

라미부딘 치료로 HBeAg 혈청전환 후 재발한 만성B형간염 환자에서 유전자의 변이

최수길, 조유경, 송 병 철

제주대학교 의학전문대학원 내과학교실

Abstract

Genetic change of full-length hepatitis B virus in relapsed patients with chronic hepatitis B after lamivudine-induced HBeAg seroconversion

Xiu Ji Cui, Yoo-Kyung Cho, Byung-Cheol Song

Department of Internal Medicine Jeju National University School of Medicine, Jeju Korea

Even though, therapy-induced HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection is durable in Western patients, frequent relapse of HBV has been reported in Korea. In addition, HBV genotype C, which is prevalent in Korea, has been reported to be associated with relapse after lamivudine-induced HBeAg seroconversion, suggesting some viral factor might be associated with relapse after lamivudine-induced HBeAg seroconversion. Therefore, the goal of this study is to analyze the genetic changes of full-length HBV in relapsed 6 patients with chronic hepatitis B after lamivudine-induced HBeAg seroconversion. Full-length HBV DNA sequences at baseline, at the time of HBeAg seroconversion and relapse were analyzed. Amino acid substitutions and nucleotide changes occurred in specific regions in core protein, X protein, reverse transcriptase, and basal core promoter (BCP). In the core protein, cP130T, cY88G, cE180G were frequently detected. In X protein, xK130M, xV131F were found in all six patients at any time points. In amino acids in reverse transcriptase, rTK267Q was observed in 4 patients. Mutations in the BCP occurred in all patients at baseline. At the time of HBeAg seroconversion, BCP mutation observed in 3 patients. However, at relapse, BCP mutation observed in 4 patients. In patients with relapse after lamivudine-induced HBeAg seroconversion, substitution in specific amino acid and preexisting BCP mutation might contribute to the high relapse in Korean patient with chronic hepatitis B. (J Med Life Sci 2012;9:16-22)

Key Words : chronic hepatitis B, lamivudine, HBeAg seroconversion, relapse

서론

국내 간질환의 주요 원인은 바이러스성 감염이며 그 중 2/3 이상이 B형 간염 바이러스(hepatitis B virus: HBV) 감염에 의한 간질환이다. 국내에서 1983년 B형간염 예방접종이 상용화되고 1995년부터 영유아 대상으로 국가 예방 접종사업이 시행됨에 따라 B형간염 유병률은 1980년대 성인에서 8.3-8.6%에서 최근에는 3.7%까지 감소하였고 소아에서는 0.2%까지 감소하였다¹⁾. 하지만 아직까지 우리나라는 B형간염 유병률이 높은 지역으로 만성 간염, 간경변증 및 간세포 환자의 60-70%가 HBV 감염이 그 원인임을 고려할 때 HBV는 우리나라 국민 건강에 미치는 영향이 매우 크다²⁾. 또한 최근 성인에서 발생하는 급성 바이러스 감염의 중요한 원인 중의 하나이다³⁾.

HBV감염은 수직(vertical infection) 감염과 수평(horizontal

infection)이 있는데 국내의 경우 대부분 출생 시 HBV에 감염된 산모에서 신생아에 감염되는 수직 감염 경로를 거치게 되어 만성 B형 간염으로 진행되는 빈도가 높다⁴⁾. 수직 감염에 의한 만성 B형 간염의 임상경과는 초기에는 면역관용기 (immune tolerant phase)를 거친 후 20-30세 이후 면역제거기(immune clearance)에 바이러스의 증식을 충분히 억제 하는 경우 HBeAg혈청전환을 통해 (HBsAg음성, HBV DNA 음성) 비활동성 보균자(HBsAg inactive carrier)로 진행하게 되고 간 기능은 정상으로 회복하게 된다⁵⁾. 하지만 대부분인 경우 면역체계의 적절한 반응이 진행되지 않아 만성 B형 간염으로 진행하게 된다. 면역 제거 기간에 인간의 면역체계의 반응에서 바이러스의 특정 부위에 돌연변이가 발생하고 이러한 돌연변이체가 지속되면서 간질환의 진행과 연관이 된다고 알려져 있다⁶⁾. HBV의 자연경과 중 면역제거기에 가장 흔한 변이는 precore, 및 basal core promoter (BCP)의 변이 및⁷⁾ core 유전자 영역의 돌연변이다^{8,9)}.

라미부딘은 만성 B형 간염의 치료에 광범위하게 사용되는 약제로 HBV의 복제에 관여하는 역전사 중합효소(reverse transcriptase)의 활성을 억제하여 바이러스의 복제를 억제하며

Address for correspondence : Byung-Cheol Song, M.D.
Department of Internal Medicine Jeju National University School of Medicine 1753-3 Ara-dong Jeju 690-716, Republic of Korea
E-mail : drsong@jejunu.ac.kr

치료 시작 1년 후 기저수치에 비해 3-5 log₁₀ copies/ml의 혈청 HBV DNA의 양을 감소시키며 간 기능을 회복해주고 간 섬유화도 개선해 준다¹²⁻¹⁴. 또한 최근 연구에서 장기간 라미부딘을 사용하는 경우 간경화의 진행, 간세포암 발생의 예방효과가 보고되었다¹⁵.

그러나 상기한 라미부딘의 장점에도 불구하고, 라미부딘 치료의 가장 큰 한계점은 장기간 사용 시 라미부딘 약제에 대한 내성이 발생하며 이는 필연적으로 간기능의 악화 및 간질환의 진행을 동반한다. 라미부딘의 내성율은 첫 해에는 15-22%이며 점차적으로 증가하여 5년 후 내성 발생율은 70-80%에 달한다¹⁶.

두번째 라미부딘 치료의 제한점은 치료 종료 시 대부분 재발하며, 또한 일반적인 항바이러스의 치료 목표인 HBeAg 혈청전환이 된 후 라미부딘 종료 시 재발이 흔하다. 서양의 보고에 의하면 라미부딘 치료 후 HBeAg혈청전환이 된 후 라미부딘 중단 시 재발율이 10-15%이내로 비교적 낮은 편이나^{13,17}, 우리나라의 결과는 약 50%에서 재발한다고 보고되었다¹⁸. 라미부딘의 치료 중단 후 재발하는데 관여하는 중요한 요인으로는 나이, 라미부딘 치료 전 혈청 HBV DNA의 양, HBeAg혈청전환 후 라미부딘 치료 추가 기간, 및 HBV 유전자형 등이다¹⁸⁻²¹. HBV 유전자형은 현재 A-H까지 8가지의 유전자형이 보고되고 있고 지역에 따라 다른 분포양상을 보인다. 예로 유전자형 A는 주로 미국, 유럽 등에 흔하고, 유전자형 B는 주로 대만 홍콩을 포함한 동남아시아. C는 우리나라를 포함한 동북아시아에 흔한데²², 국내에는 거의 대부분의 환자에서 유전자형이 C임을 보고되었다²³. 따라서 국내에 유전형이 C가 대부분이기 때문에 국내에서 라미부딘 치료 후 투약 종료 시 재발이 많을 것으로 추정되나 그 근본적인 재발의 기전은 아직 규명되고 있지 않다.

라미부딘 등 항바이러스 치료 후 바이러스가 비증식하다 다시 재발하는 경우, 두 가지 가능성이 제시된다. 첫째는 HBV가 특정 유전자의 부위에 변이가 생기고 이로 인해 HBV의 증식능이 증가하는 경우이다. 현재까지 HBV의 증식에 관여하는 것으로 알려진 부위는 BCP 영역에서 특히, 1762번 염기서열이 A>T 및 1764번 염기서열이 G>A로 치환되는 돌연변이(A1762T/G1764A)가 대표적이며 또한 precore 부위의 1896번 염기 G>A로 바꾸는 변이로 이는 in vitro 실험에서 야생형에 비해 바이러스 증식능이 증가한다고 알려져 있다²⁴⁻²⁶.

둘째는 투약 종료 후 면역체계의 부적절한 반응이다. 면역체계, 특히 T 세포가 바이러스를 억제하는 기전은 HLA특이 항원부분을 T 세포가 이 부위를 인식하여 바이러스를 억제한다. 그러나 이 부위에 변이가 발생하면 바이러스는 면역체계의 감시에서 벗어나 바이러스의 지속적인 생존에 관여할 것으로 추정되나^{25,30}, 현재까지 라미부딘 치료 후 재발 과정에서 이에 대한 연구는 없다.

따라서 본 연구의 연구목표는 라미부딘 치료 중 HBeAg 혈청 전환되어 비활동성으로 전환된 후 변하여 라미부딘 치료를 중단한 환자 중 재발한 환자를 대상으로 각 환자에서 라미부딘 치료 전, HBeAg혈청전환 시점 및 재발 시 혈청에서 HBV 유전자의 염기 서열 분석을 통하여 감염의 재발 기전을 확인하고자 한다.

환자 및 방법

라미부딘 치료로 HBeAg혈청 전환 후 ALT수치가 정상이고 라미부딘 치료를 중단한 후 재발한 만성B형간염 환자 6예를 대상으로 하였다. 재발의 정의는 라미부딘 투여 후 HBeAg 혈청전환 후 다시 HBV DNA가 검출되며 혈청 ALT가 정상 상한 이상으로 증가한 경우로 하였다. 환자들은 치료 및 추적 기간 중 기본적인 혈액 및 혈청 생화학적 검사를 시행하였으며 혈액 보관에 동의한 환자들의 혈청은 분석 시까지 -80°C에서 보관하였다. 혈청 HBV DNA 추출은 200μl의 혈청에서 상분화된 High Pure Viral Nucleic Acid Kit(Roche diagnostics GmbH, Penzberg, Germany)를 이용하였으며 nested PCR에 사용될 주형 DNA로 한다. Nested PCR에 사용된 primer는 Gunther et al. (1995)와 Takahashi et al. (1998)에 설명된 primer를 사용하였다 (표 1)^{31,32}.

Table 1. Primers for the amplification of the full-length HBV DNA and sequencing

First PCR (Full-Length)	
Long fragment	
P1 (forward: nt 1821-1841)	5' - TTT TCA CCT CTG CCT AAT CA-3'
P2 (reverse: nt1823-1806)	5' - AAA AGT TGC ATG GTG CTG G-3'
Short fragment	
T711 (forward: nt 1255-1274)	5' - CCT CTG CCG ATC CAT ACT GC-3'
HC24 (reverse: nt 2048-2072)	5' -CCT GAG TGC TGT ATG GTG AGG-3'
Second PCR	
P1 (forward: nt 1821-1841)	5' - TTT TCA CCT CTG CCT AAT CA-3'
T731 (reverse: nt 2911-2930)	5' - TGA TCG GGA AAG AAT CCC AG-3'
P88 (forward: nt 2816-2835)	5' - GTC ACC ATA TTC TTG GGA AC-3'
#S2-2 (reverse: nt 668-687)	5' - GGC ACT AGT AAA CTG AGC CA-3'
#S2-1 (forward: nt 455-474)	5' - CAA GGT ATG TTG CCC GTT TG-3'
T716 (reverse: nt 1576-1595)	5'-GGT GAA GCG AAG TGC ACA CG-3'
T713(forward: nt 1421-1440)	5' -TTG TYT ACG TCC CGT CGG CG-3'
T717 (reverse: nt 1872-1892)	5' -GCC ACC CAA GGC ACA GCT TGG-3'
Sequencing PCR	
P1 (nt 1821-1841)	5' - TTT TCA CCT CTG CCT AAT CA-3'
HC11 (nt 2191-2210)	5' - CAG ACA ACT ATT GTG GTT TC-3'
T726: (nt 2457-2476)	5' - CCT TGG ACT CAT AAG GTG GG-3'
P88 (nt 2816-2835)	5' - GTC ACC ATA TTC TTG GGA AC-3'
T732 (nt 3075-3094)	5' - GTG GAG CCC TCA GGC TCA GG-3'
#S1-1 (nt 192-211)	5' - TCG TGT TAC AGG CGG GGT TT-3'
#S2-1 (nt 455-474)	5' - CAA GGT ATG TTG CCC GTT TG-3'
T707 (nt 637-656)	5' - CCT ATG GGA GTG GGC CTC AG-3'
HB4F (nt 970-992)	5' - CCTATTGATGGAAAGTATGTCA-3'
T711 (nt 1255-1274)	5' - CCT CTG CCG ATC CAT ACT GC-3'
T713 (nt 1421-1440)	5' -TTG TYT ACG TCC CGT CGG CG-3'

약 3.2Kb의 HBV DNA는 두 개의 PCR 분획A, B로 나누어서 1차 PCR로 증폭하였다. PCT 분획 A는 sense primer P1(5'-CCG GAA AGC TTG AGC TCT TCT TTT TCA CCT CTG CCT AAT CA-3', nt 1821-1846) 과 anti-sense P2(5'-CCG GAA AGC TTG AGC TCT TCA AAA AGT TGC ATG GTG CTG G-3', nt 1823-1806)로 PCR 분획 B는 sense primer

T711(5'-CCT CTG CCG ATC CAT ACT GC-3', nt 1255-1274) 과 antisense primer HC24(5'-CCT GAG TGC TGT ATG GTG AGG-3', nt 2048-2072)를 이용하여 각각 50 μ l의PCR 용액에 혼합하여 PCR방법으로 증폭하였다. 50 μ l의 PCR혼합 용액은 10 μ l의 HBV DNA추출 용액, 2.5unit의 Takara LA Taq polymerase(Takara, Shiga Japan), 2.5mM의 각각의 dNTP, 최종 농도가 0.2 μ M인 각각의 Primer, 2 * GC Buffer(2mM MgCl₂가 포함 됨) 등으로 구성 되었다. PCR 진행조건은 먼저 95°C에서 5분간 DNA를 변성시킨 다음 95°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 3분 등 세 과정을 연속적으로 40회 반복하여 진행하고 마지막으로 72°C에서 10분간 신장 반응하였다. 1차PCR 산물은 각각 2차 PCR의 주형으로 하여 4개의 작은 분획으로 증폭하였으며 이들을 주형으로 11개의 primer를 이용하여 염기서열 분석을 하였다. 염기서열분석에 사용된 11개의 primer 조합은 4개의 2차 PCR 산물은 Gel Extraction Kit(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 사용하여 추출하였으며 그 산물의 염기서열은 ABI PRISM BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster, USA)를 이용한 직접염기서열분석 (ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer(HITACHI, Tokyo, Japan))을 진행하며 primer는 sequencing PCR에서 사용된 primer를 사용하였다.

3.2 kb염기서열은 DNASTAR의 MegAlign (Window Version 3.12; Madison, WI, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다.

결 과

연구 대상 환자들의 임상적인 특성은 표 2에 요약되어 있다. 모든 환자에서 재발 시 HBV DNA치가 재검출 되고 혈청 ALT치가 상승하였다.

아미노산 변이는 다양한 부분에서 광범위하게 발생하였는데, 특히 core 단백질 부위 및 X 단백질 부위에서 특정 부위에 집중되었다. (그림 1-5)

Core protein (Total 183 aa)
1-----aa 1-90

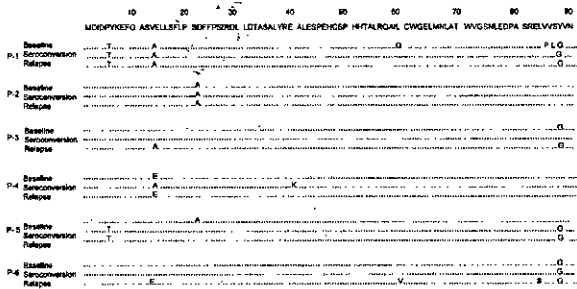


Figure 1A. Aminoacid (AA 1-90) changes in HBcAg before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

Core protein (Total 183 aa)
2-----aa 91-183

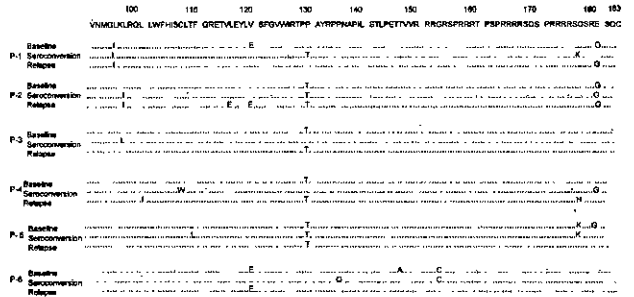


Figure 1B. Aminoacid (AA 91-183) changes in HBcAg before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

Core 단백질 부위의 아미노산 중에서는 (Fig 1) 특히 아미노산 서열 5, 13, 22, 60, 84, 88, 100,120, 130, 177, 180번에 2명 이상의 환자에서 아미노산 변이가 발생하였으며 특히 아미노산 서열, 88번, 130번, 180번에서 집중적으로 발생하였다.

Table 1. Clinical characteristics of the study patients

Patients	Lab test	Before LMV Treatment	At the time of HBeAg seroconversion	After Relapse
Patient 1 F/6	HBcAg/Anti-HBe	+/-	-/+	+/-
	Serum ALT (IU/L)	103	39	1309
	Serum HBV DNA (pg/mL)	21	Not detected	1808.0
Patient 2 M/63	HBcAg/Anti-HBe	+/-	-/+	+/-
	Serum ALT (IU/L)	91	31	92
	Serum HBV DNA (pg/mL)	18	Not detected	104.0
Patient 3 M/48	HBcAg/Anti-HBe	+/-	-/-	+/-
	Serum ALT (IU/L)	508	23	297
	Serum HBV DNA (pg/mL)	2076.0	Not detected	526.0
Patient 4 M/41	HBcAg/Anti-HBe	-/-	-/-	-/-
	Serum ALT (IU/L)	285	53	72
	Serum HBV DNA (pg/mL)	203.0	Not detected	31
Patient 5 M/52	HBcAg/Anti-HBe	+/-	-/+	-/+
	Serum ALT (IU/L)	112	27	864
	Serum HBV DNA (pg/mL)	1480.0	Not detected	114.0
Patient 6 M/21	HBcAg/Anti-HBe	+/-	-/+	-/+
	Serum ALT (IU/L)	208	39	121
	Serum HBV DNA (pg/mL)	2707	Not detected	7.0

X 단백질 부위에서는 염기서열 5번, 36번, 41번에서 2명 이상의 환자에서 아미노산 변이가 관찰되었다(그림 2). 특히, 간세포암의 발생과 연관이 있다고 알려진 transactivation domain인 경우 아미노산 52, 94, 118, 124, 127, 130,131 번 아미노산 부위에 2명 이상의 환자에서 아미노산 변이가 있었으며 특히 130, 131번 아미노산 부위인 경우 모든 환자에서 변이가 발생하였다.

X protein (Total 154 aa)
Negative Regulatory Domain (aa 1-49)

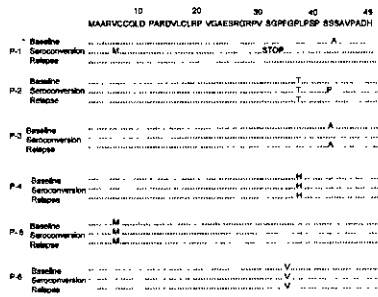


Figure 2A. Amino acid (AA 1-49) changes in HBxAg before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

X protein
Transactivation (Coactivation) Domain (aa 50-154)



Figure 2B. Amino acid (AA 50-154) changes in HBxAg before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

PreS1 단백질 부위인 경우 아미노산의 변이는 흔하게 발생하지 않았으며 10번 아미노산 서열 이외의 부위에 2명 이상의 환자에서 아미노산 변이가 발생한 경우는 없었다. PreS2 단백질 부위인 경우 아미노산 서열 120번에 3명의 환자에서 변이가 발견되었다 (그림 3).

Pre S1 protein (aa 1-60)

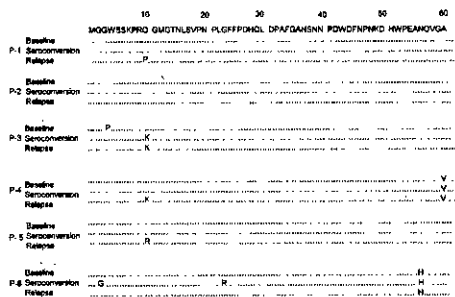


Figure 3A. Amino acid (AA 1-60) changes in preS1 before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

Pre S1 protein (aa 61-119)

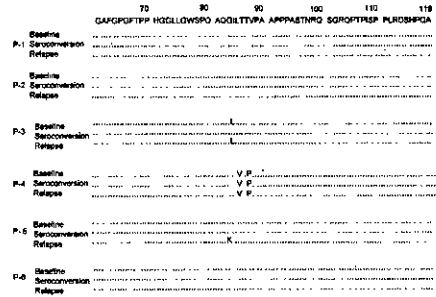


Figure 3B. Amino acid (AA 61-119) changes in preS1 before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

Pre S2 protein (aa 120-174)



Figure 3C. Amino acid (AA 120-174) changes in preS2 before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

S 단백질 부위인 경우 2명 이상의 환자에서 아미노산 서열의 치환이 발생한 경우는 3, 6, 11, 40, 67, 126, 177, 186번에서 확인할 수 있었다 (그림 4).

HBs protein (Total 400 aa)
1— Surface protein (aa 1-99)

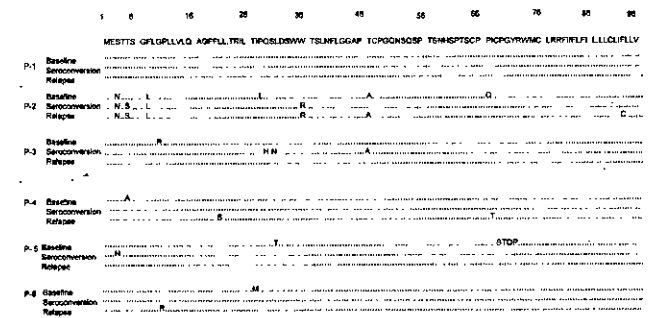


Figure 4A. Amino acid (AA 1-99) changes in S before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

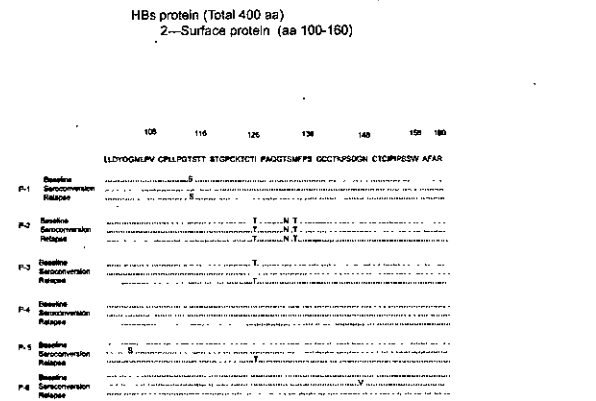


Figure 4B. Amino acid (AA 100–160) changes in S before, at time of HBeAg seroconversion and relapse. LMV, lamivudine

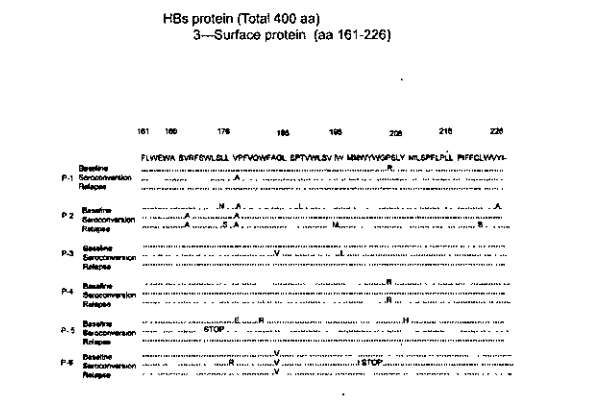


Figure 4C. Amino acid (AA 164–226) changes in S before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

역전사 중합효소 부위에서는 6번에서 4명, 13번 3명, 55번 2명, 109번 2명, 194번 4명, 225번에 4명에서 변이가 발견되었고 라미부딘 내성과 연관이 있는 rt204부위에는 2명의 환자에서 내성 변이가 있었다. 267번에 4명의 환자에서 변이가 있었으며 318번에 2명에서 아미노산의 치환이 있었다(그림 5).

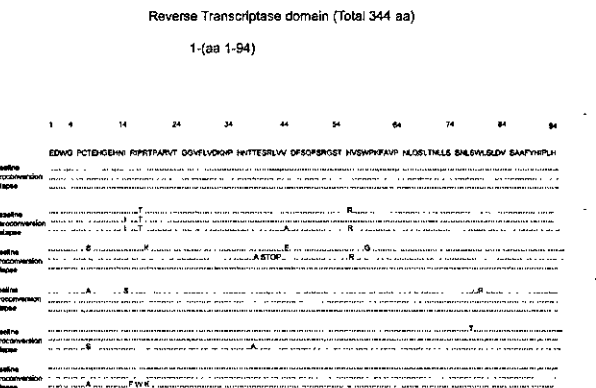


Figure 5A. Amino acid (AA 1–94) changes in reverse transcriptase before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

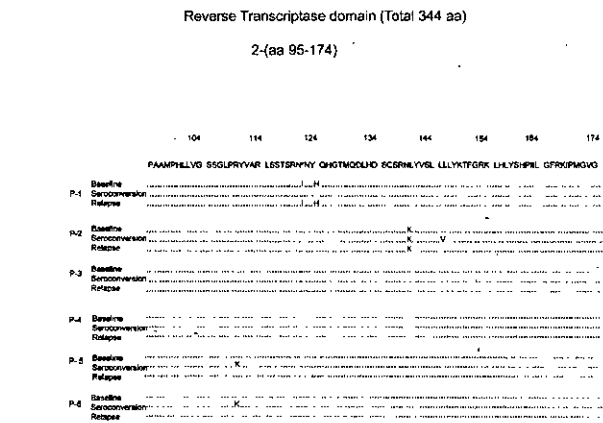


Figure 5B. Amino acid (AA 95–174) changes in reverse transcriptase before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

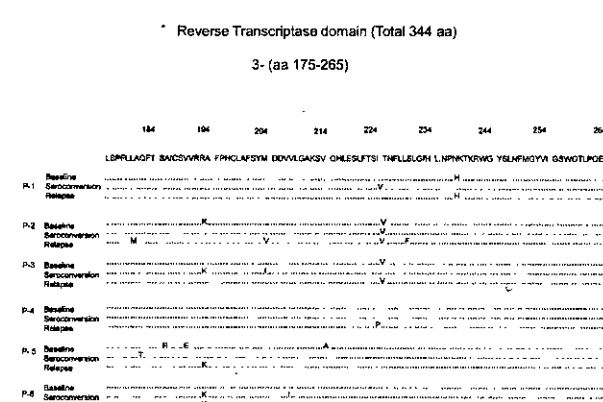


Figure 5C. Amino acid (AA 175–265) changes in reverse transcriptase before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

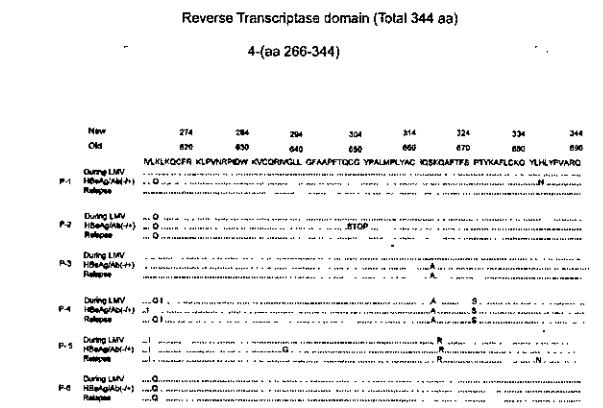


Figure 5D. Amino acid (AA 266–344) changes in reverse transcriptase before, at time of HBeAg seroconversion and relapse.

BCP영역에서 (A1762T/G1764A)변이는 치료 전에 모든 환자에서 변이가 발견되었고 HBeAg혈청전환시 3명의 환자에서 변이가 발견되었고 재발 시는 4명의 환자에서 돌연변이가 발생하였다. 1753번 염기서열은 치료 전에서 3명의 환자에서 발견되었으나 재발 시에는 4명의 환자에서 변이가 발견되었다. Precore영역에서는 1명의 환자에서 (환자 4) 치료 전 및 재발 시 변이를 확인하였다.

고 찰

본 연구에서 라미부딘 치료 후 HBeAg혈청전환 후 재발 한 환자들에서 치료 전 혹은 혈청전환 시 혹은 재발시 광범위한 영역에 아미노산 치환이 있었다. 그 중에서도 아미노산의 치환은 특히, core 단백질, X 단백질, 역전사 중합효소의 특정 부위에 집중되는 것을 확인할 수 있었다. 특히 core 단백질 부위의 4, 21, 60, 120, 130번 부위 및 HBs 단백질 부위의 177번, 188번, X 단백질 부위의 124, 127번 아미노산 부위는 이전 연구에서 HLA와 연관된 항원 결정기의 일부로 알려져 있다²⁸⁾. 따라서 이러한 부위의 아미노산 치환이 면역세포의 감시에 회피를 일으키는 중요한 원인으로 작용하였을 가능성을 시사한다. 또한 이전의 연구에서 core 단백질 부위의 아미노산 서열 97번의 이소류이신이 류이신으로 대체되는 경우 바이러스의 증식능이 증가함이 보고된바²⁹⁾ 특정 부위의 아미노산 치환이 면역회피의 수단과 함께 바이러스의 증식능에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 그러나 특정 부위에서 흔히 발견되었던 (cP130T, cY88G, cE180G, xK130M, xV131F, rK267Q) 아미노산 치환이 재발에서 어떤 역할을 하였는지는 본 연구의 한계를 넘는 것으로 추후 이러한 아미노산 치환이 어떤 역할을 하는 지에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

HBV의 증식 조절과 연관된 BCP 부위의 A1762T/G1764A 변이는 바이러스의 증식을 증가시키는데, (24-28) 본 연구에서 치료 전 모든 환자에서 BCP변이가 관찰되었고 HBeAg혈청전환이 될 때 3명에서만 변이가 관찰되었으나 재발 시에는 4명에서 BCP변이가 관찰되었다. BCP 영역에서 1753번 염기서열은 치료 전에서 3명의 환자에서 발견되었으나 재발시에는 4명의 환자에서 변이가 발견되었다. 이전의 연구에서 1753번 변이가 바이러스의 증식력을 항진시키고 또한 간질환의 심한 정도를 반영한다고 보고 된바³⁰⁾, 이러한 현상은 라미부딘 치료 후 재발하는 환자들의 바이러스의 집단이 BCP변이를 동반하여 기본적으로 바이러스의 증식력이 항진되어있는 것으로 보이며, HBeAg 혈청전환과 함께 비증식기에 BCP변이가 없는 바이러스가 일부 선택이 되나 재발 시에는 다시 증식력이 강해지는 BCP변이 바이러스로 대차됨을 의미한다.

결론적으로 라미부딘 치료로 HBeAg혈청전환된 환자에서 라미부딘을 종료한 후 재발하는 환자들은 치료 전, HBeAg 혈청전환 시 혹은 재발 시 광범위한 부위에 아미노산 치환이 관찰되고, 특히 특정 부위에 집중되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 재발과 관련된 일관된 양상을 설명할 수 없었다. 치료 전에 BCP변이가 대부분 동반되어 있었고, HBeAg 혈청전환으로 비활동성으로 된

이후 BCP변이가 소실된 이후 재발하는 경우에서 다시 BCP 변이가 나타났다. 따라서 재발하는 환자에서 광범위한 아미노산 변이로 인한 면역체계의 감시에서 바이러스의 회피 및 BCP 변이를 통한 바이러스 증식능의 향상이 재발에 일정부분 기여할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 연구는 2007년 제주대학교병원 연구비로 수행되었습니다

참 고 문 헌

- 1) Jeong S, Yim HW, Bae SH, Lee W. Changes of hepatitis B surface antigen seroprevalence in Korea, 1998-2005. *Korean J Epidemiol.* 2008;30:119-27.
- 2) Chae HB, Kim JH, Kim JK, Yim HJ. Current status of liver diseases in Korea: hepatitis B. *Korean J Hepatol.* 2009 Dec;15 Suppl 6:S13-24.
- 3) KASL. KASL clinical practice guideline: Management of chronic hepatitis B. *Korean J Hepatol* 2011;1-128.
- 4) Kang HM, Jeong SH, Kim JW, Lee D, Choi CK, Park YS, et al. Recent etiology and clinical features of acute viral hepatitis in a single center of Korea. *Korean J Hepatol.* 2007 Dec;13(4):495-502.
- 5) Jeong SH. Current status and vaccine indication for hepatitis A virus infection in Korea. *Korean J Gastroenterol.* 2008 Jun;51(6):331-7.
- 6) Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Engl J Med.* 1975 Apr 10;292(15):771-4.
- 7) Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2007 Feb;45(2):507-39.
- 8) Hunt CM, McGill JM, Allen MI, Condreay LD. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. *Hepatology.* 2000 May;31(5):1037-44.
- 9) Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol.* 1995;13:29-60.
- 10) Ehata T, Omata M, Yokosuka O, Hosoda K, Ohto M. Variations in codons 84-101 in the core nucleotide sequence correlate with hepatocellular injury in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Invest.* 1992 Jan;89(1):332-8.
- 11) Chuang WL, Omata M, Ehata T, Yokosuka O, Ito Y, Imazeki F, et al. Precore mutations and core clustering mutations in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 1993 Jan;104(1):263-71.
- 12) Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B.

- Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med.* 1998 Jul 9;339(2):61-8.
- 13) Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, Perrillo RP, Hann HW, Goodman Z, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med.* 1999 Oct 21;341(17):1256-63.
- 14) Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology.* 2003 Jan;124(1):105-17.
- 15) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med.* 2004 Oct 7;351(15):1521-31.
- 16) Zoulim F, Poynard T, Degos F, Slama A, El Hasnaoui A, Blin P, et al. A prospective study of the evolution of lamivudine resistance mutations in patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. *J Viral Hepat.* 2006 Apr;13(4):278-88.
- 17) Dienstag JL, Schiff ER, Mitchell M, Casey DE, Jr., Gitlin N, Lisoos T, et al. Extended lamivudine retreatment for chronic hepatitis B: maintenance of viral suppression after discontinuation of therapy. *Hepatology.* 1999 Oct;30(4):1082-7.
- 18) Song BC, Suh DJ, Lee HC, Chung YH, Lee YS. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology.* 2000 Oct;32(4 Pt 1):803-6.
- 19) Lee KM, Cho SW, Kim SW, Kim HJ, Hahn KB, Kim JH. Effect of virological response on post-treatment durability of lamivudine-induced HBeAg seroconversion. *J Viral Hepat.* 2002 May;9(3):208-12.
- 20) Yoon SK, Jang JW, Kim CW, Bae SH, Choi JY, Choi SW, et al. Long-term results of lamivudine monotherapy in Korean patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B: response and relapse rates, and factors related to durability of HBeAg seroconversion. *Intervirology.* 2005 Nov-Dec;48(6):341-9.
- 21) Lee HC, Suh DJ, Ryu SH, Kim H, Shin JW, Lim YS, et al. Quantitative polymerase chain reaction assay for serum hepatitis B virus DNA as a predictive factor for post-treatment relapse after lamivudine induced hepatitis B e antigen loss or seroconversion. *Gut.* 2003 Dec;52(12):1779-83.
- 22) Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology.* 2003;46(6):329-38.
- 23) Song BC, Cui XJ, Kim H. Hepatitis B virus genotypes in Korea: an endemic area of hepatitis B virus infection. *Intervirology.* 2005 Mar-Jun;48(2-3):133-7.
- 24) Chen RY, Edwards R, Shaw T, Colledge D, Delaney WE, Isom H, et al. Effect of the G1896A precore mutation on drug sensitivity and replication yield of lamivudine-resistant HBV in vitro. *Hepatology.* 2003 Jan;37(1):27-35.
- 25) Tacke F, Gehrke C, Luedde T, Heim A, Manns MP, Trautwein C. Basal core promoter and precore mutations in the hepatitis B virus genome enhance replication efficacy of Lamivudine-resistant mutants. *J Virol.* 2004 Aug;78(16):8524-35.
- 26) Buckwold VE, Xu Z, Chen M, Yen TS, Ou JH. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol.* 1996 Sep;70(9):5845-51.
- 27) Buckwold VE, Xu Z, Yen TS, Ou JH. Effects of a frequent double-nucleotide basal core promoter mutation and its putative single-nucleotide precursor mutations on hepatitis B virus gene expression and replication. *J Gen Virol.* 1997 Aug;78 (Pt 8):2055-65.
- 28) Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang JH, Hige S, et al. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 2006 Aug;44(2):326-34.
- 29) Moriyama K, Okamoto H, Tsuda F, Mayumi M. Reduced precore transcription and enhanced core-pregenome transcription of hepatitis B virus DNA after replacement of the precore-core promoter with sequences associated with e antigen-seronegative persistent infections. *Virology.* 1996 Dec 15;226(2):269-80.
- 30) Tong S. Mechanism of HBV genome variability and replication of HBV mutants. *J Clin Virol.* 2005 Dec;34 Suppl 1:S134-8.
- 31) Gunther S, Li BC, Miska S, Kruger DH, Meisel H, Will H. A novel method for efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol.* 1995 Sep;69(9):5437-44.
- 32) Takahashi K, Akahane Y, Hino K, Ohta Y, Mishiro S. Hepatitis B virus genomic sequence in the circulation of hepatocellular carcinoma patients: comparative analysis of 40 full-length isolates. *Arch Virol.* 1998;143(12):2313-26.
- 33) Suk FM, Lin MH, Newman M, Pan S, Chen SH, Liu JD, et al. Replication advantage and host factor-independent phenotypes attributable to a common naturally occurring capsid mutation (I97L) in human hepatitis B virus. *J Virol.* 2002 Dec;76(23):12069-77.
- 34) Song BC, Cui XJ, Kim HU, Cho YK. Sequential accumulation of the basal core promoter and the precore mutations in the progression of hepatitis B virus-related chronic liver disease. *Intervirology.* 2006;49(5):266-73.