

말기 신부전증 환자에서 투석 방법에 따른 C형 간염의 진행에 관한 연구

연세대학교 의과대학 내과학교실

이호영 · 이승우* · 강신욱 · 송현용 · 최규현 · 한대석

임상병리과학교실

김 현 숙

<요 약>

말기 신부전증으로 1994년 3월에서 1994년 8월 사이에 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 HD 및 CAPD 중인 환자 23예와 1990년 9월부터 1994년 9월까지 anti-HCV양성으로 신 이식 수술 전 간 조직검사를 시행받았던 23예를 대상으로 PCR을 이용하여 HCV-RNA를 검출하여 투석방법에 따른 HCV-RNA양성률 및 HCV-RNA 유무에 따른 간 기능 이상 소견, 투석 기간, 수혈량 등에 차이가 있는지, 그리고 anti-HCV양성이나 정상 간기능 검사소견을 보인 환자에서 간 조직소견을 알아보고자 본 연구를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Anti-HCV양성인 46예의 대상 환자중 32예(HD 20예, CAPD 12예)에서 HCV-RNA검사를 시행하였으며 이중 18예(56.3%)에서 양성이었고 14예에서 음성이었다. HD환자에서 HCV-RNA양성률은 60%이었으며 CAPD환자에서 HCV-RNA양성률은 50%로 투석 방법에 따른 HCV-RNA양성률에는 유의 있는 차이가 없었다. HCV-RNA양성군과 음성군사이에 투석의 기간, 평균 연령, 헤마토크릿, 수혈을 받았던 환자의 빈도, 총 수혈양, anti-HBc양성률, 그리고 ALT에는 유의 있는 차이가 없었으나 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도는 HCV-RNA양성군에서 55.6%로 음성군의 21.4%에 비해 유의 있게 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도가 높았다($p < 0.05$)

2) HD환자에서 HCV-RNA양성군과 음성군사이에 ALT는 각각 42.5 ± 24.6 , 19.4 ± 21.2 IU/L로 양성군에서 유의 있게 수치가 높았으며($p < 0.05$), 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도도 각각 66.7%, 12.5%로 양성군에서 유의 있게 빈도가 높았다($p < 0.05$).

3) CAPD환자에서 HCV-RNA양성군과 음성군사이에 투석의 기간, 평균 연령, 헤마토크릿, 수혈을 받았던 환자의 빈도, 총 수혈양, anti-HBc양성률, ALT, 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도에는 유의 있는 차이가 없었다.

4) 간 조직검사를 시행한 23예에서 만성 지속성 간염이 17예(73.9%)로 제일 많았으며, 이외에 만성 활동성 간염 3예, hemosiderosis 2예, 간경변증 1예 있었다. 9예에서 HCV-RNA검사를 시행하였고, 이중 5예에서 양성이었으며, 양성인 5예 음성인 4예 모두 만성 지속성 간염 소견이었다.

이상의 결과로 anti-HCV 양성인 환자에서 HCV-RNA양성률은 투석 방법에 따라 차이가 없었으나 HCV-RNA양성군에서 간 기능 이상 빈도가 유의 있게 많았으며 HD의 경우 HCV-RNA 양성군

*본 연구의 일부는 1994년도 연세대학교 의과대학 교수 연구비의 보조로 이루어졌음.

에서 HCV-RNA 음성군에 비해 간기능 이상 빈도 및 정도가 많았다. HCV-RNA 양성인 투석환자에서 정상간 기능을 유지하는데 CAPD가 HD에 비해 더 좋은 투석 방법으로 사료되나 좀더 많은 환자를 대상으로 한 장기간의 추적 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

서 론

C형 간염 바이러스(Hepatitis C Virus, 이하 HCV로 약함)는 single-stranded RNA 바이러스로 수혈 후 감염 및 산발적으로 발생하는 "non-A, non-B"간염의 주된 원인으로 밝혀졌으며, 급성뿐만 아니라 만성 간염을 일으키는 것으로 알려져 있다. 장기적으로 투석을 받고 있는 말기 신부전증 환자는 면역 반응의 장애와 잦은 수혈 등으로 HCV에 대한 항체(이하 anti-HCV로 약함)의 유병율이 높다. 그러나 anti-HCV 양성인 경우 현재 활동성 감염이 있는 경우 뿐 아니라 과거에 C형 간염을 앓고 회복된 경우도 포함하므로 의양성의 가능성이 높으나 최근 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, 이하 PCR로 약함)을 이용하여 HCV-RNA를 검출함으로써 HCV 혈증을 증명할 수 있게 되었다¹⁾.

그러나 아직까지 국내에 말기 신부전증 환자를 대상으로 PCR을 이용하여 HCV-RNA검출에 대한 체계적인 연구 결과의 분석에 대한 보고가 없을 뿐 아니라, 외국의 보고들도 혈액투석(Hemodialysis, 이하 HD로 약함) 환자들을 대상으로 한 것이 대부분이다²⁻⁵⁾.

이에 저자 등은 anti-HCV양성이면서 투석을 받고 있는 말기 신부전증 환자에서, PCR을 이용하여 HCV-RNA를 검출하여 투석 방법에 따른 HCV-RNA양성률 및 HCV-RNA유무에 따른 간 기능 이상 소견, 투석 기간, 수혈량 등에 차이가 있는 지, 그리고 anti-HCV양성이나 정상 간기능 검사소견을 보인 환자에서 간 조직 소견을 알아 보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

말기 신부전증으로 1994년 3월에서 1994년 8월 사이에 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 HD 및 지속성 외래 복막투석(Continuous Ambulatory peri-

Table 1. Demographic Characteristics of Patients

No. of patients	46
Dialysis	
HD	33
CAPD	13
Sex Male	27
Female	19
Age(yrs)	44.3±15.1*
Duration of dialysis(months)	66.9±38.6

*Mean±S.D.

toneal Dialysis, 이하 CAPD로 약함) 중인 환자중 anti-HCV양성인 환자 23예와 1990년 9월부터 1994년 9월까지 anti-HCV양성으로 신 이식 수술 전 간 조직검사를 시행 받았던 23예를 대상으로 하였으며, 약물이나 독성 물질의 기왕력, 대사성 질환, 담도계 질환, 췌췌가무시병 등 간에 손상을 미치는 질환이 있는 경우는 대상에서 제외하였다.

총 대상 환자는 46예로 HD환자 33예, CAPD환자 13예이었고, 남자 27예, 여자 19예이었고 평균 연령은 44.3±15.1세, 평균 투석의 기간은 66.9±38.6개월이었다(Table 1). HD환자와 CAPD환자사이를 비교하였을 때 투석의 기간이 각각 74.6±40.3, 47.3±25.8개월로 HD환자에서 유의 있게 길었으며(p<0.05)수혈을 받았던 환자의 빈도도 각각 22/33(87.9%), 8/13(61.5%)으로 HD환자에서 유의 있게 많았으나(p<0.05), 헤마토크릿, 총 수혈량, B형 간염 marker의 양성률, ALT, 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도는 두 군 사이에 차이가 없었다(Table 2).

2. 방 법

대상 환자의 의무기록에서 투석 기간, 수혈 여부, 총 수혈량 등을 조사하였으며 간 기능 검사는 SMA-12 autoanalyzer, B형 간염 marker는 Behring사의 Enzygnost kit, anti-HCV는 2세대 Abbott HCV kit (second generation enzyme immunoassay, Abbott Laboratories)를 이용하여 검사하였고, 복강경을 이용하여 간 조직검사를 시행하였다.

Table 2. Characteristics Between HD and CAPD Patients

	HD (n=33)	CAPD (n=13)	p value
Duration of dialysis(months)	74.6 ± 40.3*	47.3 ± 25.8	<0.05
Sex(M : F)	1.2 : 1	2.3 : 1	NS**
Age(years)	43.0 ± 15.6	47.6 ± 13.7	NS
Hematocrit(%)	26.4 ± 5.6	23.7 ± 7.4	NS
Transfusion	29(87.9%)	8(61.5%)	<0.05
Amount of transfusion(units/patient)	11.8 ± 15.1	5.3 ± 7.1	NS
HBsAg(+)(%)	1(3.0)	0(0.0)	NS
Anti-HBs(+)(%)	24(72.7)	10(76.9)	NS
Anti-HBc(+)(%)	23(69.7)	12(92.3)	NS
ALT(IU/L)	41.2 ± 42.6	31.3 ± 26.9	NS
Abnormal LFT(%)	16(48.5)	4(30.8)	NS

*Mean ± S.D.

**NS : not significant

Table 3. Primers Used in Amplifying HCV 5' UTR Region

Primer	Sequence(5'→3')	HCV cDNA position
KL 70	TTG AGG TTT AGG ATT CGT GCT CAT	(366→343)antisense
θC 1	CCA CCA TAG ATC ACT CCC CTG T	(28-< 48)sense
θC 2	CTG TGA GGA ACT ACT GTC TTC A	(46±> 66)sense
θC 3	ACT CGC AAG CAC CCT ATC AGG C	(313±>292)antisense

HCV-RNA검사는 Okamoto등[6]의 방법을 변형한 5'-UTR(untranslated region) RT-PCR방법으로 하였다. 간략하면, 혈청 50μL에 RNA추출 완충용액(0.2M Tris, pH 7.5, 25 mM EDTA, 0.1M sodium chloride, 2% sodium dodecyl sulfate)150μL와 1% (w/v)proteinase K 4 μL를 혼합한 후 재증류수 200 μL를 첨가한 다음 37°C에 40분간 두었다가, 여기에 phenol : chloroform:isoamyl alcohol(25:24:1)을 동량씩 섞어 2회 추출하였다. 이 추출 액에 glycogen 10μg과 2.5배의 100% ethanol을 첨가하고 -70°C에 1시간 이상 보관한 다음, 필요할 때 침전시켜 실험에 이용하였다. 다음으로 cDNA 제조를 위해 -70°C에 1시간 이상 보관한 다음, 필요할 때 침전시켜 실험에 이용하였다. 다음으로 cDNA 제조를 위해 -70°C에 1시간 이상 보관한 다음, 필요할 때 침전시켜 실험에 이용하였다. 다음으로 cDNA 제조를 위해 -70°C에 보관된 RNA를 꺼내어 12,000xg로 15분간 원심분리한 후 상층 액을 제거하고 70%에 보관된 RNA를 꺼내어 12,000xg로 15분간 원심분리한 후 상층 액을

제거하고 70% ethanol 1 mL을 가하여 한 차례 씻은 후 다시 12,000xg로 15분간 원심분리하여 상층 액을 제거한 다음 진공상태에서 완전히 건조시켰다. 여기에 DEPC(diethyl pyrocarbonate)로 처리한 재증류수 7.2μL와 5x역전사 완충용액(250mM Tris-Cl, pH 8.3, 250mM potassium chloride, 50 mM dithiothreitol, 50 mM magnesium chloride, 2.5mM spermidine)2μL 및 cDNA 제조용 primer KL 70을 15pmole(1μL)을 혼합한 후 65°C에 5분간 보관하여 RNA가 꼬이지 않고 선형으로 존재하도록 하였다. RNA가 변성되면 5x역전사 완충용액 2μL, 10mM dNTP 1μL, RNase inhibitor(Promega Corporation, WI, USA) 20 unit와 Avian myeloblastosis virus(AMV)역전사효소(Promega Corporation, WI, USA) 9.5unit와 DEPC로 처리된 증류수를 합하여 전체 20μL가 되도록 한 다음 37°C에서 1시간 반응시켜 cDNA가 제조되도록 하였다. 반응이 끝나면 끓는 물에 5분 정도 담가 효소의 활성을 없애 주었고, 제조된 cDNA는 냉장 보관하였다가 필요할 때 사용하였다. 혈청 속에 포함되어 있

는 HCV-RNA를 증폭시키기 위하여 HCV의 염기 서열이 잘 보존된 5'-UTR쪽의 primer쌍과 Taq DNA polymerase를 이용하여 중합효소 연쇄반응을 실시하였다. 사용한 primer의 염기서열은 Okamoto등⁶⁾의 보고를 참조하여 Table 3과 같이 하였으며, 이 primer들은 Applied Biosystem사(Fostercity, U.S.A.)의 DNA synthesizer Model 381A를 이용하여 합성하였다. 중합효소 연쇄반응은 바깥쪽 primer들을 이용한 1차 반응과 안쪽 primer들을 이용한 2차 반응으로 나누어 실시하였고, thermal cycler는 Perkin-Elmer사의 GeneAmp PCR system 9600(Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT, U.S.A.)을 사용하였다. 1차 중합효소 연쇄반응을 위해서는 200 μ L짜리 thermal cycler 9600전용 thin wall미세원 침관인 polypropylene conical tube를 사용하였는데, 먼저 바깥쪽 5'-primer 3'-primer를 각각 10pmole씩 준비하고 template DNA 2 μ L를 첨가하였다. Taq DNA polymerase는 Pharmacia 회사 (Uppsala, Sweden)제품 0.5unit를 사용하였으며 반응 완충액은 500mM potassium chloride, 100mM Tris-HCl(pH 8.0), 40mM magnesium chloride와 0.01%의 gelatin이 포함되도록 제조하여 사용하였다. dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP의 혼합물)은 Pharmacia제품(10mM dNTP)을 pH 7.5인 Tris-Cl로 희석하여 최종농도가 100 μ M이 되도록 하고 증류수를 합하여 전체 부피를 20 μ L로 만들었다. 반응온도는 세 단계로 나누어 제 1단계는 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 변성, 제 2단계는 94 $^{\circ}$ C에서 15초간 변성, 58 $^{\circ}$ C에서 15초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 중합시켰으며, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 중합시켰으며, 72 $^{\circ}$ C에서 6분간 중합시켰다. 이때 DNA 증폭을 위해 제 2단계는 연속 35회 반복 반응시켰다. 2차 중합효소연쇄반응은 다시 200 μ L전용 polypropylene conical tube내에 안쪽 5'-primer와 3'-primer를 각각 10pmole씩 준비하고 1차 중합효소연쇄반응 산물 2 μ L를 template DNA로 첨가한 후 나머지 혼합액은 1차반응 때와 같은 방법으로 제조하고 같은 반응 조건으로 반응시켰다. 반응이 끝난 용액에 원하는 DNA가 증폭되었는지 알아보기 위해 ethidium bromide용액(10mg/mL)을 첨가한 1.2% agarose gel에 10-20 μ L의 최종 PCR 산물을 loading하여 전기영동을 하였는데 이때 전기영동은 TAE 완충용액 (40mM Tris, 1 mM EDTA,

Fig. 1. Amplification of 5'-UTR gene. The DNA bands are 260 bp nested PCR products. lane M, molecular size marker (123bp DNA ladder), lane m-q, RNAs of anti-HCV positive serum were used as template.

25mM acetic acid)이 들어있는 수평 전기영동 기구에서 실시하였으며, 시료와 함께 시료완충용액(0.25% bromophenol blue, 40% sucrose) 5 μ L를 첨가하여 well에 가한 후 100volt전압에서 1시간 동안 전기영동하였다. 이때 123bp DNA molecular ladder를 크기 표지자로 사용하였다. 전기영동이 끝난 agarose gel을 UV transilluminater위에 올려놓고 268bp크기의 DNA band가 있는지 여부를 관찰하여 판독하였다 (Fig. 1).

통계 처리 방법은 두 군사이의 평균의 차이를 비교하기 위해 Student's t-test를 이용하였으며, 각 군의 양성률을 비교하기 위해 Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하였고 p 값은 0.05미만일 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. HCV-RNA 양성군과 음성군사이의 비교

Anti-HCV 양성인 46예의 대상 환자 중 32예(HD 환자 20예, CAPD 환자 12예)에서 HCV-RNA 검사를 시행하였으며 이중 18예(56.3%)에서 양성하였고, 14예에서 음성이었다. HD 환자에서 HCV-RNA 양성률은 60%(12/20)이었으며 CAPD 환자에서 HCV-RNA 양성률은 50%(6/12)로 투석 방법에 따른

Table 4. Comparison between HCV-RNA(+) and HCV-RNA(-) in Anti-HCV(+) Patients

	HCV-RNA(+) (n=18)	HCV-RNA(-) (n=14)	p-value
Dialysis			NS*
HD	12(60.0)	8(40.0)	
CAPD	6(50.0)	6(50.0)	
Duration of dialysis(months)	72.8±33.1**	70.4±41.2	NS
Age(years)	48.2±14.4	47.6±17.5	NS
Hematocrit(%)	26.8±6.6	23.5± 5.5	NS
Transfusion(%)	12(66.7)	11(78.6)	NS
Amount of transfusion(units/patient)	12.0±16.2	5.9±6.6	NS
Anti-HBc(+)(%)	12(70.6)	13(92.9)	NS
ALT(IU/L)	37.9±25.8	26.8±25.6	NS
Abnormal LFT(%)	10(55.6)	3(21.4)	<0.05

*NS : not significant

**Mean±S.D.

Table 5. Comparison between HCV±RNA(+) and HCV-RNA(-) in Anti-HCV(+) HD Patients

	HCV-RNA(+) (n=12)	HCV-RNA(-) (n=8)	p-value
Duration of dialysis(months)	83.0±33.6*	87.1±42.7	NS**
Age(years)	47.3±14.6	48.3±20.7	NS
Hematocrit(%)	27.2± 5.8	24.5± 4.5	NS
Transfusion(%)	8(66.7)	8(100.0)	NS
Amount of transfusion(units/patient)	21.0±19.8	4.4±2.9	NS
Anti-HBc(+)(%)	7(63.6)	7(87.5)	NS
ALT(IU/L)	42.5±24.6	19.4±21.2	<0.05
Abnormal LFT(%)	8(66.7)	1(12.5)	<0.05

*Mean±S.D.

**NS : not significant

HCV-RNA 양성물에는 의의 있는 차이가 없었다($p > 0.05$). 두 군 사이에 투석의 기간, 평균 연령, 헤마토크릿, 수혈을 받았던 환자의 빈도, 총 수혈양 anti-HBc 양성물, 그리고 ALT에는 의의 있는 차이가 없었으나, 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도는 HCV-RNA 양성군에서 55.6% (10/18), 음성군에서 21.4 (3/14)로 HCV-RNA 양성군에서 의의 있게 간 기능 이상을 보이는 환자의 빈도가 높았다($p < 0.05$) (Table 4).

2. HD 환자에서 HCV-RNA 양성군과 음성군 사이의 비교

HCV-RNA 검사를 시행한 20예 중 12예가 양성, 8

예가 음성이었다. 두 군 사이에 ALT는 각각 42.5±24.6, 19.4±21.2 IU/L로 양성군에서 의의 있게 수치가 높았으며($p < 0.05$)로 양성군에서 의의 있게 빈도가 높았다($p < 0.05$). 그러나 두 군 사이에 투석의 기간, 평균 연령, 헤마토크릿, 수혈을 받았던 환자의 빈도, 총 수혈양, anti-HBc 양성물에는 의의 있는 차이가 없었다 (Table 5).

3. CAPD 환자에서 HCV-RNA 양성군과 음성군 사이의 비교

HCV-RNA 검사를 시행한 12예 중 6예가 양성, 6예가 음성이었다. 두 군 사이에 투석의 기간, 평균 연령, 헤마토크릿, 수혈을 받았던 환자의 빈도, 총 수혈

Table 6. Comparison between HCV-RNA(+) and HCV-RNA(-) in Anti-HCV(+) CAPD Patients

	HCV-RNA(+) (n=6)	HCV-RNA(-) (n=6)	p-value
Duration of dialysis(months)	52.5 ± 22.5*	48.0 ± 28.3	NS*
Age(years)	50.0 ± 15.3	46.7 ± 14.0	NS
Hematocrit(%)	25.8 ± 8.6	22.1 ± 6.7	NS
Transfusion(%)	4(66.7)	3(50.0)	NS
Amount of transfusion(units/patient)	3.0 ± 1.6	8.3 ± 11.0	NS
Anti-HBc(+)(%)	5(83.3)	6(100.0)	NS
ALT(IU/L)	28.8 ± 36.7	36.7 ± 29.4	NS
Abnormal LFT(%)	2(33.3)	2(33.3)	NS

*Mean ± S.D.

**NS : not significant

Table 7. Characteristics of Anti-HCV(+) Patients with Liver Biopsy

No. of patients	23
Dialysis	
HD	21
CAPD	2
Duration of dialysis(months)	54.4 ± 38.3*
Sex(M : F)	1.6 : 1
Age(years)	35.2 ± 9.9
Hematocrit(%)	27.0 ± 5.5
Transfusion(%)	22(95.7)
HBsAg(+)(%)	1(4.3)
Anti-HBs(+)(%)	15(71.4)
Anti-HBc(+)(%)	16(76.2)
ALT(IU/L)	47.0 ± 47.2
Anti-HCV(+)(%)	23(100.0)
HCV-PCR test	9
HCV-RNA(+)	5
HCV-RNA(-)	4

*Mean ± S.D.

양, anti-HBc양성률, ALT, 간 기능 이상의 보이는 환자의 빈도에는 유의 있는 차이가 없었다(Table 6).

4. 간 조직 검사를 시행했던 환자의 임상 및 조직학적 특성

23예에서 복강경을 이용하여 간 조직 검사를 시행하였으며, HD환자 21예, CAPD환자 2예이었고, 평균 투석기간은 54.4 ± 38.3개월, 남녀 비는 1.6 : 1, 평균 연령 35.2 ± 9.9세, 헤마토크릿 27.0 ± 5.5%, 수혈을 받았던 환자의 빈도는 95.7% (22/23), HBs Ag양

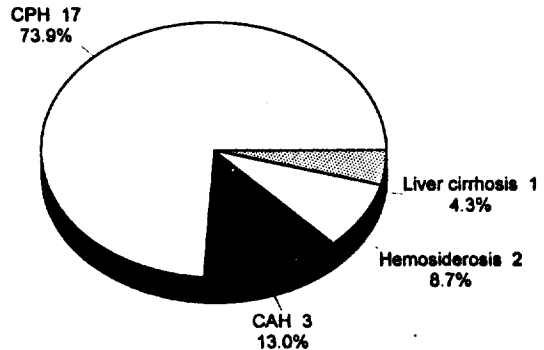


Fig. 2. Liver Biopsy Findings in anti-HCV(+) ESRD Patients(n=23). HCV-RNA by PCR was tested in 9 out of 23 patients and 5 were positive for HCV-RNA. All of the HCV-RNA positive and negative patients were CPH on liver biopsy.

성인 예가 1예 있었으며, anti-HBs양성률은 71.4% (15/23), anti-HBc양성률 76.2% (16/23), ALT는 47.0 ± 47.2IU/L이었다(Table 7). 병리 소견상 23예 중 만성 지속성 간염이 17예(73.9%)로 제일 많았으며, 이외에 만성 활동성 간염 3예(13.0%), hemosiderosis 2예(8.7%), 간경변증 1예(4.3%)이었다(Fig. 2). 23예 중 9예에서 HCV-RNA검사를 시행하였으며 이중 5예에서 HCV-RNA양성이었고, 양성인 5예, 음성인 4예 모두 만성 지속성 간염이었다.

고 안

장기적으로 투석을 받고 있는 말기 신부전증 환자는

면역 반응의 장애와 잦은 수혈 등으로 C형 간염의 고 위험군으로 알려져 있으며, anti-HCV양성률이 높아 HD의 경우 12-29%⁷⁻⁹⁾, CAPD의 경우 5-15.4%^{10,11)}로 보고되고 있다. 그러나 항체 양성인 경우 현재 활동성 감염이 있는 것 뿐 아니라 과거에 C형 간염을 앓고 회복된 것도 포함하므로 의양성의 가능성이 높았다. PCR을 이용한 HCV-RNA의 검출로 HCV혈증을 증명할 수 있게 된 이후 anti-HCV검사상 양성인 투석 환자에서 HCV-RNA 양성률은 52-93%^{2,12,13)}로 anti-HCV검사와 HCV-RNA검출과의 연관성이 적다고 보고되고 있으며¹⁴⁾ 본 연구에서도 56.3%의 양성률을 보여 같은 결과를 나타내었다. 이러한 연관성이 적은 이유로 Natov 등¹⁵⁾은 바이러스 혈증이 간헐적인 경우 혈액검사 시기에 HCV-RNA가 없었을 수 있고, HCV가 간에만 국한되어 바이러스 genome이 간 조직에서만 발견될 가능성도 있으며 HCV-RNA가 사라진 후에도 anti-HCV항체가 지속적으로 남아 있을 수도 있다고 설명하고 있다. 그러나 anti-HCV음성인 약물 중독자와 만성 non-A, non-B 간염 환자의 각각 17%, 25-50%에서 HCV-RNA양성으로 보고됨으로써¹⁵⁻¹⁸⁾ anti-HCV 양성 환자 뿐 아니라 음성인 환자까지 포함하여 HCV-RNA 검사를 시행하여야 할 것으로 사료된다.

투석 환자들에서 C형 간염의 위험 인자로 투석 방법, 총 수혈량, HD의 기간이 알려져 있다¹⁴⁾. 투석 방법의 경우 CAPD에 비해 HD이 위험이 많다고 하며 이의 원인으로 CAPD의 경우 가정에서 하는 시술로 격리된 환경이며 HD환자에 비해 수혈의 위험이 적고 혈액의 체외순환이 없어 바이러스에 노출될 위험이 적기 때문이라고 한다. 그러나 HCV-RNA의 경우 외국 보고에 따르면 양성률이 HD환자에서 22-75%²⁻⁵⁾, CAPD환자에서 73.3-100%^{10,11)}로 보고하고 있고 본 연구 결과 각각 60%, 50%로 투석 방법에 따른 HCV-RNA양성률의 차이는 없었다. 총 수혈량과 HD의 기간은 anti-HCV양성률과 직접적으로 상관 관계가 있으며^{2,19-27)} 총 수혈량의 경우 유전자 재조합 인 에리스로포이에틴의 사용과 현혈시 anti-HCV검사로 수혈에 의한 감염의 위험을 줄일 것으로 기대되고 있으며 HD기간은 투석한 지 10년 이후²⁸⁾ 연간 10%씩 anti-HCV양성률이 증가한다고 한다²⁹⁾. 그러나 Dussol등²⁾에 의하면 anti-HCV 양성인 HD 환자에서

HCV-RNA양성군과 음성군 사이에 총 수혈량, 투석 기간에는 의미 있는 차이가 없었다고 보고하고 있으며 본 연구에서도 HD와 CAPD환자에서 같은 결과를 보였다.

HD환자에서 혈청 ALT수치와 anti-HCV유무와는 별 상관 관계가 없다고 하며 이는 몇 가지 원인에 의한 것이다¹⁴⁾. 첫째 투석환자에서 기저 ALT수치가 감소되어 있고, 둘째 항체 양성인 환자중 일부는 회복되어 anti-HCV는 단지 과거에 앓았던 흔적일 수 있으며, 셋째 건강 보관자인 경우 바이러스의 간의 증식의 가능성이 있고, 넷째 만성 non-A, non-B간염의 특징이 ALT 수치의 변화가 심한데 있다. HCV-RNA와 혈청 ALT수치사이에도 같은 결과를 보여 Pol등¹³⁾에 의하면 HCV-RNA양성인 HD환자의 31%에서만 혈청 ALT수치의 증가를 보였다고 하며 본 연구 결과 HCV-RNA양성군의 55.6%에서만 혈청 ALT수치의 증가를 보였다. 그러나 혈청 ALT수치와 간의 병리학적인 변화 사이에는 상관 관계가 있어 수치가 높을수록 간 질환의 가능성이 높다고 하며³⁰⁾ 본 연구 결과 HCV-RNA 양성군에서 간 기능 이상 환자의 빈도가 많았고, HD환자에서 HCV-RNA 양성군이 음성군에 비해 ALT의 수치가 의미 있게 높았고, 간 기능 이상 환자의 빈도도 의미 있게 많았다. 이러한 결과는 HCV-RNA 양성군에서 지속적인 바이러스 증식으로 인해 간 기능 장애 및 병리학적인 변화가 온 것으로 사료된다.

비록 PCR이 HCV-RNA를 검출하는 표준 방법으로 사용되고 있으나 이 검사 또한 위양성 및 위음성으로 인해 신뢰도에 문제가 제기되고 있다. Busch등³¹⁾은 불완전한 검체 보관이나 조작으로 검체의 40%에서 HCV-RNA검출에 실패할 수 있음을 보여 주었고 PCR의 예민도로 인해 사소한 오염에 의해서도 위양성이 일어날 수 있다고 하였다³²⁾. 또한 PCR검사 시행에 많은 노력이 필요하고, 각 실험실마다 프로토콜이 다양하고 시설 문제로 전문 실험실에서만 할 수 있는 점으로 임상적으로 유용한 검사로는 인정받고 있지 못하다.

본 센터의 경우 anti-HCV양성인 경우 비록 간 기능 검사가 정상이라도 이식전 간 조직 검사를 하는 것을 원칙으로 하고 있으며 간 조직 검사를 시행한 23예중 만성 지속성 간염이 17예(73.9%)로 제일 많

있고 HCV-RNA검사를 시행한 9예중 양성인 5예, 음성인 4예 모두 만성 지속성 감염 소견을 보였다.

이상의 결과로 anti-HCV양성인 환자에서 HCV-RNA양성률은 투석 방법에 따른 차이가 없었으나 HCV-RNA양성군에서 간 기능 이상 빈도가 의의있게 많았으며 HD의 경우 HCV-RNA양성군에서 간 기능 이상 빈도 및 정도가 많아 HCV-RNA양성인 환자에서 정상 간 기능을 유지하는 데 HD보다 CAPD가 더 좋은 투석 방법으로 사료되나 많은 환자를 대상으로 한 장기간의 추적 검사가 필요할 것으로 사료된다.

= Abstract =

The Evolution of Hepatitis C Virus Infection According to the Mode of Dialysis in Patients with End-Stage Renal Disease

**Ho Yung Lee, M.D., Seung Woo Lee, M.D.
Shin Wook Kang, M.D., Hyun Young Song, M.D.
Kyu Hun Choi, M.D. and Dae Suk Han, M.D.**

Department of Internal Medicine

Hyon-Suk Kim, M.D.

*Department of Clinical Pathology, Yonsei University
College of Medicine, Seoul, Korea*

Hepatitis C virus(HCV) infection is highly prevalent in patients with ESRD treated in dialysis units, but there has been little reports about the prevalence of HCV infection by detecting HCV-RNA using polymerase chain reaction (PCR) in Korea. We studied the prevalence of hepatitis C viremia using PCR in 46 anti-HCV(+) ESRD patients(33 patients treated by hemodialysis(HD) and 13 patients by continuous ambulatory peritoneal dialysis(CAPD)], the relationship between hepatitis C viremia and abnormal liver function, and the relationship between hepatitis C viremia and other clinical features(duration of dialysis, tranfusion history, mode of dialysis, etc.).

HCV-RNA was positive in 12 of 20 anti-HCV(+) HD patients(60.0%)and 6 of 12 anti-HCV(+) CAPD patients(50.0%)(not significantly different between the mode of dialysis). Abnormal liver function was frequently observed in HCV-RNA(+) patients than in HCV-RNA(-) patients(55.6% vs. 21.4%, p<0.05). There was no difference in the duration

of dialysis, age, hematocrit, transfusion history, anti-HBc positivity, and serum alanine aminotransferase (ALT) level between HCV-RNA(+) and HCV-RNA(-)patients. In anti-HCV(+) HD patients, abnormal liver function was also frequent in HCV-RNA(+) patients than in HCV-RNA(-) patients (66.7% vs. 12.5%, p<0.05), and ALT was significantly higher in the former than in the latter(42.5±24.6 vs. 19.4±21.2 IU/L, p<0.05). But in anti-HCV(+) CAPD patients, there was no difference in any parameters between HCV-RNA(+) and HCV-RNA(-) patients. Peritoneal liver biopsy was performed in 23 anti-HCV(+) patients, and it revealed chronic persistent hepatitis in 17 patients, chronic antive hepatitis in 3, hemosiderosis in 2, and liver cirrhosis in 1. In 9 of these 23 patients in whom HCV-RNA was tested, 5 were positive and 4 were negative for HCV-RNA, and all 9 patients were chronic persistent hepatitis on liver biopsy.

In conclusion, abnormal liver function was frequently observed in HCV-RNA(+) HD patients, but there was no difference in HCV-RNA positivity according to the mode of dialysis in anti-HCV(+) ESRD patients. However, large numbers of patients with a long term follow-up duration may be needed to find more beneficial mode of dialysis to maintain normal liver function in HCV-RNA positive ESRD patients.

Key Words: HCV-RNA, polymerase chain reaction (PCR), HD, CAPD

REFERENCES

- 1) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M: *Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. Science 244 :359-362, 1989*
- 2) Dussol B, Chicheportiche C, Cantaloube JF, Roubicek C, Biagini P, Berthezene P, and Berland Y: *Detection of hepatitis C infection by polymerase chain reaction among hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 22 :574-580, 1993*
- 3) Kuhns M, de Medina M, McNamara A, Jeffers LJ, Reddy KR, Silva M, Ortiz-Interian C, Jimenez M, Schiff ER, and Perez G: *Detection of hepatitis C virus RNA in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 4 :1491-1497, 1994*

- 4) Sheu JC, Lee SH, Wang JT, Shi LN, Wang TH, Chen DS: *Prevalence of anti-HCV viremia in hemodialysis patients in Taiwan. J Med Virol* **37** : 108-112, 1992
- 5) Sakamoto N, Enomoto N, Marumo F, Sato C: *Prevalence of hepatitis C virus infection among long-term hemodialysis patients: Detection of hepatitis C virus RNA in plasma. J Med Virol* **39** : 11-15, 1993
- 6) Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Tanaka T, Sugai Y, Akahane Y, Machida A, Mishiro S, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M: *Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5'-noncoding region. Jp J Exp Med* **60** : 215-222, 1990
- 7) Gilli P, Moretti M, Shoffritti S, Marchi N, Malacarne F, Bedani PL, Flocchi O, Menini C: *Non-A non-B hepatitis and anti-HCV antibodies in dialysis patients. Int J Artif Org* **13** : 737-780, 1990
- 8) Jeffers LJ, Perez GO, de Medina MD, Ortiz-Interian CJ, Schiff ER, REdy KR, Jimenez M, Bourgoignie JJ, Vaamonde CA, Duncan R, Houghton M, Choo QL, Kuo G: *Hepatitis C infection in two urban hemodialysis units. Kidney Int* **38** : 320-324, 1990
- 9) Zeldis JB, Depner TA, Kuramoto IK, Gish RG, Holand PV: *The Prevalence of hepatitis C virus antibodies among hemodialysis patients. Ann Intern Med* **112** : 958-962, 1990
- 10) Huang CC, Wu MS, Lin DY, Law YF: *The prevalence of hepatitis C virus antibodies in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. Peritoneal Dial Int* **12** : 31-35, 1992
- 11) Rafael S, Rosa MZ, Jose RR, Jesus M, Carmen R, Blanca M, Jose LM: *prevalence of hepatitis C antibodies(HCV) in a dialysis population at one center, Peritoneal Dial Int* **12** : 28-32, 1992
- 12) Lok ASF, Chan TM, Chan R, Cheng IKP: *HCV infection in hemodialysis(HD) patients: A comparative study using 1st and 2nd generation EIA for anti-HCV and PCR for HCV RNA. Gastroenterology* **102** : A845, 1992
- 13) Pol S, Romeo R, Zins B, Driss F, Lebriki B, Carnot F, Berthelot P, Brechot C: *Hepatitis C virus RNA in anti-HCV positive hemodialyzed patients: Significance and therapeutic implications. Kidney Int* **44** : 1097-1100, 1993
- 14) Natov SN and Pereira BJB: *Hepatitis C infection in patients on dialysis. Semin Dial* **7** : 360-368, 1994
- 15) Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW, Bonino F, Saracco G, Lee C, Rosenblatt J, Choo QL, Houghton M: *Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. Lancet* **335** : 1-3, 1990
- 16) Simmons P, Zhang LQ, Watson HG, Rebus S, Ferguson ED, Balfe P, Leadbetter GH, Yap PL, Peutherer JF, Ludlam CA: *Hepatitis C quantification and sequencing in blood products, hemophiliacs, and drug users. Lancet* **336** : 1469-1471, 1990
- 17) Ulrich PP, Romeo JM, Lane PK, Kelly I, Danial LJ, Vyas GN: *Detection, Semiquantitation, and genetic variation in hepatitis C virus sequences amplified from the plasma of blood donors with elevated alanine aminotransferase. J Clin Invest* **86** : 1609-1614, 1990
- 18) Kato N, Yokosuka O, Omata M, Hosada K, Ohto M: *Detection of hepatitis C virus ribonucleic acid in the serum by amplification with polymerase chain reaction. J Clin Invest* **86** : 1764-1767, 1990
- 19) Muller GY, Zabaleta ME, Arminio A, Colmenares CJ, Capriles FI, Bianco NE, Machado IV: *Risk factors for dialysis-associated hepatitis C in Venezuela. Kidney Int* **41** : 1055-1058, 1992
- 20) Mondelli MU, Smedile V, Piazza V, Villa G, Barbieri C, Gattarello G, Mancini F, Raimondo G: *Abnormal alanine aminotransferase activity reflects exposure to hepatitis C virus in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant* **6** : 480-483, 1991
- 21) Conway M, Catterall AP, Brown EA, Tibbs C, Gowere PE, Curtis JR, Coleman JC, Murray-Lyon IM: *Prevalence of antibodies to hepatitis C in dialysis patients and transplant recipients with possible routes of transmission. Nephrol Dial Transplant* **7** : 1226-1229, 1992
- 22) Oguchi H, Miyasaka M, Tokunaga S, Hora K, Ichikawa S, Ochi T, Yamad K, Nagasawa M, Kanno Y, Aizawa T, Watanabe H, Yoshizawa S, Sato K, Terashima M, Yoshie T, Oguchi S, Tanaka E, Kiyosawa K, Furuta S: *Hepatitis virus infection(HBV and HCV) in eleven Japanese*

- hemodialysis units. *Clin Nephrol* **38** :36-43, 1992
- 23) Dentico P, Buongiorno R, Volpe A, Carlone A, Carbone M, manno C, proscia E, Pastore G, Schiraldi O: *Prevalence and incidence of hepatitis C virus(HCV) in hemodialysis patients: Study of risk factors. Clin Nephrol* **61** :49-52, 1992
- 24) Mosconi G, Campieri C, Miniero R, Coli L, Orsi C, La Manna G, De Sanctis LB, Stefoni S, Sprovieri G, Bonomini V: *Epidemilolgy of hepatitis C in a population of hemodialysis patients. Nephron* **61** :298-299, 1992
- 25) Scotto G, Savastano AM, Forcella M, Tantimonaco G, Amato G, Salatino G, Pappani A, stella I: *HCV infections in dialysis patients. Nephron* **61** :320-321, 1992
- 26) Niu MT, Alter MJ, Kristensen C, Margolis HS: *Outbreak of hemodialysis-associated non-A, non-B hepatitis and correlation with antibody for hepatitis C virus. Am J Kidney Dis* **19** :345-352, 1992
- 27) Knudsen F, Wantzin P, Rasmussen K, Ladefoged SD, Lokkegaard N, Rasmussen LS, Lassen A, and Krogsgaard K: *Hepatitis C in dialysis patients: Relationship to blood transfusions, dialysis and liver disease. Kidney Int* **43** :1353-1356, 1993
- 28) Medici G, Depetri GC, Mileti M: *Anti-hepatitis C virus positivity and clinical correlations in hemodialyzed patients. Nephron* **61** :363-364, 1992
- 29) Hardy NM, Sandroni S, Danielson S, Wilson WJ: *Antibody to hepatitis C virus increases with time on dialysis. Clin Nephrol* **38** :44-48, 1992
- 30) Van Ness MM, Diehl AM: *Is Liver biopsy useful in evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? Ann Intern Med* **111** :473-478, 1989
- 31) Busch MP, Wilbes JC, Johnson PJ, Tobler L, Evans CS: *Impact of specimen handling and storage on detection of hepatitis C virus RNA. Transfusion* **32** :420-425, 1992
- 32) Kwok S, Higuchi R: *Avoiding false negatives with PCR. Nature* **339** :237-238, 1989