라미부딘 내성 만성 B형간염 환자에서 아데포비어 투여에 따른 내성 바이러스 출현 및 초기 바이러스반응에 미치는 인자

아주대학교 의과대학 소화기내과학교실, (주)진매트릭스¹

조진희 · 정재연 · 강준구 · 박진선 · 이명희
임남규 · 홍선표¹ · 김수옥¹ · 유왕돈¹ · 조성원

Abstract

Factors affecting initial virologic response and emergence of resistant mutants after adefovir treatment in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients

Jin Hee Cho, M.D., Jae Youn Cheong, M.D., Joon Koo Kang, M.D., Jin Sun Park, M.D.,
Myoung Hee Lee, M.D., Nam Kyu Lim, M.D., Sun Pyo Hong, PhD.¹, Soo-Ok Kim, PhD.¹,
Wang Don Yoo, PhD.¹, and Sung Won Cho, M.D.

Department of Gastroenterology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea, ¹GeneMatrix Inc, Yongin, Korea

Background/Aims: Adefovir dipivoxil (adefovir) effectively inhibits both wild-type and lamivudine-resistant hepatitis B virus (HBV) replication. The development of adefovir resistance is both delayed and infrequent compared with lamivudine resistance. The aim of this study was to characterize the serologic, biochemical, and virologic response to adefovir, and to explore the factors affecting initial virologic response (IVR, defined as a decrease in serum HBV below 4 log₁₀copies/mL after 6 month of treatment) and adefovir resistance in lamivudine resistant HBV-infected patients. **Methods:** This study population comprised 76 patients with lamivudine-resistance who had received adefovir for more than 12 months between March 2004 and December 2006. The adefovir-resistant mutant was assayed at 6 months and 12 months during adefovir administration. Restriction- fragment mass polymorphism analysis was used for detecting YMDD and adefovir mutants. **Results:** After adefovir administration, an IVR was observed in 31% of the patients with lamivudine resistance. Factors associated with an IVR were HBeAg negativity ($P=0.04$) and the presence of liver cirrhosis ($P=0.04$). Age, sex, pretreatment levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, pretreatment HBV DNA levels, presence of precore mutation, and type of YMDD mutants were not related to an IVR during adefovir treatment. The prevalence of adefovir resistance was 5% and 13% at 6 months and 12 months after therapy, respectively. Mixed infection of the precore mutant was a risk factors for the emergence of adefovir resistance ($P=0.01$). **Conclusions:** Lamivudine-resistant HBV patients exhibiting HBeAg negativity and liver cirrhosis were more likely to achieve an IVR after adefovir therapy. Adefovir resistance was associated with mixed infection of the precore mutant. (Korean J Hepatol 2008;14:58-66)

Key words: Adefovir; Hepatitis B; Lamivudine; Drug resistance

◇ Received July 9, 2007; revised September 10, 2007; accepted November 1, 2007

◇ Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBV, hepatitis B virus; IVR, initial virologic response; RFMP, Restriction Fragment Mass Polymorphism

◇ Corresponding author: Sung Won Cho, E-mail: sung_woncho@hotmail.com; Phone: 031) 219-5106; Fax: 031) 219-5999
주소: 경기도 수원시 영통구 원천동 산5번지 아주대학교병원 소화기내과 (우) 443-721

※ 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호: A050021).

서 론

만성 B형간염의 치료제인 라미부딘은 안전하고 효과적인 경구용 뉴클레오시드 유사체로서 hepatitis B virus (HBV) DNA 중합효소와 경쟁적으로 작용함으로써 바이러스의 증식을 억제한다.¹ 그러나 라미부딘을 장기간 투여하면 HBV DNA 중합효소에 돌연변이가 출현하여 약제 감수성을 감소시켜 바이러스 돌파현상 및 임상적 악화를 초래하게 된다.² 라미부딘 내성률은 1년 사용 후 16~32%, 2년 사용 후 37%, 3년 사용 후 49%, 4년 사용 후 71%까지 보고되고 있어 라미부딘을 오래 투여하면 궁극적으로 대부분의 환자에서 내성이 생기는 것으로 알려져 있다.³

아데포비어(adefovir dipivoxil)는 뉴클레오티드 유사체로서 초치료 환자 및 라미부딘 내성 만성 B형간염 환자에서 효과적으로 바이러스 증식을 억제함이 입증되었다.⁴ 또한 라미부딘과 비교해 내성 바이러스 출현의 빈도가 낮다고 알려져 있다.⁵ 이는 아데포비어가 뉴클레오시드 유사체가 아니라 뉴클레오티드 유사체이기 때문에 구조적으로 안정되어 내성 발생에 대한 역치가 높기 때문이다.⁶ 아데포비어 내성률에 관한 보고를 보면 Hadziyannis 등은 hepatitis B e antigen (HBeAg) 음성 환자에서 초치료의 경우 1년 0%, 2년 3%, 3년 11% 4년 18%, 5년 29%의 내성 발현을 보고하였고,⁷ 국내 환자들을 대상으로 한 Lee 등의 연구에서 라미부딘 내성 환자와 초치료 환자에서의 아데포비어 내성률을 비교한 결과 치료 1년 후 라미부딘 내성 환자에서는 18%에서 아데포비어 내성이 출현하였지만, 초치료 환자에서는 한 명도 내성을 보이지 않았다.⁵ Yeon 등의 연구에서도 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 내성률이 1년에 6.4%, 2년에 25.4%로 초치료 환자에 비하여 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 내성률이 높음을 보여주었다.⁸ 라미부딘 내성은 치료 전 HBV DNA 수치가 높은 경우, alanine aminotransferase (ALT) 수치가 높은 경우, 치료 6개월 후 바이러스반응이 낮은 경우에 조기에 발생한다.⁹ 아데포비어 치료 6개월째 초기 바

이러스반응이 나타나지 않는 경우 아데포비어로 치료를 지속하였을 때 소수의 환자에서만 바이러스반응이 나타나고 아데포비어 내성이 높은 것으로 보고되었다. Precore 변이와 관련된 HBeAg 음성이고, 치료 전 ALT가 높을수록 아데포비어에 대한 반응이 좋다는 보고가 일부 있으나,¹⁰ 아데포비어 반응 및 내성에 관련된 요인을 분석한 연구는 많지 않다.

이에 저자들은 본원에서 라미부딘 내성으로 아데포비어를 복용하고 있는 환자들을 대상으로 아데포비어 투여에 따른 혈청학적, 생화학적, 바이러스반응을 관찰하고 초기 바이러스반응과 아데포비어 내성에 영향을 미치는 인자들에 대해 알아보기로 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2004년 3월부터 2006년 12월까지 본원에서 라미부딘 내성 만성 B형간염으로 12개월 이상 아데포비어를 투여받은 환자를 대상으로 하였다. 대상 환자들은 라미부딘 내성을 확인 후 아데포비어 10mg을 1일 1회 경구투여하였고, 약물 순응도는 좋았으며, 대부분의 환자에서 라미부딘을 1개월 병용 투여 후 중지하고 아데포비어 단독치료를 하였다. 연구 대상에는 총 76명의 환자가 포함되었고 이 중 남자가 66명(86.8%), 여자가 10명(13.2%)이었고, 평균연령은 42.37(±7.7)세였다. HBeAg 양성인 환자가 64명(84.2%)이었고 간경변이 동반된 환자가 20명(26.3%)이었다.

2. 방법

혈청학적 검사는 HBeAg, antibody to HBeAg (anti-HBe), ALT, aspartate aminotransferase (AST), HBV DNA를 아데포비어 투여 직전과 투여 중 3개월 간격으로 측정하였다. 또한 투여 전 YMDD 변이와 precore 변이(G1896A) 여부를 측정하였고, 아데포비어 내성 돌연변이(rtA181T/V, rtN236T)는 투여 후 6개월, 12개월에 측정하였다.

혈청 HBV DNA의 정량은 b-DNA법을 이용하였고 추가적으로 치료 전 HBV DNA 치를 real time polymerase chain reaction (PCR)로 측정하였다.

Real time PCR은 Abbott Molecular Diagnostics (Wiesbaden, Germany)사의 HBV PCR kit를 이용하였으며 측정 범위는 $10^2 \sim 10^{10}$ copies/mL였다. 라미부딘 내성은 RFMP (Restriction Fragment Mass Polymorphism)를 이용하였으며 Gene Matrix (Yongin, Korea)사에서 시행하였다.¹¹ 아데포비어 내성은 Yeon 등의 보고와 동일한 RFMP법을 이용하였다.⁸

Precore 변이는 RFMP를 이용하였으며 방법은 다음과 같다. HBV DNA는 혈청 200 μ 에서 QIA-amp DNA Blood Kit (Qiagen, Chatworth, CA)를 이용하여 제조사의 방법대로 분리하였다. 바이러스 DNA 용액 2 μ 와 PCR 반응액 18 μ 로 PCR을 시행하였다. 반응액은 Platinum Taq DNA 중합효소(Invitrogen, Carlsbad, CA) 0.4 units, 시발체 10 pmol, 20 mM Tris-HCl (pH 8.4), 50 mM KCl, 0.2 mM of dNTP였다. 증폭은 94°C에서 2분간 전변성 후 94°C에서 15초간 변성, 50°C에서 15초간 냉각, 72°C에서 30초간 확장을 10회 반복 후, 94°C에서 15초간 변성, 55°C에서 15초간 냉각, 72°C에서 30초간 확장을 35회 반복하였다. HBV DNA는 바뀐 염기에 반응하는 시발체를 이용하여 PCR로 증폭하였다. 역방향 시발체는 FokI를 포함하였다. 정방향 시발체는 5'-TTCCCCCACTGTTTGGATGT CAGTTAT-3' (nucleotide number 712-738)고, 역방향 시발체는 5'-TACAGATTGGCCCCAATA CCACATGA-3' (nucleotide number 771-744)였다. RFMP는 변이종이 포함된 HBV DNA 분질의 질량분석에 의한 MALDI-TOF를 이용하였다. FokI와 BstF는 type IIS 분절 효소로 인지된 서열 바깥쪽을 자르도록 되어 있다. FokI 효소는 3'으로부터 9개의 염기부분에서 반대편 가닥은 13개의 염기에서 자르고, BstF5I는 3'으로부터 2개의 염기부분에서 반대편 가닥은 3'에서 자른다. G1896A는 7 mer, 13 mer로 구성된 유전자 절편을 질량 분광광도법으로 분석하였다.

초기 바이러스반응(initial virologic response, IVR)은 아데포비어 투여 6개월 후 혈청 HBV DNA가 4 log₁₀copies/mL 미만으로 감소된 경우로 정의하였는데 이는 AASLD guidelines에서 primary non-response의 판정 시점을 치료 후 6개월로 하고 있는 것을 근거로 하였다.¹ 바이러스 돌파현상(virologic breakthrough)은 초기 바이러스반응을 이루었으나 nadir 상태보다 1 log₁₀copies/mL 이상 두 번 연속 증가된 경우로 정의하였다.

3. 통계

통계 분석은 Windows용 SPSS 13.0판을 사용하였다. HBV DNA 값은 상용로그 값으로 전환하였다. 연속변수는 2-tailed student's *t*-test 또는 Mann-Whitney test를 이용하여 비교하였고, 범주형 자료는 2-tailed χ^2 -test 또는 Fisher's exact test를 이용하여 비교하였다. *P*값은 0.05 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 아데포비어 투여 전 환자의 임상양상

투여 전 ALT 평균값은 206.9(±189.7) U/L, AST 평균값은 136.4(±116.9) U/L였고, 초기 HBV DNA 평균값은 6.47(±1.28) log₁₀copies/mL였다. 아데포비어 투여 전 라미부딘의 평균 사용기간은 29.73(±13.74)개월이었다. Precore 변이 분석은 68명에서 시행하였고, 27명(39%)에서 precore 변이(A at nucleotide 1896)가 나타났고, 이 중 12명(18%)은 혼합형(A/G at nucleotide 1896)이었다. HBeAg 양성 환자에서 precore mutant는 55명 중 13명(23%)에서 있었고, HBeAg 음성 환자에서는 11명(100%) 모두에서 precore 변이가 있었다. YMDD 변이형은 rtM204I는 15명(19.7%), rtM204I+rtL180M은 17명(22.4%), rtM204V+rtL180M은 25명(32.9%), rtM204I+rtM204V+rtL180M은 17명(22.4%), 야생형은 2명(2.6%)이었고, rtM204V 단독은 관찰되지 않았다(표 1).

Table 1. Baseline characteristics of patients

		Patients (n=76)	
Mean age, years (SD)		42.37 (± 7.7)	
Male, n (%)		66.0 (86.8)	
HBeAg-positive, n (%)		64 (84.2)	
Mean ALT, IU/L (SD)		206.9 (± 189.7)	
Mean AST, IU/L (SD)		136.4 (± 116.9)	
HBV DNA, log ₁₀ copies/mL (SD)		6.47 (± 1.28)	
Mean duration of LAM prior to ADV, months (SD)		29.73 (± 13.74)	
Liver cirrhosis, n (%)		20 (26.3)	
Precore mutation, n (%) (n=68)	A1896	15	(22)
	A1896 + G1896	12	(18)
	G1896	41	(60)
YMDD mutation, n (%)	rtM204I	15	(19.7)
	rtM204I+rtL180M	17	(22.4)
	rtM204V+rtL180M	25	(32.9)
	rtM204I+rtM204V+rtL180M	17	(22.4)
	Wild type	2	(2.6)

HBeAg, hepatitis B e antigen; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; HBV, hepatitis B virus; SD, standard deviation; LAM, lamivudine; ADV, adefovir; rtM204I, methionine to isoleucine at codon 204; rtM204V, methionine to valine at codon 204; rtL180M, leucine to methionine at codon 180.

Table 2. Virologic, serologic and biochemical response to adefovir

	6 month	12 month
IVR, n (%) (n=76)	24 (31)	
ADV-R, n (%) (n=76)	4 (5)	10 (13.2)
Breakthrough, n (%) (n=76)		6 (7.9)
Seroconversion, n (%) (n=64)	5 (7.8)	7 (10.9)
HBeAg loss, n (%) (n=64)	3 (4.6)	10 (15.6)
HBV DNA < 4 log ₁₀ copies/mL, n (%) (n=76)	24 (31)	28 (36.8)
HBV DNA negative*, n (%) (n=76)	10 (13.2)	15 (19.7)
ALT normalization, n (%) (n=76)	53 (69.7)	59 (77.6)

IVR, initial virologic response defined as a decrease in serum HBV below 4 log₁₀copies/mL after 6 month of treatment; ADV-R, adefovir resistance; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBV, hepatitis B virus; ALT, alanine aminotransferase

*HBV DNA < 2000 copies/mL

2. 아데포비어 치료에 따른 혈청학적, 생화학적 반응
아데포비어 투여 후 6개월, 12개월째 혈청 ALT치가 76명의 환자 중 각각 53명(69.7%), 59명(77.6%)에서 정상화되었다. 64명의 HBeAg 양성 환자에서 HBeAg 혈청 소실은 6개월에 3명(4.6%), 12개월

에 10명(15.6%)에서 관찰되었으며, HBeAg 혈청 전환은 각각 5명(7.8%), 7명(10.9%)에서 관찰되었다. 치료 6개월, 12개월째 혈청 HBV DNA가 4 log₁₀copies/mL 미만인 경우는 각각 24명(31.6%), 28명(36.8%)이었고, HBV DNA 불검출률(<2,000

Table 3. Baseline factors associated with an initial virologic response

	IVR (n=24)	No-IVR (n=52)	P-value
Mean age, years (SD)	41.04 (± 7.63)	43.37 (± 7.69)	0.224*
Male, n (%)	21 (87)	45 (86)	0.610 [§]
HBV DNA, log ₁₀ copies/mL (SD) (n=65)	6.19 (± 1.47)	6.61 (± 1.18)	0.229*
Mean AST, IU/L (SD)	174.63 (± 133.50)	118.77 (± 105.29)	0.056*
Mean ALT, IU/L (SD)	277.04 (± 230.14)	174.62 (± 160.24)	0.122*
Liver cirrhosis, n (%)	10 (41)	10 (19)	0.039*
HBeAg-negative, n (%)	7 (29)	5 (9.6)	0.043 [§]
Precore mutation, n (%) (n=68)	A1896	6 (27)	0.485*
	A1896 + G1896	5 (23)	
	G1896	11 (50)	
YMDD mutation, n (%)	rtM204I+rtL180M	7 (29)	0.451*
	rtM204V+rtL180M	10 (41)	
	rtM204I+rtM204V+rtL180M	6 (25)	
	Wild type	1 (4)	

HBV, hepatitis B virus; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; HBeAg, hepatitis B e antigen; rtM204I, methionine to isoleucine at codon 204; rtM204V, methionine to valine at codon 204; rtL180M, leucine to methionine at codon 180; IVR, initial virologic response (< 4 log₁₀copies/mL).

*Student's *t*-test, †Mann-Whitney test, ‡ χ^2 -test, §Fisher's exact test

copies/mL)은 각각 10명(13.2%), 15명(19.7%)이었다(표 2).

3. 초기 바이러스반응

아데포비어 투여 후 초기 바이러스반응은 76명의 대상 환자 중에서 24명(31%)에서 나타났다. 초기 바이러스반응이 나타난 군에서 아데포비어 투여 12개월째 HBeAg 혈청전환율이 높았고(20% vs 3.8%, $P=0.029$), HBeAg 소실(20% vs 9.6%)과 ALT 정상화(91% vs 71%)가 더 높게 나타나는 경향이 있었다.

초기 바이러스반응에 영향을 준 인자를 분석해 보았을 때 HBeAg 음성 만성 간염(29% vs 9.6%, $P=0.043$), 간경변증이 있는 경우(41% vs 19%, $P=0.039$)에 초기 바이러스반응이 유의하게 많았다. 연령, 성별, 치료 전 AST 치, ALT 치, 초기 HBV DNA 치, precore 변이 여부, YMDD 변이의 유형에는 유의한 차이가 없었다(표 3).

4. 아데포비어 내성

아데포비어 내성은 6개월에 4명(5%), 12개월에 10명(13.2%)에서 출현하였다. 아데포비어 내성 돌연변이의 유형은 rtA181T가 7명(70%), rtA181V는 3명(30%)이었고, rt236 부위의 돌연변이는 관찰되지 않았다. 바이러스 돌파현상은 6명(7.9%)에서 나타났고, 이 중 4명이 아데포비어 내성 돌연변이가 나타나 내성 돌연변이가 없는 군과 비교해 유의하게 높은 바이러스 돌파현상을 보였다(40% vs 3%, $P=0.002$). 초기 바이러스반응을 보인 경우가 아데포비어 내성이 생긴 환자 10명 중에서 3명(30%), 내성이 없는 환자군에서는 21명(31%)으로 통계적 유의성은 없었다($P=0.61$). 즉 초기 바이러스반응과 내성 발현 여부 간에 유의한 관련성이 없었다.

아데포비어 내성에 영향을 미치는 인자를 분석해 보았을 때 precore 부위의 야생형과 변이형의 혼합형에서 아데포비어 내성률이 유의하게 높았다($P=0.013$). 그 외 나이, 성별, 치료 전 HBV DNA 치, 치료 전 ALT, AST, HBeAg의 여부, 간경변의

Table 4. Baseline factors associated with adefovir resistance

	ADV-R (n=10)	No-ADV-R (n=66)	P-value
Mean age, years (SD)	44.5 (± 7.33)	42.35 (± 7.77)	0.414*
Male, n (%)	7 (70)	59 (89)	0.120 [§]
HBV DNA, log ₁₀ copies/mL (SD) (n=65)	6.44 (± 0.72)	6.48 (± 1.36)	0.936*
Mean AST, U/L (SD)	192.6 (± 144.74)	127.89 (± 111.05)	0.097 [†]
Mean ALT, U/L (SD)	235.7 (± 218.78)	186.45 (± 186.45)	0.761 [†]
Liver cirrhosis, n (%)	3 (30)	17 (25)	0.521 [§]
HBeAg-negative, n (%)	3 (30)	9 (14)	0.189 [§]
Precore mutation, n (%) (n=68)	A1896	2 (20)	0.013 [†]
	A1896 + G1896	5 (50)	
	G1896	3 (30)	
	rtM204I+rtL180M	29 (44)	
YMDD mutation, n (%)	rtM204V+rtL180M	23 (34)	0.254 [†]
	rtM204I+rtM204V+rtL180M	13 (19)	
	Wild type	1 (12)	

HBV, hepatitis B virus; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; HBeAg, hepatitis B e antigen; rtM204I, methionine to isoleucine at codon 204; rtM204V, methionine to valine at codon 204; rtL180M, leucine to methionine at codon 180; ADV-R, adefovir resistance

*Student's *t*-test, [†] Mann-Whitney test, [§] χ^2 -test, [§] Fisher's exact test

여부, YMDD 변이의 유형 등은 유의한 차이를 보이지 않았다(표 4).

고 찰

아데포비어는 아데노신 일인산(adenosine monophosphate)의 뉴클레오타이드 유사체로 HBV DNA 중합효소를 경쟁적으로 억제하여 만성 B형간염 환자에서 강력한 항바이러스 효과를 나타낸다.⁶ 그러나 신독성을 최소화하기 위하여 결정된 10 mg 아데포비어의 항바이러스 효과는 상대적으로 약하며 환자에 따라 다양하게 나타난다. Marcellin 등은 HBeAg 양성 만성 간염 환자에서 아데포비어 투여 1년 시점에 HBV DNA가 평균 3.52 log₁₀copies/mL 감소함을 보고하였고,¹² Hadziyannis 등은 HBeAg 음성 만성 간염에서 투여 1년 후 HBV DNA 치가 3.91 log₁₀copies/mL 감소함을 보고하였다.¹³ Zeng 등의 연구에서는 중국인 HBeAg 양성 만성 간염 환자에서 아데포비어 투여 1년 후 HBV

DNA가 평균 4.5 log₁₀copies/mL 감소하였으며 25%의 환자에서는 HBV DNA가 3 log₁₀copies/mL 이하로 감소하는 낮은 항바이러스 효과를 관찰하였다.¹⁴

아데포비어의 항바이러스 효과는 라미부딘 내성 환자에서 더욱 감소한다. Bommell 등은 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 투여 1년 후 환자의 44%만이 HBV DNA 치가 10⁵ copies/mL 미만으로 감소함을 보고하였고,¹⁵ Fung 등은 아데포비어 투여 6개월 후 44%에서 HBV DNA 치가 10⁴ copies/mL 미만으로 감소함을 보고하였다.¹⁰ Lee 등은 초치료 환자에 비하여 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어의 항바이러스 효과가 약함을 관찰하였다.⁵

본 연구에서는 라미부딘 내성이 확인된 76명의 환자에서 아데포비어 단독요법이 시행되었고 초기 바이러스반응은 24명(31%)에서 관찰되었다. 이는 Fung 등이 보고한 44%와 비교해 볼 때 낮은 반응을 보였다.¹⁰ 본 연구에서 초기 바이러스반응을

이루지 못한 환자 중 12개월째 HBV DNA가 4 log₁₀copies/mL 미만인 경우가 7명(13%)이었다. 치료 6개월 시점에서 4 log₁₀copies/mL인 환자가 12명이었고, IVR의 기준을 HBV DNA가 4 log₁₀copies/mL 미만이 아닌 HBV DNA가 4 log₁₀copies/mL 이하로 정의하였다면 초기 바이러스반응은 36명(47%)으로 다른 연구와 유사하였다.

본 연구에서는 초기 바이러스반응에 영향을 미치는 인자를 조사하였다. HBeAg 음성 만성 간염(29% vs 9.6%, $P=0.043$), 간경변증이 있는 경우(41% vs 19%, $P=0.039$)에 초기 바이러스반응이 흔하였다. Fung 등은 HBeAg 음성 간염과 높은 ALT 치가 초기 바이러스반응의 예측요인으로 보고하였다.¹⁰ HBeAg 음성 간염, ALT 치가 높은 경우, 간경변증에서는 일반적으로 HBV DNA 치가 낮으므로 아데포비어 투여 시 초기 바이러스반응이 흔한 것으로 생각되지만 치료 전 HBV DNA 치는 관련이 없었다. 더 많은 환자를 대상으로 검증이 필요하다. 국내에서 Lee 등은 293명의 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 투여 전 11명(3.7%)에서 아데포비어 내성 변이종을 관찰하였다.¹⁶ 또한 최근에 443명의 만성 B형간염 환자 중 8명(2%)에서 아데포비어 내성을 보이는 rtI233V 변이종이 관찰되었다는 보고가 있다.¹⁷ 그러므로 일부 환자에서 치료 전 내성 변이종이 존재하므로 아데포비어 투여 시 불충분한 바이러스반응이 초래될 가능성이 있다.

라미부딘 내성 환자에서 아데포비어는 항바이러스 효과가 강하지는 않았지만 ALT 정상화와 HBeAg 혈청전환에는 효과가 있었다. ALT 정상화율은 아데포비어 투여 후 12개월에 77.6%였으며, HBeAg 소실과 HBeAg 혈청전환은 15.6%, 10.9%였다. Peter 등은 59명의 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 투여 후 12개월에 ALT 정상화와 HBeAg 소실을 관찰하였다.⁴ ALT 정상화는 아데포비어 단독치료군에서 47%였으며 라미부딘과 병합치료군에서 53%였고 5명(8.4%)에서 HBeAg이 소실되었다. Bommel 등은 18명의 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 투여 후 12개월에 ALT 정상화와 HBeAg 소실은 각각

57%, 19%로 보고하였고,¹⁵ Rapti 등은 아데포비어 투여 후 ALT 정상화를 72.7%로 보고하였다.¹⁸ 국내에서 Lee 등은 57명의 라미부딘 내성 환자와 38명의 초치료 환자에서 아데포비어 치료 후 12개월에 ALT 정상화와 HBeAg 소실을 관찰하였다.⁵ ALT 정상화는 내성 환자군에서 60%, 초치료군에서 55%였고, HBeAg 소실은 각각 14%, 21%로 두 군간에 차이가 없었다. Kim 등은 35명의 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어 치료 12개월 후 ALT 정상화는 70.6%였고 HBeAg 혈청전환은 14.3%로 보고하였다.¹⁹ 이러한 결과들은 라미부딘 내성 환자에서 아데포비어의 항바이러스 효과가 약하지만 HBeAg 혈청전환에 효과가 있음을 제시한다.

아데포비어 내성은 초치료 환자에서 드물게 발생하나 라미부딘 내성 환자에서는 흔한 것으로 알려져 있다. Lee 등은 아데포비어 투여 12개월에 18% 환자에서 내성 변이종을 관찰하였고,⁵ Yeon 등은 투여 12개월과 24개월에 각각 6.4%와 25.4%로 보고하였다.⁸ 본 연구에서 아데포비어 내성에 관련된 rtA181V/T와 rtN236T를 치료 6개월과 12개월에 측정하였다. 치료 6개월에 5%, 12개월에 13.2%에서 아데포비어 내성 변이종을 관찰하여 라미부딘 내성 환자에서 내성 변이종이 흔하게 발생됨을 확인하였고 치료 6개월 이전부터 내성 변이종이 발생함을 관찰하였다.

내성 발생은 항바이러스 약제의 바이러스 억제 능력과 관계가 있다. Yuen 등은 평균 29개월간 라미부딘을 투여한 연구에서 라미부딘 치료 6개월 후 HBV DNA가 10⁴ copies/mL 이상인 군에서는 내성이 64.4%에서 발생하였으며 10⁴ copies/mL 이하인 군에서는 31.7%에서 발생하여 치료 6개월 시점에서 HBV 억제 정도가 라미부딘 내성과 관련이 있었다.⁹ 또한 치료 전 HBV DNA 치가 높은 경우, ALT 치가 높은 경우 내성이 일찍 발생한다고 보고하였다.

Locarini 등은 144주간 아데포비어를 투여한 연구에서 아데포비어 치료 12개월 후 HBV DNA가 6 log₁₀copies/mL 이상인 군에서는 67%, 3~6 log₁₀copies/mL인 군에서는 25% 내성이 발생하여 바이

러스반응이 아데포비어 내성 발생에 중요한 예측 인자로 보고하였다.²⁰ 본 연구에서는 초기 바이러스반응이 있는 환자 24명 중 3명(12.5%), 초기 바이러스반응이 없는 환자 52명 중 7명(13.4%)에서 내성 변이종이 관찰되어 두 군간에 차이가 없었다. 본 연구에서는 아데포비어 치료기간이 1년으로 내성 발생률이 높지 않으므로 두 군간에 차이가 없었을 가능성이 있다. 장기간 치료한 환자를 대상으로 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Fung 등의 연구에서는 라미부딘에서 아데포비어 단독치료로 전환하는 경우($P=0.01$), HBV genotype D ($P=0.02$), 나이가 많을수록($P=0.04$) 아데포비어 내성이 흔하였다.¹⁰ 본 연구에서 아데포비어 내성에 영향을 미치는 유일한 인자로는 precore 변이종의 혼합감염이었다. Precore 변이종의 혼합감염에서 아데포비어 내성이 흔하였다($P=0.013$). Pre-core 변이종은 HBeAg 음성 간염과 관련되어 있고, HBeAg 음성 간염에서는 본 연구에서나 기존의 연구에서 아데포비어 반응이 좋은 것으로 보고되고 있다.²¹ 본 연구에서도 precore 변이종만 있는 경우는 야생형과 비교하여 내성률에 차이가 없었다. Precore 야생형과 변이형이 혼합된 상태에서 아데포비어 내성이 쉽게 생기는지의 여부는 더 많은 환자를 대상으로 한 연구에서 검증이 필요하다.

결론으로 본 연구에서 라미부딘 내성 만성 B형간염 환자 중 HBeAg 음성, 간경변증에서 아데포비어에 대한 초기 바이러스반응이 높았으며, pre-core 변이종의 혼합감염이 아데포비어 내성률을 높이는 요인으로 생각되었다.

요 약

배경: 아데포비어는 뉴클레오티드 유사체로 초 치료 및 라미부딘 내성 환자에서 효과적으로 HBV 바이러스 증식을 억제한다. 아데포비어는 라미부딘 내성과 비교해 그 빈도가 낮다. **목적:** 본 연구에서는 라미부딘 내성 만성 B형간염 환자에서 아데포비어 투여에 따른 혈청학적, 생화학적, 초기 바이러스반응, 그리고 내성 발생을 규명하고자 본 연

구를 시행하였다. **방법:** 2004년 3월부터 2006년 12월까지 라미부딘 내성 환자에서 1년 이상 아데포비어 10 mg을 복용한 환자를 대상으로 하였다. 아데포비어 투여 직전 및 투여 후 1년간 3개월 간격으로 HBeAg, anti-HBe, ALT, AST, HBV DNA를 측정하였고, 모든 환자에서 아데포비어 투여 6개월, 12개월에 adefovir 변이종(rtA181V/T, rtN-236T)을 분석하였다. HBV DNA는 b-DNA법을 YMDD 변이종과 adefovir 변이종은 RFMP법을 이용하였다. **결과:** 아데포비어 투여 후 초기 바이러스반응은 31%에서 나타났고, HBeAg 음성($P=0.04$), 간경변증($P=0.04$)이 있는 경우가 초기 바이러스반응이 흔하였다. 아데포비어 내성률은 6개월에 5%, 12개월에 13% 출현하였고, precore 변이종의 혼합감염($P=0.01$)에서 아데포비어 내성률이 높았다. **결론:** 라미부딘 내성 만성 B형간염 환자에서 HBeAg 음성, 간경변증이 있는 경우가 아데포비어에 대한 초기 바이러스반응이 잘 나타나고, pre-core 변이종의 혼합감염이 아데포비어 내성과 관계가 있었다.

색인단어: 아데포비어, B형간염, 라미부딘, 약제 내성

참고문헌

1. Lok ASF, McMahon BJ. AASLD Practice Guidelines: chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45:507-539.
2. Lai CL, Dienstag J, Schiff E, Leung NW, Atkins M, Hunt C, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2003;36:687-696.
3. Lok ASF, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff E, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003;125:1714-1722.
4. Peters MG, Hann HW, Martin P, Heathcote EJ, Buggisch P, Rubin R, et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004;126:91-101.
5. Lee YS, Suh DJ, Lim YS, Kim KM, Lee HC, Chung YH, et al. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology* 2006;43:1385-

- 1391.
6. Ryu SH, Chung YH. Resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *Korean J Hepatol* 2006;12:485-492.
7. Hadziyannis SJ, Tassopoulos N, Chang TT, Heathcote J, Kitis G, Rizzetto M, et al. Long-term adefovir dipivoxil treatment induces regression of liver fibrosis in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B: result after 5 years of therapy [Abstract]. *Hepatology* 2005;42(Suppl):754A.
8. Yeon JE, Yoo W, Hong SP, Chang YJ, Yu SK, Kim JH, et al. Resistance to adefovir dipivoxil in lamivudine resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil. *Gut* 2006;55:1488-1495.
9. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, Yuan HJ, Decraemer H, Lai CL. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. *Hepatology* 2001;34:785-791.
10. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, Conjeevaram H, Marrero J, Oberhelman K, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006;44:283-290.
11. Hong SP, Kim NK, Hwang SG, Chung HJ, Kim S, Han JH, et al. Detection of hepatitis B virus YMDD variants using mass spectrometric analysis of oligonucleotide fragments. *J Hepatol* 2004;40:837-844.
12. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of Hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:808-816.
13. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:800-807.
14. Zeng M, Mao Y, Yao G, Wang G, Hou J, Wang Y, et al. A double-blind randomized trial of adefovir dipivoxil in Chinese subjects with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006;44:108-116.
15. van Bömmel F, Wünsche T, Mauss S, Reinke P, Bergk A, Schürmann D, et al. Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004;40:1421-1425.
16. Lee JH, Kim DH, Choi MS, Koh KC, Paik SW, Lee JS, et al. Primary adefovir resistance mutations in patients with YMDD mutation and resistance to lamivudine: the incidence and clinical course [Abstract]. *J Hepatol* 2006;44(Suppl):174.
17. Chang TT, Lai CL. Hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med* 2006;355:322-323.
18. Rapti I, Dimou E, Mitsoula P, Hadziyannis SJ. Adding-on versus switching-to adefovir therapy in lamivudine-resistant HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45:307-313.
19. Kim DY, Kim HJ, Lee CK, Suh JH, Kim DH, Cho YS, et al. Efficacy of adefovir dipivoxil in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus genotype C infection. *Liver Int* 2007;27:47-53.
20. Locarnini S, Qi X, Arterburn S, Snow A, Brosgart CL, Currie G, et al. Incidence and predictors of emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil therapy for patients with chronic hepatitis B [Abstract]. *J Hepatol* 2005;42(Suppl):36A.
21. Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, Willems B, Leung N, Lee WM, et al. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2004;126:81-90.