만성 B형간염 환자에서 hepatitis B core antigen의 발현과 분포 위치에 따른 라미부딘의 치료 반응

포천중문의대 분당차병원 소화기내과학교실, 병리학교실¹

시계동 · 황성규 · 최주현 · 황일준 · 윤재호
김광일¹ · 권창일 · 홍성표 · 박필원 · 임규성

Abstract

Hepatitis B core antigen expression pattern predicts response to lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B

Kyeh Dong Shi, M.D., Seong Gyu Hwang, M.D., Ju Hyun Choi, M.D.,
Il Joon Hwang, M.D., Jai Ho Yoon, M.D., Kwang Il Kim, M.D.¹, Chang-Il Kwon, M.D.,
Sung Pyo Hong, M.D., Pil Won Park, M.D., Kyu Sung Rim, M.D.

Department of Gastroenterology and Hepatology, ¹Department of Pathology,
Bundang CHA Hospital, College of Medicine, Pochon CHA University, Seongnam, Korea

Backgrounds/Aims: Negative hepatitis B core antigen (HBcAg) staining in hepatocytes is indicative of viral replication by an active immune response. HBcAg is expressed mainly in the cytoplasm in patients with active hepatitis and hepatocyte regeneration, and mainly in the nuclei of hepatocytes in patients with minimal liver injury in the absence of hepatocyte regeneration. The aim of this study was to elucidate whether the existence and expression pattern of HBcAg predicts the response to antiviral treatment. **Methods:** The study involved 58 patients with biopsy-proven chronic hepatitis B who were treated with lamivudine. Hepatitis B e antigen (HBeAg), antibody to HBeAg, hepatitis B virus DNA, and alanine aminotransferase in serum were recorded every 3 months. The inflammation grade and the fibrosis stage of chronic hepatitis were scored from 0 to 4 according to lobular inflammation, portal inflammation, periportal inflammation, and fibrosis. **Results:** The 58 patients included 49(84%) HBcAg-positive patients, with HBcAg staining confined to the cytoplasm in 15(31%) and in both cytoplasm and nuclei in 34(69%). The grade of lobular inflammation and the total histology score were significantly higher in patients with cytoplasmic expression of HBcAg than in HBcAg-negative patients (lobular inflammation: 2.9 vs 2.1, $P=0.02$; total histology score: 12.2 vs 10.3, $P=0.04$). The virologic responses at 3, 6, 9, and 12 months differed significantly between the cytoplasmic and mixed expression groups ($P<0.01$). **Conclusions:** The expression pattern of HBcAg (including its possible absence) before initial therapy appears to predict the response to antiviral treatment. (Korean J Hepatol 2008;14:197-205)

Key words: HBcAg; Lamivudine; Liver biopsy; Histologic score; Virologic response

◆ Received April 4, 2008; revised May 23, 2008; accepted May 31, 2008

◆ Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; Anti-HBe, antibody to HBeAg; HBcAg, hepatitis B core antigen; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBV, hepatitis B virus; HIV, human immunodeficiency virus

◆ Corresponding author: Seong Gyu Hwang, E-mail: sghwang@cha.ac.kr; Phone: 031-780-5220; Fax: 031-780-5219

주소: 경기도 성남시 분당구 야탑동 351번지 포천중문의과대학 분당차병원 소화기내과 (우)463-712

* 본 연구는 보건 의료기술 연구개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임(A050021).

서 론

Hepatitis B core antigen (HBcAg)은 B형간염 바이러스(hepatitis B virus, HBV)의 precore/core 유전자에서 생성되어 바이러스의 DNA를 보호하는 중요한 단백질로서 HBV의 증식에 필수적인 역할을 하게 된다.¹ 또한, hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B e antigen (HBeAg)과 함께 숙주의 면역반응에 대한 표적 항원으로 작용하여 항원 특이 세포면역반응을 매개하는 것으로 알려져 있다.^{1,2}

간조직 내에 HBcAg의 분포는 크게 핵 내 분포와 세포질 내 분포로 나눌 수 있는데 이러한 분포 위치에 따라 조직적, 생화학적 간조직 손상 정도에 차이가 난다는 여러 보고가 있다.³⁻⁷ 핵 내에 분포할 경우는 바이러스를 복제하는 시기여서 간조직 손상이 없거나 적으며, 세포질 내에 분포할 경우는 숙주의 면역반응을 일으켜서 좀더 심한 간조직 손상과 간세포의 활발한 재생을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한, 간조직 내에서 HBcAg이 염색되지 않는 경우는 숙주의 세포면역반응이 더욱 활발하다는 것을 반영한다.⁷

현재까지 HBeAg 양성 환자군에서 라미부딘 치료 후 HBeAg의 혈청소실이나 혈청전환을 예측할 수 있는 인자로는 치료 전 혈청 alanine aminotransferase (ALT) 수치, HBV DNA 수치, 라미부딘 투여기간과 조직 활성도 등이 알려져 있으며,⁸ 이외에도 예측인자를 찾기 위한 여러 연구들이 있었다.

최근 라미부딘 투여 후에 숙주의 면역반응이 증강되며, HBcAg의 조직 내 발현 유무와 분포 위치에 따라 서로 다른 면역반응을 일으킨다고 알려져 있다.⁹⁻¹¹ 따라서, 저자들은 이번 연구에서 HBcAg의 조직 내 발현 유무와 분포 위치에 따라 만성 B형간염 환자에서 라미부딘 치료에 대한 반응이 차이가 있는지 알아보려고 하였다.

대상과 방법

1. 대상

본 연구는 포천중문의과대학교 분당차병원 임상시험심사위원회의 심사면제 승인을 받았으며, 2005년 5월부터 2006년 12월까지 본원에 내원한 만성 B형간염 환자 중 간생검 후 2주 이내에 라미부딘 초치료를 받은 환자 67명의 의무기록을 후향적으로 조사하였다. 이들 중 C형간염이나 HIV 감염이 동반된 경우, 유의한 음주력이 동반된 경우, 임신 부나 수유부, 자가면역질환을 가진 경우는 없었으며, 치료 시작 전 6개월 이내에 면역억제제나 항암 치료제, 결핵치료제를 투여받은 3명의 환자와 임상, 조직으로 간경변증을 진단받은 5명, 간암을 진단받은 1명의 환자를 대상에서 제외하고 최종 58명을 대상으로 연구를 진행하였다. 환자들의 평균 연령($\pm$ 표준편차)은 38($\pm$ 12)세였고, 남자와 여자는 각각 35명과 23명이었다. 대상 환자들의 간생검 시행 전의 임상 특성을 표 1에 표기하였다.

2. 방법

간생검을 시행하기 전에 생화학간기능검사, HBeAg, anti-HBe, HBV DNA검사를 시행하였고, 간생검 시행 후 라미부딘을 하루에 100 mg씩 1회 투여하면서 3개월 간격으로 반복 측정하였다. HBeAg와 anti-HBe의 측정은 microparticle enzyme immunoassay (AxSYMTM, Abbott, North Chicago, IL, USA)를 사용하였다. HBV DNA 측정은 정량적 hybridization capture법(Digene Hybrid capture II, Gaithersburg, MD, USA; 검출한계 0.5 pg/mL)과 polymerase chain reaction (PCR) 정량법을 이용한 Cobas Amplicor HBV Monito testTM (Roche Diagnostics Systems, Meylan, France; 검출한계 300 copies/mL)를 이용하였다. 간생검을 시행하기 전과 이후 라미부딘을 투여하면서 hybridization capture법으로 검사하였고 이후 검출한계 이하로 HBV DNA가 감소하였을 때 PCR 정량법으로 검사법을 교체하여 추적관찰하였다. HBV DNA는 1 pg/mL를 283,000 copies/mL로 환산하여

Table 1. Characteristics of the patients

	All patients	HBcAg (-)	HBcAg (+)		Total
			Cytoplasmic Type	Mixed Type	
Number of patients	58	9	15	34	49
Age, years	38±12	39±9	42±12*	35±11*	37±12
Male	35 (60%)	7 (78%)	6 (40%)	22 (65%)	28 (57%)
BMI, kg/m ²	22.9±3.2	24.4±2.4	23.0±3.9	22.5±2.8	22.7±3.2
AST, IU/L	280.3±404.0	465.6±511.5	297.2±378.6	223.8±365.5	246.2±371.1
ALT, IU/L	360.2±586.8	520.6±612.3	346.7±339.0	323.7±655.1	330.7±557.2
HBV DNA, log ₁₀ copies/mL	5.6±1.1	5.1±0.9 [†]	6.2±1.3 ^{††}	5.4±0.9 [†]	5.6±1.1
HBcAg positive	44 (76%)	6 (67%)	9 (60%)	29 (85%)	38 (78%)
Anti-HBe positive	22 (38%)	6 (67%)	8 (53%) [§]	8 (24%) [§]	16 (33%)

* $P=0.04$, [†] $P=0.04$, ^{††} $P=0.04$ obtained by Student *t*-test; [§] $P=0.04$ obtained by Chi square test.

Data are presented as number of patients and mean±SD.

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; HBcAg, hepatitis B core antigen; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBV, hepatitis B virus; SD, standard deviation.

copies/mL로 통일하여 표기하였다. 라미부딘 치료를 시행하면서 HBV DNA가 4 log₁₀ copies/mL 미만으로 감소하는 경우를 바이러스반응이 있다고 정의하였고,¹² 혈청 aspartate aminotransferase (AST) 및 ALT치가 정상화되었을 때를 생화학반응이 있다고 정의하였다. 또한, 라미부딘을 6개월 투여하였지만 혈청 HBV DNA치가 1/100 미만으로 감소하지 않는 경우를 일차 치료실패로 정의하였고, 라미부딘을 투여하면서 바이러스반응에 도달하였다가 이후 혈청 HBV DNA치가 최저치에서 10배 이상 증가한 경우를 바이러스 돌과현상으로 정의하였다.

생검된 간조직은 모두 파라핀 용액에 고정시킨 후 4 μm 두께의 파라핀 절편을 만들어 헤마톡실린-에오신염색을 실시하였다. 한 명의 간병리학자에 의하여 조사되었고, 대한병리학회 소화기병리연구회의 제안사항에 의거하여 문맥역 염증, 문맥 주변부 염증, 간소엽 내 염증 및 섬유화에 대해 각각의 점수를 0~4점으로 점수화하고, 총 점수 0~16점으로 합산하였다.¹³ HBcAg에 대한 토끼의 다클론성 항체(Signet, MA, USA)를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하여 HBcAg의 발현 유무를 조사하였고 분포 위치에 따라 핵 내 분포, 세포질 내 분포,

혼합 분포로 나누었다.

3. 통계분석

통계분석은 SAS 8.2 (SAS Institute, Cary, NC)를 사용하였다. HBV DNA는 분석을 위해 상용로그값으로 전환하였다. 연속변수(continuous variables)는 T 검정과 repeated measures analysis of variance (repeated measures ANOVA)를 이용하여 비교하였고, 범주형 자료(categorical data)는 카이제곱(chi-square)과 generalized estimating equations (GEE)을 이용하여 비교하였다. *P*값은 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. HBcAg 발현 유무와 분포 위치에 따른 분석

총 58명의 환자 중 HBcAg이 발현된 환자는 49명(84%), 발현되지 않은 환자는 9명(16%)이었다. HBcAg 발현군과 미발현군을 비교하였을 때 간기능검사와 HBV DNA 수치에 차이는 없었다(표 1). 조직검사 소견에서도 양 군 간에 차이를 보이지 않았다(표 2). 58명 중 HBcAg이 음성인 14명(24%)에서 HBcAg의 발현 유무가 어떤 영향을 주었는지

Table 2. Histological features according to HBcAg distribution patterns

	All patients	HBcAg (-)	HBcAg (+)		
			Cytoplasmic Type	Mixed Type	Total
Lobular inflammation score	2.6±0.9	2.1±0.9*	2.9±0.7*	2.5±0.9	2.6±0.9
Portal inflammation score	3.1±0.8	2.9±1.1	3.3±0.9	3.1±0.7	3.2±0.7
Periportal inflammation score	3.4±0.7	3.1±0.8	3.5±0.6	3.5±0.6	3.5±0.6
Fibrosis score	2.2±0.8	2.2±0.8	2.5±0.8	2.1±0.7	2.2±0.7
Total histological activity score	11.4±2.0	10.3±2.1 [†]	12.2±2.1 [†]	11.4±1.9	11.7±2.0

* $P=0.02$, [†] $P=0.04$ obtained by Chi square test.

Data are presented as mean±standard deviations.

HBcAg, hepatitis B core antigen.

에 대한 아군분석을 하였을 때 문맥역 염증, 문맥 주변부 염증, 총 점수가 HBcAg 발현군에서 3.0, 3.5, 12.0으로 HBcAg 미발현군의 1.7, 2.3, 8.7보다 높았다. HBeAg 양성 환자(44명, 76%)에서는 차이를 보이지 않았다.

HBcAg 발현군 49명 가운데 세포질 내 분포를 보인 군이 15명(31%), 혼합 분포를 보인 군이 34명(69%)이었으며, 핵내 분포만을 보인 경우는 관찰되지 않았다. 평균 연령은 세포질 내 분포군에서 42세였고, 혼합 분포군에서는 35세로 세포질 내 분포군에서 평균적으로 나이가 더 많았다($P=0.04$). 생화학간기능검사 수치에 큰 차이는 없었으나 라미부딘 치료 전의 HBV DNA 수치가 세포질 내 분포군에서 $6.2 \log_{10}$ copies/mL로 혼합 분포군의 $5.4 \log_{10}$ copies/mL보다 높았다($P=0.04$). anti-HBe 양성률은 세포질 내 분포군이 53% (8명)로 혼합 분포군의 24% (8명)보다 더 높았다($P=0.04$)(표 1). 간조직 소견에서 간소염 내 간염활성 등급과 섬유화 등급은 세포질 내 분포군에서 각각 2.9와 2.5로 혼합 분포군의 2.5와 2.1보다 더 높았으나 통계적인 의미는 없었다(표 2).

HBeAg 음성 환자와 양성 환자로 나누어 조사하였을 때 HBcAg의 분포 위치에 따른 간염활성 등급과 섬유화 단계의 차이는 없었다. 다만, HBeAg 양성 환자에서 라미부딘 치료 전에 검사한 HBV DNA 수치가 세포질 내 분포군에서 $6.8 \log_{10}$ copies/mL로 혼합 분포군의 $5.5 \log_{10}$ copies/mL보다 높게 측정되었다($P=0.02$).

HBcAg 미발현군과 세포질 내 분포군을 비교하였을 때 간생검에서의 간소염 내 간염활성 등급과 전체 등급의 총합이 세포질 내 분포군에서 각각 2.9와 12.2로 미발현군의 2.1과 10.3보다 통계적으로 높은 수치를 보였다(표 2). 또한, 라미부딘 치료 전에 시행한 HBV DNA 수치가 세포질 내 분포군에서 $6.2 \log_{10}$ copies/mL로 HBcAg 미발현군의 $5.1 \log_{10}$ copies/mL보다 통계적으로 유의하게 높았다(표 1). HBcAg 미발현군과 혼합 분포군을 조사하였을 때는 통계적인 차이가 없었다.

2. 라미부딘에 대한 치료반응

전체 환자 58명 중에서 추적관찰하였을 때 라미부딘 내성 발현이 확인된 1명과 자의로 치료를 중단한 5명을 제외한 52명에 대하여 라미부딘에 대한 치료반응을 조사하였다. 전체 환자의 생화학 반응은 3개월, 6개월, 9개월, 12개월에 각각 59.6%, 82.7%, 84.6%, 88.5%였고, 바이러스반응은 각각 65.4%, 75.0%, 71.2%, 82.4%였다. HBeAg의 혈청 전환율은 30.8%, 혈청소실률은 33.3%였다(표 3).

HBcAg 발현군과 미발현군을 비교하였을 때, 라미부딘에 대한 바이러스반응이 3개월, 6개월, 9개월, 12개월에 각각 61.4%, 72.7%, 68.2%, 79.5%와 87.5%, 87.5%, 87.5%, 100%로 발현군보다 미발현군에서 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. HBcAg 발현군 44명을 대상으로 조사하였을 때, HBV DNA 수치가 세포질 내 분포군에서 혼합 분포군보다 통계적으로 유의하게 감소하였으며,

Table 3. Response to lamivudine therapy according to HBcAg distribution pattern

	All patients	HBcAg (-)	HBcAg (+)		Total
			Cytoplasmic Type	Mixed Type	
Number of patients	52	8	13	31	44
HBV DNA, log ₁₀ copies/mL (mean ± SD)					
3 months	3.3 ± 1.4	2.5 ± 1.3	2.8 ± 0.9*	3.3 ± 1.5*	3.1 ± 1.4
6 months	2.8 ± 1.6	1.8 ± 1.6	2.0 ± 1.0*	2.8 ± 1.7*	2.6 ± 1.6
9 months	2.7 ± 1.7	1.6 ± 1.6	1.7 ± 1.0*	2.7 ± 1.8*	2.4 ± 1.7
12 months	2.4 ± 1.6	1.6 ± 1.7	1.5 ± 1.0*	2.4 ± 1.7*	2.1 ± 1.6
Biochemical response					
3 months	59.6%	87.5%	61.5%	51.6%	54.5%
6 months	82.7%	87.5%	84.6%	80.6%	81.8%
9 months	84.6%	87.5%	92.3%	80.6%	84.1%
12 months	88.5%	87.5%	84.6%	90.3%	88.6%
Virologic response					
3 months	65.4%	87.5%	84.6% [†]	51.6% [†]	61.4%
6 months	75.0%	87.5%	100% [†]	61.3% [†]	72.7%
9 months	71.2%	87.5%	100% [†]	54.8% [†]	68.2%
12 months	82.4%	100%	100% [†]	71.0% [†]	79.5%
HBcAg seroconversion	30.8%	0%	60.0%	29.4%	36.4%
HBcAg loss	33.3%	0%	50.0%	36.8%	39.1%

* $P=0.03$ obtained by repeated measures ANOVA, [†] $P<0.01$ obtained by generalized estimating equations.

HBcAg, hepatitis B core antigen; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBV, hepatitis B virus; SD, standard deviation.

세포질 내 분포군 13명의 바이러스반응이 3개월, 6개월, 9개월, 12개월에 각각 84.6%, 100%, 100%, 100%로 혼합 분포군 31명의 51.6%, 61.3%, 54.8%, 71.0%보다 통계적으로 유의하게 높았다(표 3, 그림 1).

HBeAg 음성 환자와 양성 환자로 나누어 HBcAg의 발현 유무 및 분포 위치에 따른 라미부딘의 치료 반응을 분석한 결과, HBeAg 양성 환자에서 HBcAg 세포질 내 분포군의 바이러스반응이 6개월, 9개월에 100%, 100%로 혼합 분포군의 57.7%, 50%보다 높게 나타났다($P<0.05$).

일차 치료실패 환자는 전체의 23.1% (12명)였으며 이 중 11명이 HBcAg 발현군에서 나타났으나 미발현군과의 통계적인 차이는 없었다. 하지만 이들 11명 전원이 HBcAg 혼합 분포군에 속해 있었으며 세포질 내 분포군에서는 한 명도 관찰되지 않

Figure 1. Virologic responses to lamivudine therapy according to the pattern of HBcAg distribution. The virologic responses at 3, 6, 9, and 12 months differed significantly between the cytoplasmic and mixed expression groups.

* $P<0.01$, generalized estimating equations.

았다(표 4, $P=0.01$).

바이러스 돌과현상은 일차 치료실패 환자 12명을 제외한 40명에 대해 조사하였으며 전체적으로 15% (6명)에서 관찰되었다. 이들 6명 중 5명이

Table 4. Primary non-response and virologic breakthrough according to HBcAg distribution pattern

	All patients	HBcAg (-)	HBcAg (+)		
			Cytoplasmic Type	Mixed Type	Total
Primary non-response	12/52 (23.1%)	1/8 (12.5%)	0/13 (0%)*	11/31 (35.5%)*	11/44 (25.0%)
Virologic breakthrough	6/40 (15.0%)	1/7 (14.3%)	0/13 (0%)	5/20 (25.0%)	5/33 (15.2%)

* $P=0.01$, Chi square test.

HBcAg, hepatitis B core antigen.

HBcAg 발현군이었으며 5명 모두 혼합 분포군에 속해 있었다(표 4).

고 찰

이번 연구는 만성 B형간염 환자에서 치료 시작 전 간생검을 통하여 HBcAg의 발현 유무와 분포 위치를 조사하는 것이 추후 라미부딘 치료반응을 예측하는 데 있어서 도움을 줄 수 있을 것이라는 가능성을 제시하였다.

HBV에 대한 숙주의 면역반응에 대해서는 현재까지 명확하게 밝혀지지 않고 있다. 하지만 여러 연구들에 의하면 항원 특이 세포면역반응이 바이러스 제거에 중요한 역할을 한다고 생각되고 있다.^{1,2} 이 중 CD4+ 림프구는 HBV의 다른 단백질보다 HBcAg에 대해 강력히 반응하는 것으로 알려져 있다.^{9,14,15} CD8+ 림프구는 HBV의 제거에 가장 중요한 역할을 하는 면역세포로 알려져 있다. 이에 대한 여러 연구들 중에 최근 CD8+ 림프구를 제거한 후 시행한 동물실험에서 CD8+ 림프구가 제거되었을 때 HBV DNA의 급격한 상승이 있어 순환하는 CD8+ 림프구의 숫자와 HBV DNA 수치 사이에 역상관관계가 성립한다는 보고도 있었다.¹⁶ HBcAg은 HBsAg, HBeAg과 더불어 CD8+ 림프구의 반응을 일으키는 항원결정인자로서 작용한다.^{17,18} 따라서 HBcAg은 바이러스 제거에 필수적인 세포면역반응에서 중요한 항원으로 생각된다.

이러한 HBcAg은 분포 위치에 따라 상이한 임상양상을 나타내는데, 핵 내에 분포할 때보다 세포질 내에 분포할 때에 심한 간손상과 활발한 간세포 재생을 일으키는 것으로 알려져 있다.³⁻⁷ 이에 대한

명확한 기전은 알려져 있지 않으나 HBcAg이 세포질 내에 분포할 때에 CD8+ 림프구에 의한 면역반응이 더욱 활발히 일어나 간세포의 손상이 더 심해지는 것으로 생각된다.^{6,7} 그 외에도 HBcAg의 유전자 변이에 의해 HBcAg의 분포와 면역반응의 변화가 일어나는 것이 아닌가 하는 가설도 있다.¹⁹

이번 연구에서 전체 환자 58명 가운데 HBcAg 분포를 보면 혼합 분포군이 34명(59%)으로 제일 많았고, 다음으로 세포질 내 분포군이 15명(26%), HBcAg 미발현군이 9명(16%)이었으며 핵내 분포군은 관찰되지 않았다. HBcAg의 분포 비율은 인종 및 연구 대상에 따라 여러 연구에서 서로 다르게 보고하고 있으나, 최근 국내에서 비슷한 환자군을 대상으로 한 Kim 등의 보고에서도 핵내 분포군이 전체의 2.7%로 매우 적은 비율을 가지고 있었다.⁷ 면역관용기에는 HBcAg이 주로 핵 내에 분포하고 간손상을 일으키지 않으나 면역제거기에는 세포질 내에 분포하여 염증반응과 간손상을 일으키게 된다.^{20,21} 또한, 이러한 면역반응에 노출된 결과 HBcAg이 간세포에서 발견되지 않게 될 수도 있다.⁷ 이번 연구에서 핵내 분포군이 적은 이유는 이 연구가 모든 만성 B형간염 환자를 고르게 포함한 것이 아니라 생화학간기능검사 이상으로 치료가 필요한 상태의 사람들에게서 간생검을 시행하였고 이런 환자들의 자료를 후향적으로 분석한 것이므로 면역관용기에 있는 사람들이 포함되지 않았기 때문인 것으로 생각된다.

이번 연구에서 세포질 내 분포군과 혼합 분포군의 간염활성 등급과 섬유화 등급에 차이는 없었다. 이는 세포질 내 분포군의 간조직 내 염증의 정도가 더 심하였다는 이전의 연구 결과들과는 차이를 보

인다.^{3,4,6,7} 또한, AST 및 ALT 수치도 두 군 간에 통계적인 차이를 보이지 않았다. 라미부딘 치료 전에 시행한 HBV DNA 수치는 세포질 내 분포군에서 높게 측정되었는데 이는 핵내 분포군에서 수치가 높았다는 Chu 등²¹ Kim 등의⁶ 연구와는 상반되었다. 이에 대해서는 비슷한 환자군을 대상으로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

HBeAg의 혈청전환은 자연경과, 항바이러스제 치료, HBV의 precore와 core promoter 유전자 변이에 의해 좌우된다. 이 중에서 자연경과에 가장 중요한 영향을 미치는 요인 중 하나로 환자의 연령을 들 수 있는데, 혈청전환을 보이는 환자의 대부분이 20세에서 39세의 연령대를 가진다는 보고가 있다.²² 따라서 환자의 연령이 증가할수록 혈청전환율은 높아지게 된다. 이번 연구 결과, 세포질 내 분포군이 혼합 분포군보다 anti-HBe의 양성률이 높은 것으로 나타났다. 이는 세포질 내 분포군의 연령대가 혼합 분포군보다 높았기 때문으로 생각된다.

HBeAg 양성군과 음성군으로 세분화하여 분석한 결과, HBeAg 양성군에서는 HBcAg 발현양상에 따른 조직 소견의 차이를 보이지 않았으며 HBeAg 음성군(14명)에서 HBcAg 발현군(11명)이 미발현군(3명)에 비해 조직의 염증 정도가 심하였다. 이는 HBeAg 양성군에서 HBcAg의 세포질 내 분포군이 핵내 분포군보다 문맥역 염증, 문맥 주변부 염증, 간소엽 내 염증이 심하였으며, HBeAg 음성군에서는 HBcAg의 세포질 내 분포군이 핵내 분포군보다 간소엽 내 염증만 심하였다는 Kim 등⁶의 연구와는 일치하지 않는 결과를 보였다.

국내의 보고에 따르면 라미부딘의 치료 후 반응을 조사하였을 때 평균 15.7개월간 투여한 경우 HBeAg 양성 환자에서 바이러스반응이 88.3%, HBeAg 음성 환자에서는 95.2%로 보고되었다. HBeAg 혈청전환율은 1년에 26.7%이며, 바이러스 돌과현상은 HBeAg 양성 환자에서 1년에 평균 11.3%였다.⁸ 이번 연구에서 1년간 추적관찰이 가능했던 52명의 라미부딘 치료반응을 살펴보면, 전체적으로 12개월의 바이러스반응이 82.4%였으며, HBeAg 양성

군 39명의 바이러스반응은 80%, HBeAg 음성군 13명의 바이러스반응은 100%로 국내 평균과 비슷한 수치를 보였다. HBeAg의 혈청전환율은 30.8%를 보였고, 바이러스 돌과현상은 15%에서 나타나 이 들 수치 또한 국내의 평균과 유사한 결과를 보였다.⁸

이번 연구 결과, HBcAg 미발현군과 세포질 내 분포군의 조직에서의 라미부딘에 대한 치료반응이 좋은 것으로 나타났다. 특히 세포질 내 분포군에서는 치료반응이 통계적으로 유의하게 좋은 것으로 나타났으며, 일차 치료실패나 바이러스 돌과현상도 나타나지 않았다. 만성 B형간염 환자에서 HBV에 대한 항원 특이 CD4+ 림프구와 CD8+ 림프구의 반응이 저하되어 있는 것이 B형간염 만성화의 주요한 요인으로 알려져 있다.^{17,23} 이러한 상태에서 라미부딘을 투여하면 바이러스의 복제가 억제되는 동시에 항원 특이 CD4+ 림프구와 CD8+ 림프구의 기능이 증가한다는 보고가 있다.⁹⁻¹¹ 또한, 라미부딘과 인터페론에 반응이 있는 만성 B형간염 환자의 간조직 소견에서 치료 초기에 CD8+ 림프구가 증가되어 있으며, 반응이 없는 환자군에서 HBcAg의 핵내 분포가 증가되어 있다는 보고도 있다.²⁴ 따라서 치료 시작 후 라미부딘에 의한 면역강화 효과에 더해서 숙주의 높은 면역반응을 유도하는 HBcAg의 세포질 내 분포군에서 치료에 대한 반응이 좋게 나온 것으로 생각된다. 조직에서 HBcAg이 발현되지 않는 것 또한 숙주의 면역반응의 결과로 생각되며,⁷ 이번 조사에서도 라미부딘에 대한 치료반응이 좋은 것으로 나타났지만 통계적인 의미는 없었다.

HBcAg의 분포 양상과 라미부딘 치료반응에 대한 예전의 연구들을 살펴보면, 국내²⁵ 및 국외^{24,26}에 소수만 보고되고 있는데, Uzun 등²⁶의 연구에서는 HBcAg 미발현군에서 라미부딘과 인터페론에 대한 치료반응이 좋게 나타나 이번 연구와 유사점을 보였다. 하지만 이들의 연구에서는 세포질 내 분포군이 적게 나타나 이에 대한 연구를 하지 못한 단점이 있다.

이번 연구는 후향적으로 시행되어 치료 후 간생검이 시행되지 못하였으며, HBcAg의 핵 내 분포

군이 포함되지 않았고, 전체적인 환자 수가 적었다는 단점이 있다. 하지만 라미부딘 치료반응률이 예전의 연구들과 유사하게 나타났고, HBcAg의 양성군과 음성군에 대해 세분화하여 연구를 진행하였다는 것을 장점으로 들 수 있다.

결론으로 만성 B형간염 환자에서 라미부딘 치료 시작 전에 간생검을 통하여 HBcAg의 발현 유무와 분포 위치를 파악하는 것이 환자의 라미부딘 치료 반응을 예측하는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 특히, HBcAg이 발현되지 않거나 세포질 내에 분포하는 경우는 1년간의 라미부딘 치료반응이 매우 우수하고, 일차 치료실패나 바이러스 돌파 현상도 적게 나타날 것으로 추측할 수 있겠다. 그러나 치료 전의 간조직에서 세포질 내 분포군과 혼합 분포군의 간염활성 등급과 섬유화 등급에 차이가 없어 HBcAg의 발현양상과 치료반응과의 연관성은 면역반응의 활성도를 매개로 일어날 것으로 추정되지만 이를 조직의 염증 소견으로 설명하기는 어려웠다. 앞으로 이에 관해서 좀더 대규모의 전향적인 연구와 장기적인 연구, 다른 항바이러스제에 대한 추가 연구도 필요하리라 생각된다.

요 약

목적: 만성 B형간염 환자에서 HBcAg이 조직 내에 발현되지 않는 것은 활발한 면역 활동에 의해 바이러스의 증식이 억제되는 것을 반영한다. 또한, 핵 내에 있던 HBcAg이 세포질 내로 이동하는 것은 심한 간손상과 이에 따른 간세포의 재생을 의미한다. 따라서 치료 전에 만성 B형간염 환자의 간조직 내 HBcAg의 유무와 발현양상을 알아보는 것이 치료반응을 예측하는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되어 연구를 시작하였다. **대상 및 방법:** 간생검을 시행한 58명의 만성 B형간염 환자를 대상으로 HBcAg에 대한 항체를 이용하여 간조직 내 HBcAg의 유무와 염색 양상을 조사하였고, 이 중 12개월간 라미부딘을 투여한 52명에 대해 라미부딘에 대한 치료반응을 조사하였다. 각 환자들은 치료 전과 치료 시작 후 3개월 간격으로 혈청에서 HBeAg,

anti-HBe, HBV DNA 수치 확인과 간기능검사를 시행하였다. 또한, 대한병리학회 소화기병리연구회의 제안사항에 의거하여 문맥역 염증, 문맥 주변부 염증, 간소엽 내 염증 및 섬유화에 대해 각각의 점수를 0~4점으로 점수화하고, 총 점수 0~16점을 합산하였다. **결과:** 총 58명의 환자 중 HBcAg이 발현된 환자는 49명(84%), 발현되지 않은 환자는 9명(16%)이었다. HBcAg 발현군 49명 중 세포질 내 분포군이 15명(31%), 혼합 분포군이 34명(69%)이었으며, 핵내 분포군은 관찰되지 않았다. HBcAg 미발현군과 세포질 내 분포군을 비교하였을 때 간조직 소견에서 간소엽 내 간염활성 등급과 등급의 총합에서 세포질 내 분포군이 2.9와 12.2로 미발현군의 2.1과 10.3보다 통계적으로 높은 수치를 보였다($P<0.05$). 라미부딘에 대한 치료반응을 조사한 52명 중에서 세포질 내 분포군 13명의 바이러스반응이 3개월, 6개월, 9개월, 12개월에 각각 84.6%, 100%, 100%, 100%로 혼합 분포군 31명의 51.6%, 61.3%, 54.8%, 71.0%보다 통계적으로 유의하게 높았다($P<0.05$). **결론:** 만성 B형간염 환자에서 치료 시작 전 간생검을 통하여 HBcAg의 발현 유무와 분포 위치를 조사하는 것이 향후 라미부딘 치료반응을 예측하는 데 있어서 도움을 줄 수 있다.

색인단어: HBcAg, 라미부딘, 간생검, 간염활성 등급, 바이러스반응

참고문헌

1. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004;350:1118-1129.
2. Huang CF, Lin SS, Ho YC, Chen FL, Yang CC. The immune response induced by hepatitis B virus principal antigens. *Cell Mol Immunol* 2006;3:97-106.
3. Hsu HC, Su IJ, Lai MY, Chen DS, Chang MH, Chuang SM, et al. Biologic and prognostic significance of hepatocyte hepatitis B core antigen expressions in the natural course of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1987;5:45-50.
4. Naoumov NV, Portmann BC, Tedder RS, Ferns B, Eddleston AL, Alexander GJ, et al. Detection of hepatitis B virus antigens in liver tissue. A relation to viral replication

- and histology in chronic hepatitis B infection. *Gastroenterology* 1990;99:1248-1253.
5. Chu CM, Liaw YF. Intrahepatic distribution of hepatitis B surface and core antigens in chronic hepatitis B virus infection. Hepatocyte with cytoplasmic/membranous hepatitis B core antigen as a possible target for immune hepatocytolysis. *Gastroenterology* 1987;92:220-225.
6. Kim TH, Cho EY, Oh HJ, Choi CS, Kim JW, Moon HB, et al. The degrees of hepatocyte cytoplasmic expression of hepatitis B core antigen correlate with histologic activity of liver disease in the young patients with chronic hepatitis B infection. *J Korean Med Sci* 2006;21:279-283.
7. Kim CW, Yoon SK, Jung ES, Jung CK, Jang JW, Kim MS, et al. Correlation of hepatitis B core antigen and beta-catenin expression on hepatocytes in chronic hepatitis B virus infection: relevance to the severity of liver damage and viral replication. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1534-1542.
8. Choi JY. The efficacy of lamivudine in Korean patients with chronic hepatitis B. *Korean J Hepatol* 2005;11:25-30.
9. Mizukoshi E, Sidney J, Livingston B, Ghany M, Hoofnagle JH, Sette A, et al. Cellular immune responses to the hepatitis B virus polymerase. *J Immunol* 2004;173:5863-5871.
10. Boni C, Penna A, Ogg GS, Bertoletti A, Pilli M, Cavallo C, et al. Lamivudine treatment can overcome cytotoxic T-cell hyporesponsiveness in chronic hepatitis B: new perspectives for immune therapy. *Hepatology* 2001;33:963-971.
11. Boni C, Penna A, Bertoletti A, Lamonaca V, Rapti I, Missale G, et al. Transient restoration of anti-viral T cell responses induced by lamivudine therapy in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:595-605.
12. Cho JH, Cheong JY, Kang JK, Park JS, Lee MH, Lim NK, et al. Factors affecting initial virologic response and emergence of resistant mutants after adefovir treatment in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients. *Korean J Hepatol* 2008;14:58-66.
13. Park CI. New classification of chronic hepatitis: introduction and application. *J. Korean Med Assoc* 1998;41:323-329.
14. Ferrari C, Bertoletti A, Penna A, Cavalli A, Valli A, Missale G, et al. Identification of immunodominant T cell epitopes of the hepatitis B virus nucleocapsid antigen. *J Clin Invest* 1991;88:214-222.
15. Penna A, Artini M, Cavalli A, Levrero M, Bertoletti A, Pilli M, et al. Long-lasting memory T cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J Clin Invest* 1996;98:1185-1194.
16. Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003;77:68-76.
17. Maini MK, Boni C, Lee CK, Larrubia JR, Reignat S, Ogg GS, et al. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection. *J Exp Med* 2000;191:1269-1280.
18. Webster GJ, Reignat S, Brown D, Ogg GS, Jones L, Seneviratne SL, et al. Longitudinal analysis of CD8+ T cells specific for structural and nonstructural hepatitis B virus proteins in patients with chronic hepatitis B: implications for immunotherapy. *J Virol* 2004;78:5707-5719.
19. Ning B, Shih C. Nucleolar localization of human hepatitis B virus capsid protein. *J Virol* 2004;78:13653-13668.
20. Akiba T, Nakayama H, Miyazaki Y, Kanno A, Ishii M, Ohori H. Relationship between the replication of hepatitis B virus and the localization of virus nucleocapsid antigen (HBcAg) in hepatocytes. *J Gen Virol* 1987;68:871-877.
21. Chu CM, Yeh CT, Chien RN, Sheen IS, Liaw YF. The degrees of hepatocyte nuclear but not cytoplasmic expression of hepatitis B core antigen reflect the level of viral replication in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol* 1997;35:102-105.
22. Chu CM, Hung SJ, Lin J, Tai DI, Liaw YF. Natural history of hepatitis B e antigen to antibody seroconversion in patients with normal serum aminotransferase levels. *Am J Med* 2004;116:829-834.
23. Chang JJ, Wightman F, Bartholomeusz A, Ayres A, Kent SJ, Sasadeusz J, et al. Reduced hepatitis B virus (HBV)-specific CD4+ T-cell responses in human immunodeficiency virus type 1-HBV-coinfected individuals receiving HBV-active antiretroviral therapy. *J Virol* 2005;79:3038-3051.
24. Tang TJ, de Man RA, Kusters JG, Kwekkeboom J, Hop WC, van der Molen RG, et al. Intrahepatic CD8 T-lymphocytes and HBV core expression in relation to response to antiviral therapy for chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 2004;72:215-222.
25. Jang JY, Lee YH, Kim YS, Kim YD, Eun SH, Kim SK, et al. The response to lamivudine in patients with chronic hepatitis B according to the intrahepatic expression of hepatitis B core and surface antigen [Abstract]. *Korean J Hepatol* 2006;12(Supple 3):S83.
26. Uzun Y, Bozkaya H, Erden E, Cinar K, Idilman R, Yurdaydin C, et al. Hepatitis B core antigen expression pattern reflects the response to anti-viral treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:977-981.