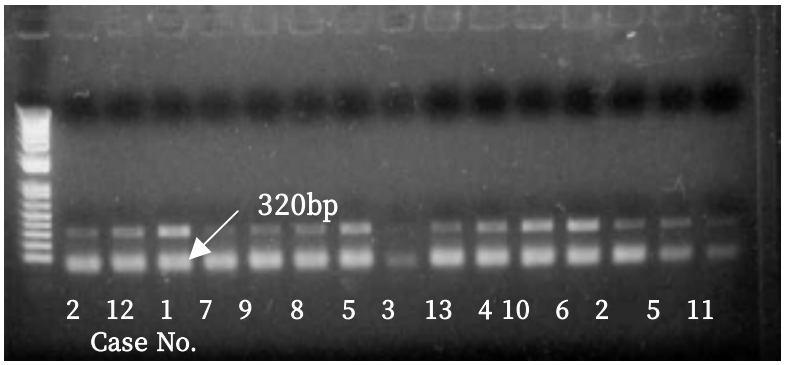


Figure 4. Detection of HBV DNA in the liver tissue of patients with HBsAg loss

Ⅳ. 고 찰

B형 간염 바이러스 만성 감염의 자연 경과 중 HBsAg의 자연 소실은 매우 드문 것으로 알려져 있다.[7,8,9,16,17] 주로 성인에서 B형 간염 바이러스 감염이 발생하는 서구의 경우에는 HBsAg의 소실률이 연간 0.4 ~ 2.0%로 보고되고 있으나,[10,11] 만성 B형 간염의 만연 지역으로 그 감염이 주로 주산기나 초기 학동기에 발생하는 동북아시아에서는 연간 0.1 ~ 0.8%로 서구의 경우보다 상대적으로 낮게 보고되고 있다.[7,8,9] 본 연구에서는 그 대상을 HBeAg이 최소 1년 이상 음성이고 간효소치가 상위 정상치의 1.5배 이내로 거의 정상으로 유지되고 있어 HBV가 비증식기 상태에 있다고 판단되는 만성 HBsAg 보유자로 국한하여 HBsAg의 소실률을 조사하였다. 대상군 430예 중 49예(11.4%)에서 추적 관찰 기간 중 HBsAg이 자연소실되었고, 이중 29예(59.2%)에서 anti-HBs가 양성화되었다. 기존의 연구[7,8,9,10,11,18]와 비교하여 비교적 높은 빈도를 보이고 있으나, 이는 만성 B형 간염 바이러스 보유자 중 그 대상을 비증식기에 있다고 판단되는 환자로 제한하였기 때문으로 생각된다. 그러나, HBsAg의 자연소실은

HBV 감염의 자연 경과 중 바이러스의 증식이 현저히 감소하고, HBeAg이 소실되어 있는 비증식기에 발생하므로 본 연구에서와 같이 그 연구대상을 제한하여 HBsAg의 자연소실률을 보는 것이 더욱 더 실제적이라 할 수 있다. 또한, 과거력상 HBsAg 양성 판정을 받은 환자일지라도 비증식기, 즉 오랜기간동안 HBeAg/HBV DNA가 음성이며 간효소치가 비교적 정상으로 유지되는 상태에서는 HBsAg/anti-HBs를 측정하여 B형 간염 바이러스 표지자 상태를 확인해 보는 것이 필요하다.

기존의 연구에서는 고령[7,19], 만성 간염에서 보다는 무증상 HBsAg 보유자에서, 만성 간염 환자 중에서는 간경변증으로 진행하는 환자에서[7] 그리고, 여성[20]에서 HBsAg의 자연소실이 더 잘 발생한다고 보고하고 있으나, 본 연구에서는 그와 같은 소견은 없었다. 그외에도 가족력 유무, 원발성 간암의 병력, 생화학적 간염활성도에 따른 관련성도 없었다.

HBsAg의 자연소실을 확인하였던 49예 중 15예(2예;무증상 HBsAg 보유자, 13예;만성 B형 간염)에서 HBsAg 소실 후 평균 2.1개월(1~5개월)에 간조직검사를 시행하였다. 비록 HBsAg이 소실된 정확한 시점을 판정할 수 없었으므로 조직검사 결과를

해석하는데 다소 어려움이 있지만 조직학적 소견상 대부분의 환자에서 소엽내 간염활성은 미미하지만 여전히 남아있었으며, 문맥/문맥주변부 간염활성은 3예를 제외한 나머지 예에서는 모두 관찰할 수 없었다. 문맥/문맥주변부 간염활성을 보인 3예 중 1예는 임상소견 및 조직학적 소견상 만성 B형 간염과 비알코올성 지방간염이 혼재되어 있는 상태였다. 섬유화의 진행정도는 stage 0 3까지 다양한 정도로 관찰되었다. 이는 기존의 연구[9,11,13,21]들과 유사한 소견이다. 즉, HBsAg이 소실된 후에도 적은 양이기는 하지만 간세포의 손상을 관찰할 수 있다. 또한, HBsAg이 소실되었던 환자 중 HBsAg이 양성인 시기에도 조직검사를 시행하였던 5예의 HBsAg 소실 전후의 간조직검사 소견을 비교하였을 때, HBsAg이 소실된 이후에 시행한 조직검사 소견이 HBsAg이 양성이었던 시기에 비하여 소엽내 간염활성, 문맥/문맥주변부 간염활성이 모두 호전되었다. 섬유화의 진행정도는 1예에서 HBsAg이 양성이었던 시기에는 stage 1이었으나, HBsAg이 소실된 이후에 정상 소견으로 호전되었으며, 나머지 4예에서는 전후 차이를 보이지 않았다. 대한병리학회 소화기병리연구회에서 제안한 등급체계에서 소엽내 간염활성은 간조직검사 당시의 간세포의

손상 정도를 가장 잘 나타내는 지표로, 문맥/문맥주변부 간염활성은 간염활성 뿐만 아니라 섬유화 또는 간경변증으로 진행을 예측하는 지표로, 섬유화 진행정도는 만성 간염에서 간경변증으로의 진행단계 중 어느 시기에 있는지를 나타내는 지표로 제시하였던 점을[22-24] 고려하였을 때, HBsAg이 소실된 이후에 간세포의 손상 정도는 호전 소견을 보였으나 미미한 정도의 염증 소견은 여전히 남아있으며 그러나, 문맥/문맥주변부 간염활성은 거의 없어지고, 섬유화의 정도는 HBsAg이 양성이었던 시기에 비하여 더 진행하지는 않은 것을 확인할 수 있었다. 그러나, 이러한 결과를 해석하는 데에 있어 유의해야할 점은 HBsAg 소실 전 조직검사 시행시기가 만성 B형 간염의 임상경과 중 어느 시기에 있는지, 그리고 HBsAg 소실 시점과 조직검사를 시행한 시점과의 차이가 어느 정도인지를 고려해야 할 것이다.

PCR법은 극소량의 바이러스 DNA를 검출할 수 있는 매우 예민한 검사법으로 PCR법을 이용하면 10^{-5} pg의 HBV입자만 있어도 측정이 가능하다.[25] 극소량의 HBV DNA를 직접 검출할 수 있는 방법이 도입됨으로써 간질환을 이해하는데 많은 도움을 얻게 되었다.

본 연구에서는 HBsAg이 소실되었던 환자 중 HBsAg이 소실된 후 간조직검사를 시행한 환자에서 혈액을 채혈할 수 있었던 13예의 혈청에서 PCR법으로 HBV DNA를 측정하였으며 template를 혈청 HBV DNA 1 μℓ로, PCR cycle 수를 35회로 하는 경우에는 13예 모두에서 혈청에서는 HBV DNA가 검출되지 않았으나, template를 3 μℓ로 PCR cycle 수를 40회를 증가시켜서 시행한 2차 PCR에서는 13예 모두에서 HBV DNA가 검출되었다. 간조직에서 시행한 PCR법에서는 HBsAg의 자연소실후 간조직검사를 시행한 15예 모두에서 HBV DNA를 1차 PCR에서 검출하였다. 즉, HBsAg이 자연소실되었음에도 불구하고 간을 비롯한 체내에서는 비록 적은 양이기는 하지만 HBV DNA가 여전히 존재함을 의미한다. 실제로 국외에서 진행된 연구[13-17]를 보면 PCR법을 이용하여 HBsAg이 소실되었던 만성 B형 간염 환자들의 혈청에서 평균 30~35%(범위:5~70%)에서 HBV DNA를 검출하였으며, 간조직에서는 평균 40~50%(범위:13~100%) 정도에서 HBV DNA가 검출되었다고 보고하고 있다. 또한, 급성 B형 간염을 앓았던 환자에서 회복 후 수십년이 지난 후에도 PCR법을 통해서 혈청, 간, 말초혈액단핵구 세포에서 HBV DNA를 검출할 수

있었다고 한다.[21,26] 즉, 혈청학적 검사에서는 HBsAg이 소실되고 anti-HBs가 생성되었을지라도 B형 간염바이러스 입자가 체내에서 완전히 제거되는 것이 아니라 비록 적은 양일지라도 간을 비롯한 체내에 존재하고 있음을 의미한다. 또한, 혈청에서보다는 간조직에서 HBV DNA 검출이 용이하며 혈청에서는 시간이 지남에 따라 HBV DNA 검출이 감소한다고 알려져 있다.[15,16]

이와 같이 HBsAg이 소실되었음에도 불구하고 HBV DNA가 존재한다는 것이 임상적으로 어떠한 역할을 갖는지에 대해서는 아직 밝혀진 바가 거의 없으며 논란의 여지가 많다. 또한 HBsAg이 소실된 환자의 예후와 추적 관찰에 대해서도 논란이 있다. Chung[27] 등은 HBsAg이 소실된 비대상성 간경변증 환자에서 간기능호전 및 생존율의 증가를 보고하였다. 또한, 유럽의 한 연구에서는 대상성 간경변증 환자 중 HBsAg이 소실된 환자가 HBsAg이 계속 양성인 환자에 비해서 원발성 간암 등의 합병증 발생 위험률이 의미있게 낮았다고 보고하고 있다(3% vs. 11% in 6 years).[28] 그러나, Huo[17] 등은 HBsAg이 자연소실된 만성 B형 간염 환자 55명 중에서 평균 23개월 추적 관찰 기간 동안 18명(32.7%)에서 원발성 간암이나 간경변증, 간부전과 같은 심각한

합병증이 유발되었으며, 45세 이상 또는 남자인 경우 그 위험률이 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서도 72세 남자 환자에서 HBsAg이 자연소실된 후에 원발성 간암이 발견된 예가 1예 (case 10) 있었고, HBsAg이 양성인 시기에 시행한 간조직검사상 만성간염이었으나 HBsAg이 자연소실된 후에는 임상소견상 간경변증으로 진행된 예가 2예 있었다.

이와 같이 HBsAg이 소실되었음에도 불구하고 합병증이 발병하는 것에 대해서는 여러 기전이 제시되고 있다. HBsAg이 소실되기 전에 이미 숙주의 간세포 DNA에 HBV DNA가 융합되어 세포의 유전자 변이를 초래하거나, X 유전자에 의한 유전자 발현 조절 기능의 이상이 발생하여 원발성 간암을 유발한다고 제기되고 있다.[12,29] 또한, HBsAg이 소실되기 전 면역제거기때 기간이 길어지거나 반복해서 또는 심하게 간 손상을 받은 경우 HBsAg이 소실되더라도 간경변증으로 진행할 수 있다.[12] 본 연구에서도 HBsAg 자연소실 후의 조직검사상 섬유화 진행정도는 다양한 정도로 나타난 반면에 문맥/문맥주변부 간염 활성은 거의 없었던 것으로 보아 위의 가설을 뒷받침하는 소견이라고 할 수 있다. 이와 같이 HBsAg이 소실된 환자의 자연 경과, 예후 및 추적 관찰

에 대해서 많은 논란이 있으며 아직 명확하게 밝혀진 바는 없다. 이와 관련하여 HBsAg이 양성으로 계속 유지되는 환자와 비교하여 HBsAg이 소실된 환자의 자연경과와 예후, 원발성 간암의 유병률 등에 대한 장기간적인 그리고 전향적인 연구가 필요하리라 판단된다. 또한, 고령, 남자, 간경변증 등은 독립적으로 원발성 간암의 위험 인자로 이러한 환자에서는 HBsAg이 소실되었을지라도 HBsAg이 양성인 환자와 같은 정기적인 추적 관찰이 필요할 것으로 판단된다.

본 연구에서 혈청 HBsAg이 소실된 환자의 간조직검사 소견상 소엽내 간염활성이 미미하지만 계속 남아있는 것은 지속적으로 B형 간염바이러스 입자가 간내 존재하여 면역반응을 유발시키게 되고, 이 과정에서 B형 간염 바이러스와 면역체계 사이에 평형을 유지하는 것으로 이해할 수 있다. 이때 HBsAg이 소실되었을지라도 HBV는 적은 양이지만 계속 증식을 하게되고 면역기능이 약화되면 재활성화된다.[30] 비록 적은 양이기는 하지만 B형 간염바이러스의 존재가 간내 여러 합병증 유발에 미치는 역할 및 그 임상적 의의에 대한 연구가 필요하리라 판단된다.

HBV DNA가 존재하고 있음에도 불구하고 혈청 HBsAg이 검

출되지 않는 기전으로는 첫번째로 HBsAg의 혈중 농도가 검출 한계 이하로 낮기 때문일 가능성이 있으며, 두번째로 HBsAg의 S 유전자의 'a' determinant에 돌연변이가 일어나 면역중화반응으로부터 회피할 가능성, 세번째로는 HBsAg이 다량 존재하지만 anti-HBs와 면역 복합체를 형성함으로써 기존의 HBsAg 검출법으로는 검출할 수 없는 가능성 등이 제시되고 있다.[12,15,31] 첫번째 가능성과 두번째 가능성은 서로 혼재 될 수 있으리라 생각되며, 두번째 가능성은 임상적으로 중요하여 이에 대해서는 HBV 유전자 염기서열분석을 통해서 확인할 수 있다.[32]

HBV에 의한 간세포 손상은 대체로 바이러스에 의한 직접적인 손상보다는 숙주의 면역체계를 통하여 간접적으로 간세포를 손상시키는 것으로 알려져 있다.[33] 세포성 면역 반응에 관여하는 세포로는 CD8+세포(cytotoxic T-cell)와 CD4+세포(helper T-cell)가 있으며 세포성 면역 반응이 체액성 면역 반응보다 먼저 일어나게 된다. HBV 감염에 의한 간세포의 손상은 감염된 간세포에 대한 CD8+ 세포의 세포용해작용으로 인해서 발생하게 되는 것이다. 이에 대한 표적항원은 HBcAg이 중요한 역할을 담당한다.[34] 이러한 세포성 면역 반응에 뒤이어 HBV를 중화할 수 있

는 anti-HBs가 생성되어 HBV 감염으로부터 회복되게 된다. B형 간염 바이러스의 만성 감염으로의 이행은 세포성 면역 반응은 정상이지만 체액성 면역 반응에서 anti-HBs가 생성되지 않음으로써 지속적인 HBV 감염 및 반복적인 간세포가 파괴되는 것이다. 이는 anti-HBs를 생산할 수 있는 B 림프구 클론이 수적으로나 기능적인 결함에 의한 것으로 보인다.[35,36] 현재 HBsAg이 소실된 환자에서 기존에 결함이 있던 B 림프구 클론의 변화에 대한 연구는 아직 미비한 실정으로 이는 HBsAg의 소실률이 낮은 것에 기인한 것으로 생각되며, 이에 대한 연구를 통하여 B형 간염바이러스 감염의 면역학적 기전을 이해하는데 도움을 얻으리라 판단된다.

결론적으로 HBV 감염의 임상경과 중 비증식기에 HBsAg이 소실될지라도 조직검사소견상 간세포의 손상 정도는 HBsAg이 양성인 시기에 비하여 호전되지만 미미한 정도의 염증 소견은 계속 남아있게 되고 PCR법을 통해 간을 비롯한 혈청에서 HBV DNA가 여전히 존재하는 것을 확인할 수 있었으며, 추후 이러한 환자들의 예후와 추적 관찰에 대한 연구가 필요하리라 판단된다.

V. 결 론

B형 간염 바이러스 감염의 자연 경과 중 비증식기에 해당한다고 판단되는 만성 보유자 즉, HBeAg이 최소 1년 이상 음성이며 간효소치가 비교적 정상으로 유지되는 환자를 대상으로 혈청 HBsAg의 소실률과 HBsAg 소실 후의 간조직학적 소견 그리고, HBsAg이 소실된 후 환자의 혈청과 간조직에서 PCR법을 이용하여 HBV DNA 존재 여부를 확인하고자 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

(1) 대상군은 총 430예(남자;268예, 여자;162예)로 평균 연령은 48.5 ± 10.2세(22세-74세)였다.

(2) 추적 관찰 기간 중 49예(11.4%)에서 HBsAg이 자연소실되었으며, 이중 29예(59.2%)에서 anti-HBs가 양성화되었다.

(3) HBsAg의 자연소실과 성별, 연령, 가족력, 환자의 임상 양상, 원발성 간암의 병력, 그리고 생화학적 간염활성도에 따른 관련성과는 통계학적으로 유의한 관계가 없었다.

(4) HBsAg의 자연소실 확인 후 평균 2.1개월(1~5개월)에 15예에서 간조직검사를 시행하였으며, 소엽내 간염활성은 정도는

미미하지만 여전히 남아있으며, 문맥/문맥주변부 간염활성은 거의 없고, 섬유화 진행 정도는 다양한 정도로 관찰되었다.

(5) HBsAg이 자연소실된 환자 중 1예에서 HBsAg의 자연소실이 확인 된 후에 원발성 간암이 발견되었다.

(6) HBsAg이 양성인 시기에 시행한 간조직검사상 만성간염이었으나 HBsAg이 자연소실된 후에는 간경변으로 진행된 경우가 2예 있었다.

(7) HBsAg이 자연소실된 후 13예의 혈청과 간조직검사를 시행한 15예의 간조직에서 PCR법으로 HBV DNA의 존재 유무를 확인하였으며, 혈청에서는 일반적인 PCR법으로 HBV DNA를 확인할 수 없었으나 template와 PCR cycle 수를 증가시켰을 경우 HBV DNA를 확인할 수 있었다. 즉, 혈청에서는 PCR법으로 검출할 수 있는 검출한계 정도의 HBV DNA를 확인할 수 있었다. 간조직에서도 PCR법을 시행한 15예 모두에서 HBV DNA를 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 HBV 만성 감염의 자연 경과 중 비증식기에 HBsAg의 자연소실이 일부에서 생길 수 있으나 그럼에도 불구하고 간을 비롯한 체내에는 비록 적은 양이지만 HBV DNA가

존재하며, 간조직검사상 간세포의 손상 정도는 HBsAg이 양성인 시기에 비해 호전되지만 미미한 정도의 간염활성은 계속 남아있음을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 주광로, 방성조, 송병철 등. 1990년대 후반 한국 성인의 B 형 간염 바이러스 표지자의 보유 양상. 대한소화기학회지 1999;33:642-652
2. Perrillo RP. Treatment of chronic hepatitis B with interferon : experience in western conturies. Sernin Liver Dis 1989;9:240-248
3. Lee WM. Hepatitis B virus infection. N Eng J Med 1997: 337:1733
4. Chu CM. Natural history of chonic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2000:15suppl:E25-30
5. Ruiz-Moreno M, Otero M, Millan A, Castillo I, Cabrerizo M, Jimenez F. J, et al. Clinical and histological outcome after hepatitis B e antigen to antibody seroconversion in children with chronic hepatitis B. Hepatology 1999;29:572-575
6. Realdi G, Alberti A, Rugge M. Seroconversion from

hepatitis B e antigen to anti-HBe in chronic hepatitis B virus infection. Gastroenterol 1980;79:195-199

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 1991;13:627-631
8. Wu TT, Hsu HC, Chen DS, Sheu JC, Su IJ, Chen Sl, Chuang SM. Clearance of hepatitis B surface antigen(HBsAg) after surgical resection of hepatocellular carcinoma. J hepatol 1987;4:45-51
9. Adachi H, Kaneko S, Matsushita E, Inagaki Y, Unoura M, Kobayashi K. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatits B. Hepatology 1992;16:1334-1337
10. Sampliner RE, Hamilton FA, Iser 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 1979;277:17-22
11. Da Silva LC, De Assis Madruga CL, Carrilho FJ, Pinho JRR, Saez-Alquezar A, Santos C, Bassit L, et al.

Spontaneous hepatitis B surface antigen clearance in a long-term follow-up study of patients with chronic type B hepatitis :lack of correlation with hepatitis C and D virus infection. J Gastroenterol 1996;31:696-701

12. Perrillo RP, Brunt EM. Hepatic histologic and immunohistochemical changes in chronic hepatitis B after prolonged clearance of hepatitis B e antigen and hepatitis surface antigen. Ann Intern Med 1991;115:113-115
13. Fong T-L, DiBisceglie A, Gerber M, Waggoner J, Hoofnagle J. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatits B. Hepatology 1993;18:1313-1318
14. Bréchot C, Thirs V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Bréchot P. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen : Clinically significant or purely occult? Hepatology 2001;34(1):194-203
15. Kuhns M, Mcnamara A, Mason A, Campbell C. Perrillo R. Serum and liver hepatitis B virus DNA in chronic

hepatitis B after sustained loss of surface antigen. Gastroenterol 1992;103:1649-1656

16. Loriot MA, Marcellin P, Walker F, Boyer N, Degott C, Randriaanatoavina I, Benhamou JP, et al. Pesistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. J hepatol 1997;27:251-258
17. Huo TI, Wu JC, Lee PC, Chau GY, Lui WY, Tsay SH. Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. Hepatology 1998;8:231-236
18. 정정조, 배시현, 변병훈 등. 만성 B형 간염 바이러스 보유자에서 표면항원 소실에 대한 후향적 연구. 대한내과학회지 추계학술대회초록집 2001;S80
19. Kato Y, Nakao K, Hamasaki K, Kato H, Nakata K, Kusumoto Y, Eguchi K. Spontaneous loss of hepatitis B surface antigen in chronic carriers, based on a long-term follow-up study in Goto Islands, Japan. J Gastroenterol 2000;35(3):201-205

20. Alward WLM, McMahon BJ, Hall DB, et al. The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. J Infect Dis 1985;151:604-609
21. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self limited infection perdidting for 30 years without sequence variation. J Hepatol 2000;34:992-997
22. 박영년, 김호근, 전재윤 등. 만성 간염의 등급 체계. 대한병리학회지 1999;33:337-346
23. 박찬일. 만성 간염의 새로운 분류법 : 소개와 적용. 대한의사협회지 1998;41:323-339
24. 박병규, 박영년, 한광협 등. 만성 간염의 새로운 등급체계에 따른 만성 B형 간염의 장기간 추적결과. 대한간학회지 2000;6(3):287-300
25. Kaneko S, Miller RH, Feinstone SM, et al. Detection of serum hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis using the polyperase reaction assay. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:312-316
26. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FL. The

hepatitis B virus persist for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. Nat Med 1996;2:1104-1108

27. Chung TM, Lai CL, S.F. Lok A. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. Hepatol 1995;22:25-29
28. Fattovich G, Giustina G, Sanchez-Tapias J, Ouero C, Mas A, Olivotto PG, Soliaas A, et al. Delayed clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B : relation to interferon Alpha therapy and disease prognosis. Am J Gastroenterol 1998;93:896-900
29. Mcmahon BJ. Chronic carriers of hepatitis B virus who clear hepatitis B surface antigen: Are they really off the hook? Hepatol 1998;28(1):265-267
30. Mason AL, Xu L, Guo L, Kuhns M, Perrillo RP. Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen Hepatol 1998;27:1736-1742

31. 윤정환, 이효석, 김정룡. B형 만성 간질환 환자에서 HBsAg 이 검출되지 않는 기전. 대한소화기학회지 1997;30:333-343
32. Blum HE, Liang TJ, Galum E, Wands JR. Persistence of hepatitis B viral DNA after serological recovery from hepatitis B virus infection. Hepatology 1991:14:56-62
33. 이영석. B형 간염바이러스에 의한 면역반응 및 간세포의 손상기전. 대한간학회지 1997;3(3):185-192
34. Tsai SL, Chen MH, Yeh CT. Purification and characterization of a naturally processed hepatitis B virus peptide recognized by CD8+ cytotoxic T lymphocytes. J Clin Invest 1996;97:577-584
35. Trevisan A, Realdi G, Alberti A, Ongaro G, Pornaro E, Meliconi R. Core-antigen specific immunoglobulin G bound to the liver cell membrane in chronic hepatitis B. Gastroenterol 1982;82:218-222
36. Hanson RG, Dusheiko GM, Hoofnagle JH. In vitro synthesis of antibody to hepatitis B virus antigens. In: Chisari FV, ed. Advances in hepatitis research. New

York: Masson, 1984:123-133

Abstract

Histologic Findings in Patients with Chronic Hepatitis B with HBsAg loss

Jun Yong Park

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Chae Yoon Chon)

Hepatitis B virus(HBV) is the most common cause of chronic liver disease in Korea and can lead to a variety of outcome. Chronic hepatitis B can be divided into three phases, immune-tolerance phase, immune-elimination phase, and non-replicative phase based on the relative level of HBV replication and the host immune response. The loss of serum

Hepatitis B surface antigen(HBsAg) occurs in non-replicative phase. The loss of serum HBsAg in the natural history of patients with chronic HBV infection is considered an unusual event, especially in Northeast Asia, a hyperendemic area of HBV infection that usually occurs perinatally or during early childhood. Although loss of HBsAg was considered to the biological remission of HBV infection, recent studies of the presence of HBV DNA by polymerase chain reaction(PCR) in the serum and the liver of patients with chronic B-viral infection after loss of HBsAg have been reported. The significance of detectable HBV DNA after loss of HBsAg is unclear. The present study was undertaken in Korea which is one of the endemic areas for HBV infection. The aim of this study were as follows (1) to determine the incidence of HBsAg loss in chronic B-viral carriers in non-replicative phase, (2) to investigate liver histology after HBsAg loss, and (3) to analyze for the presence of HBV DNA in the serum and in the liver with PCR method after HBsAg loss.

From Octerber 2001 to March 2002, a total 430 chronic HBsAg carriers(268 male and 172 female; mean age 48.5 ± 10.2 years), who were known to be seronegative HBeAg for at least 1 year and had near normal liver function tests, were prospectively observed in Yonsei University Severance Hospital. PCR was used to evaluate both serum and liver of chronic HBsAg carriers after spontaneous loss of HBsAg. Surface gene primers (5'–GTCCTCTAATTCCAGGATC-3' and 5'-GATGCTGTACAGACTTGG-3') amplified a 320-base pair segment.

Forty-nine patients(11.4%) lost serum HBsAg and seroconversion to anti-HBs was observed in 29 of the 49 patients(59.2%). One patient developed hepatocellular carcinoma after HBsAg loss. Although liver histologic findings at the time of HBsAg-positive were chronic hepatitis, 2 patients progressed into liver cirrhosis clinically at the time of HBsAg loss. The loss of HBsAg was not associated with age, sex, family history, clinical status, history of

hepatocellular carcinoma, and biochemical hepatitis activity. Liver biopsies were obtained a mean of 2.1 months after loss of HBsAg in 15 patients. As for liver histologic findings after HBsAg loss, lobular activity remained minimal, porto-periportal activity was little, and fibrosis was found in various stage. Immunohistochemical staining for HBsAg and HBcAg was negative in all 15. Serum collections were available for study in 13 of the 15 patients who were done liver biopsies. At the time of biopsy, HBV DNA was detectable in serum by PCR (template HBV DNA 3 μℓ, PCR cycle 40) in 13 patients all. Liver HBV DNA was demonstrated by PCR in all 15 patients.

In conclusion, the loss of HBsAg does not necessarily indicate termination of chronic HBV infection and HBV DNA may be detectable by PCR in serum and liver tissue after loss of HBsAg. Although histologic findings improved in the face of HBsAg loss, minimal residual hepatitis activity can persist.

Key Words: chronic B-viral infection, HBsAg loss, liver histology