

소아 만성 B형 간염에서 Hepatitis B Virus Precore와 Core Promoter 및 “a” 결정기의 변이종에 대한 연구

서울대학교 의과대학 소아과학교실

이 성 수 · 장 주 영 · 서 정 기

Mutations in Hepatitis B Virus Precore, Core Promoter, and “a” Determinant in Children with Chronic Hepatitis B Virus Infection

Sung Soo Lee, M.D., Ju Young Chang, M.D. and Jeong Kee Seo, M.D.

Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The aim of this study was to determine the prevalence, types of variants, and clinical significance of mutations in precore, core promoter, and “a” determinant mutations in children with chronic hepatitis B virus infection.

Methods: Thirty-one patients with chronic hepatitis B virus infection who visited Seoul National University Children’s Hospital in Korea between 2004 and 2005 were enrolled in this study. Serum HBV DNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the precore/core promoter and “a” determinant sequences were determined.

Results: Precore mutations were found in 11 of 27 patients (40.7%), and appeared more frequently in the HBeAg-negative group ($p < 0.05$) compared to the HBeAg-positive group. G1896A was detected most frequently (81.8%). BCP mutations were found in 15 of 27 patients (55.6%) and the TA mutation (A1762T/G1764A) was the most common (86.7%). Mutations in the “a” determinant region were detected in 8 of 28 patients (28.6%), and amino acid changes were detected in 6 of 28 patients (21.4%). Of these mutations, substitutions at amino acid position 126 were found most frequently.

Conclusion: In children with chronic hepatitis B virus infection, the most common mutations were G1896A in the precore region and TA mutation (A1762T/G1764A) in the core promoter region. Substitutions at amino acid position 126 was the most common mutation in the “a” determinant. Precore mutants were found to be significantly higher in HBeAg-negative patients. The high prevalence of mutations in the “a” determinant and low frequency of G145R were characteristic features. These mutations were not significantly associated with other clinical features except for high aminotransferase concentration in the core promoter variant group. (**Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011; 14: 279~285**)

Key Words: Hepatitis B virus, Precore, Core promoter, “a” determinant, Child

접수 : 2011년 4월 27일, 수정 : 2011년 6월 13일, 승인 : 2011년 6월 16일

책임저자 : 서정기, 110-744, 서울시 종로구 대학로 101, 서울대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 02-2072-3627, Fax: 02-743-3455, E-mail: jkseo@snu.ac.kr

이 연구는 서울대학교 어린이병원 소아과 동문연구기금으로 수행되었음.

서 론

B형 간염 바이러스(HBV)는 다른 DNA 바이러스에 비하여 증식률이 높고 돌연변이의 발생률이 높다. 만성 B형 간염의 경과 중 HBeAg의 발현에 영향을 미치는 변이는 precore (PC) 변이와 basal core promoter (BCP) 변이 두 종류가 알려져 있으며, 이 두 가지 변이종은 임상적으로 중요하게 생각되고 있다^{1,2)}. Precore 변이종 중에는 G1896A가, core promoter 영역의 변이종 중에는 1762번과 1764번 유전자의 중복 돌연변이(A1762T/G1764A; TA 변이)가 대표적이다. 이들 영역의 돌연변이는 HBeAg 음성 만성 B형 간염을 유발하며, 이 변이종들은 만성 B형 간염의 악화 및 전격성 간염, 그리고 간세포암의 발생을 유발하는 것으로 알려져 있다^{3,4)}. 또한 B형 간염 보균자인 산모의 신생아에게 간염 백신과 면역글로불린을 투여하는 예방요법이 널리 사용되고 있으나, 예방요법을 시행한 경우에도 만성 B형 간염이 발생하는 경우가 있다. 이는 S 유전자 중 B형 간염 표면항원(HBsAg)의 항원성을 결정하는 “a” 결정기와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각되고 있다⁵⁾. 외국에서는 “a” 결정기 변이종 중에서 145번 codon의 glycine이 arginine으로 치환된 변이종(G145R)이 가장 흔한 것으로 알려져 있으나⁶⁾, 국내에서는 변이종의 종류와 발생빈도가 명확하지 않다. 이러한 변이종들은 이환기간이 긴 소아의 만성 B형 간염의 진행 및 경과와 중요한 연관성을 가지는 것으로 생각되며, 본 연구에서는 만성 B형 간염을 가진 소아에서 precore 및 core promoter, 그리고 “a” 결정기 유전자 영역 변이종의 종류 및 빈도, 그리고 임상적 의의를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

서울대학교 어린이병원 소아과에서 생화학적 검사 및 B형 간염의 혈청학적 표지자 검사에 의하여 B형 간염으로 진단받고 6개월 이상 치료 및 추적관찰 중인 만성 B형 간염 환자들 가운데, 2004년부터 2005년 9월 사이에 본원을 방문하여 혈청 DNA 추출에 동의한 31명을 대상으로 하였다. 대상 환자들 중 C형 간염 바이러

스나 D형 간염 바이러스의 혼합감염, 그밖에 만성 간질환의 원인들이 동반된 경우는 대상군에서 제외하였다.

2. 방법

대상 환자들에서 간효소치와 혈청 총빌리루빈 검사, HBeAg, anti-HBe를 병원 방문시에 검사하였다. B형 간염의 혈청학적 표지자는 Abbott사(North Chicago, IL, USA)의 효소면역흡착측정법으로 측정하였다. 환자의 혈청 시료 200 μ L에서 QIAGEN Blood DNA kit (QIAGEN, Tokyo, Japan)를 이용하여 DNA를 추출하여 PCR을 시행하였다. Precore 및 core promoter 부위의 DNA를 추출하기 위해서는 external과 inner primer를 사용하여 nested PCR을 시행하였다. External primer로는 P1 (5'-TCGCA TGGAG ACCAC CGTGA-3', 염기서열 1604-1623), P2 (5'-ATAGC TTGCC TGAGT GC-3', 염기서열 2076-2060)를 사용하였고 inner primer로는 P3 (5'-CA-TAA GAGGA CTCTT GGA-3', 염기서열 1653-1672), P4 (5'-GGAAA GAAGT CAGAA GGC-3', 염기서열 1974-1957)를 사용하였다. “a” 결정기의 DNA를 추출하기 위한 primer로는 S1 (5'-ATCCT GCTGC TATGC CTCAT-3', 염기서열 412-431)과 S2 (5'-ACTGA AAGCC AAACA GTGGG-3', 염기서열 718-737) primer를 사용하였다. PCR로 증폭한 HBV DNA의 직접염기서열분석은 Macrogen사에 의뢰하여 시행하였다. 변수 분석은 student's t-test를 이용하였고, Yates 교정을 이용한 χ^2 test를 사용하여 자료를 비교하였다.

결 과

31명의 대상군 중 precore 및 core promoter 부위의 DNA는 27예에서 추출되었고, “a” 결정기 부위의 DNA는 28예에서 추출되었다. 두 부위 모두에서 DNA가 추출되어 염기서열 분석이 가능했던 환자는 총 24예였다.

1. Precore 및 basal core promoter 영역의 돌연변이 분석

Precore 및 core promoter 부위의 PCR 산물을 얻을 수 있었던 27예 중 남자는 16예(59.3%), 여자 11예(40.7%)였으며, 나이는 평균 13.5 \pm 7.2세였다. 이 중 HBeAg 음성은 7예(25.9%), HBeAg 양성인 환자는 20예(74.1%)였

다. 감염경로는 모체로부터의 수직감염이 19예(70.4%), 비수직감염이 8예(29.6%)였다.

1) **Precore 영역의 돌연변이 분석:** Precore 부위의 돌연변이는 총 11예(40.7%)에서 발견되었다(Table 1). 이 중 염기서열 1896번의 guanine이 adenine으로 치환되어 (G1896A) codon 28에서 stop codon을 형성한 변이종이 9예(81.8%)에서 발견되었다.

이 G1896A 변이종 9예 중 2예는 A1846T를, 1예는 A1837G 변이종을 동반하고 있었다. 그 외에 A1846T 단독 변이가 2예에서 발견되어, A1846T는 총 4예였다. HBeAg 양성 여부와 비교해볼 때, precore 부위의 돌연변이는 HBeAg 양성인 환자에서는 20예 중 5예(25%), HBeAg 음성 환자에서는 7예 중 6예(85.7%)에서 발견되어 HBeAg 음성 환자에서 유의하게 높은 것으로 나타났다($p=0.005$), G1896A 변이 여부만으로 비교했을 때에도 HBeAg 음성 환자에서 유의하게 빈도가 높았다($p=0.013$). 그러나 precore 영역의 돌연변이와 수직감염 여부, 혹은 출생 시 예방접종 여부와는 통계적 유의성을 보이지 않았다($p>0.05$).

간효소 및 총빌리루빈치는 precore 영역의 변이종에서는 AST 146.6 ± 194.7 IU/L, ALT 187.3 ± 204.0 IU/L, 총 빌리루빈 0.86 ± 0.30 mg/dL였고, 야생형에서는 AST 98.3 ± 168.2 IU/L, ALT 124.9 ± 198.9 IU/L, 총빌리루빈 0.73 ± 0.44 mg/dL로 두 집단 간의 유의한 차이는 없었다. 또한, precore 변이종 중 G1896A 변이종에서 AST 95.1 ± 75.6 IU/L, ALT 137.7 ± 120.6 IU/L, 총빌리루빈은

Table 1. Types of Mutations and Clinical Status in 11 Patients with Precore Mutations

Patient	PC mutation	HBeAg	Vertical transmission	Vaccination
AHJ	G1896A	+	+	+
CYT	G1896A, A1846T	+	+	+
JSH	G1896A	-	-	-
KSH	G1896A	-	-	+
KSM	G1896A, A1837G	+	+	+
KSY	A1846AT	-	-	+
KSY	A1846AT	+	+	+
LSE	G1896A	+	+	+
LSH	G1896A	-	+	+
PSM	G1896A, A1846T	-	-	+
PYS	G1896A	-	+	+

0.81 ± 0.33 mg/dL로, 역시 야생형과 유의한 차이는 없었다($p>0.05$).

2) **Basal core promoter (BCP) 영역의 돌연변이 분석:** Basal core promoter 영역의 변이종은 PCR 산물 27예 중 15예(55.6%)에서 발견되었다(Table 2). 이 중 13예(86.7%)에서 염기서열 1762번의 adenine이 thymidine으로 치환된 변이(A1762T) 및 1764번의 guanine이 adenine으로 치환된 변이(G1764A)가 함께 나타난 중복 변이(TA 변이)를 보였다. TA 변이종 13예 중 1예에서는 G1742A가, 다른 1예에서는 A1727G와 T1719G가 함께 동반되었다. 단독 돌연변이로는 A1775G와 A1727G가 각각 1예에서 단독으로 나타났다.

BCP 변이종은 HBeAg 음성 환자에서는 7예 중 5예(71.4%), 양성 환자에서는 20예 중 10예(50%)로 HBeAg 여부와 유의한 관계를 보이지 않았고, 수직감염 혹은 G1896A 변이 여부와도 아무런 통계적 연관성이 없었다. BCP변이종 중 A1762T/G1764A 돌연변이는 HBeAg 양성인 20예 중 8예(40%), HBeAg 음성인 7예 중 5예(71.4%)으로 HBeAg 음성 환자에서 역시 높게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 수직감염이나 G1896A 변이 여부와도 연관성을 보이지 않았다.

BCP 변이종에서 AST는 142.8 ± 179.9 IU/L, ALT

Table 2. Types of Mutations and Clinical Status in 15 Patients with Basal Core Promoter Mutations

Patient	PC mutation	HBeAg	Vertical transmission	Vaccination
CYT	A1762T/G1764A	+	+	+
JSH	A1762T/G1764A	-	-	-
KDH	A1762T/G1764A	-	+	+
KHA	A1762T/G1764A	+	+	-
KHB	A1762T/G1764A	+	+	+
KJC	A1762T/G1764A	+	+	+
KSB	A1762T/G1764A, T1719G, A1727G	+	+	-
KSM	A1762T/G1764A	+	+	+
KSY	A1762T/G1764A	-	-	+
KSY	A1762T/G1764A	+	+	+
KTH	A1775G	+	-	+
KYK	A1762T/G1764A	+	+	+
LSE	A1727G	+	+	+
PSM	A1762T/G1764A	-	-	+
PYS	A1762T/G1764A, G1742A	-	+	+

199.9± 209.6 IU/L, 총빌리루빈 0.86±0.46 mg/dL였고 야생형에서는 AST 40.3±19.5 IU/L, ALT 40.8±24.3 IU/L, 총빌리루빈 0.63±0.30 mg/dL로 core promoter 변이종에서 AST와 ALT가 유의하게 높아(AST: $p=0.01$, ALT: $p=0.004$)였으며, 총빌리루빈치는 두 집단 간에 유의한 차이가 없었다($p>0.05$). BCP영역의 변이종 중 A176-2T/G1764A 변이를 보인 13예에서는 AST 160.9±187.3 IU/L, ALT 227.6±212.1 IU/L, 총빌리루빈 0.84±0.48 mg/dL로 역시 야생형에 비하여 AST, ALT는 유의하게 높았으나(AST: $p=0.005$, ALT: $p=0.002$), 총빌리루빈치는 야생형과 유의한 차이를 보이지 않았다($p>0.05$).

2. “a” 결정기 영역의 돌연변이 분석

“a” 결정기의 PCR 산물은 28예에서 추출되었고, 이 중 남자는 17예(60.7%), 여자는 11예(39.3%)였으며 나이는 평균 13.1±6.9세였다. 28예 중 모체로부터의 수직감염은 19예(67.9%)였고, 이 중 13예에서 출생 시 B형 간염 예방접종 및 면역글로불린 투여의 예방조치가 시행되었다. 수직감염이 배제된 나머지 9예 중 8예에서 HBV 감염 여부를 알지 못하는 상태에서 예방접종이 시행되었으나 이후 B형 간염 표지자가 양성으로 나타나 보균자로 진단되었고, 1명은 예방접종 전에 수직감염으로 인한 B형 간염 보균자임이 확인되어 접종을 시행하지 않은 환자였다.

“a” 결정기 염기서열의 변이는 28예 중 8예(28.6%)로 나타났으며, 이 중 아미노산의 변화를 일으키는 돌연변이는 6예(21.4%)였다(Table 3). 아미노산 변이는 codon 126번(NT 531) 단독 변이 4예, 126번과 127번(NT 533)의 중복 변이 1예, 144번(NT 586)과 145번(NT 587)의 중복 변이가 1예였다. 변이종의 종류를 보면, codon 126번은 isoleucine이 serine으로의 변이 4예, asparagine으로의 변이 1예였다. 이 중 126번 codon이 asparagine으로 변이한 1예에서는 127번 아미노산의 proline에서 threonine으로의 변이가 동반되었다. 144번 아미노산이 aspartate에서 glutamate로 변이한 1예에서는 145번 아미노산의 glycine에서 arginine으로의 변이가 동반되었다.

수직감염 여부와 “a” 결정기 영역 돌연변이의 관계를 살펴보면, 변이종은 전체 수직감염군 19예 중 5예(26.3%)에서 동반되었다. 비수직감염군 9예 중에서는 1예(11.1%)에서 아미노산 변이를 보였다. “a” 결정기 변

Table 3. Types of Mutations and Clinical Status in 6 Patients with “a” Determinant Mutations

Patient	Nucleotide/amino acid substitution	Vertical transmission	Vaccination
KJS	T531G/I126S	+	-
KSM	T531G/I126S	+	+
KHA	T531G/I126S	+	-
LSE	T531G/I126S	+	+
PSM	T531A/I126N, C533A/P127T	-	+
SJY	C586A/D144E, G587A/G145R	+	+

I: isoleucine, S: serine, N: asparagine, P: proline, D: aspartate, E: glutamate, G: glycine, R: arginine.

이종과 수직감염 혹은 예방접종 여부와는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 수직감염군 19례 중 출생 시 예방접종 혹은 예방접종과 면역글로불린 등 예방조치를 시행 받은 환자는 13예였고, 이 중 3예(23.1%)에서 아미노산 변이를 동반하고 있었다. 예방조치를 시행 받지 않은 6예 중에서 아미노산 변이는 2예에서 동반되었다(33.3%). 수직감염군 내에서 “a” 결정기 변이종은 예방조치 여부와 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 비수직감염군 중에서는 9예 중 8예가 예방접종을 시행 받은 후에 HBV에 이환된 것이 발견되었는데, 이 중 염기서열 변이를 보인 2명은 모두 예방접종을 시행 받은 증례들이었고 비수직감염군 내에서도 “a” 결정기 변이종은 예방조치 여부와 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

또한, “a” 결정기 영역의 염기서열 변이종과 야생종 사이에 AST, ALT, 총빌리루빈치는 유의한 차이를 보이지 않았으며, 아미노산의 변이종과 야생종 간에도 AST, ALT, 혈청 총빌리루빈치의 유의한 차이는 보이지 않았다($p>0.05$).

고 찰

Precore 영역의 돌연변이는 HBeAg이 음성으로 전환되었으나 바이러스 증식이 활발하고 심한 만성 간염을 앓는 환자들에서 처음 보고되었다⁷⁾. 그 중 G1896A 변이는 발견 초기에 만성 B형 간염 및 전경성 간염의 악화 인자로 추정되어 왔다^{2,4)}. 이후 이 돌연변이가 HBe-

Ag 혈청 전환과 함께 발생하며 임상적 의의는 적다는 주장도 많이 제기되었으나, 최근에는 PC 변이종이 BCP 변이와 함께 HBeAg 음성 환자군에서 간세포암의 발생 및 간의 염증과 관련이 있다는 보고들이 다시금 나오고 있다^{1,2)}. 국내에서의 발생 빈도는 김 등⁸⁾이 46명의 소아에서 precore 변이종 빈도가 26.1%였고, 그 중 G1896A 변이종이 41.7%였다고 보고하였고, 최근 강 등⁹⁾의 연구에서는 PC 변이종 빈도가 4.1%로 매우 낮게 보고된 바 있다. 본 연구에서는 PC 변이종의 빈도가 40.7%로 나타나 소아를 대상으로 한 국내 기왕의 보고들에 비하여 높게 나타났으며, HBeAg 음성 환자에서 HBeAg 양성 환자에 비해 유의하게 높게 나타났으나 AST, ALT, 혈청 총빌리루빈치는 야생형과 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 수직감염 여부나 출생 시 예방접종 여부와도 별다른 상관관계는 없는 것으로 나타났다.

Basal core promoter 영역의 돌연변이는 HBeAg 생성을 70%까지 감소시키며, 반면 바이러스의 증식은 증가시켜 HBeAg 음성 간질환을 일으키는 것으로 생각되었다. BCP 변이는 G1896A 돌연변이, HBeAg 음성, 그리고 활동성 간질환과 관련이 있는 것으로 알려져 있고, 특히 TA 변이종은 만성 B형 간염의 악화, 전격성 간염, 간경변과 간세포암으로의 변이와도 연관성을 보이는 것으로 알려져 있다^{1,2,10)}. 김 등⁸⁾은 소아 46명에서 BCP 변이종이 87.0%에서 나타났고 이 중 A1762T 혹은 G1764A 변이종이 52.2%였으며, 50%가 두 변이종의 중복 변이였다고 보고하였다. 강 등⁹⁾의 최근 연구에서는 BCP 변이종이 면역 관용기에 1예(5.5%), 면역 제거기에 2예(15.4%)에서 나타났다고 보고하여 기존 연구들 및 본 연구에 비해 낮은 비율을 보였다. 본 연구에서는 BCP 돌연변이는 HBeAg 음성 환자에서 더 높은 비율로 관찰되었으나 통계적으로 유의한 정도는 아니었다. BCP 변이종, 혹은 TA 단독 변이종에서 야생형에 비하여 유의하게 AST와 ALT 수치가 높게 나타났으나, 혈청 총빌리루빈치는 유의한 차이가 없었다. 이는 BCP 변이종이 만성 B형 간염의 활성도와 연관되어 있을 가능성을 시사하는 것으로 생각한다.

HBsAg은 pre-S 및 S 유전자에 의해 부호화는데, 이 S 유전자로부터 번역된 226개의 아미노산으로 구성된 산물이 HBV에 대한 면역 반응의 주요 표적이 되며, 이 중에서도 아미노산 서열 124번에서 147번으로 구성된

“a” 결정기는 체액성 면역에 대한 주된 항원결정기로 작용한다^{11,12)}. 모든 HBV의 아형은 공통적으로 “a” 결정기를 가지고 있으며, 이 부분의 변이종은 예방접종에도 불구하고 HBV 감염을 일으킬 수 있다. 이 돌연변이는 1988년 Zanetti 등¹³⁾에 의해 처음 보고되었으며, 아미노산 145번 glycine이 arginine으로 치환된 G145R이 가장 잘 알려진 돌연변이이다. 이 변이종은 몇 년간 안정적으로 유지될 수 있고, 다른 사람에게 수평 감염을 일으킬 수 있으며, 현재 통상적인 검사에서는 발견되지 않아 예방접종의 효과를 떨어뜨리는 데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 타이완에서 집단 예방접종이 실시되기 직전인 1984년부터 1999년까지 5년 간격으로 실시한 조사에서¹⁴⁾, 예방접종이 실시된 이후 “a” 결정기 돌연변이의 빈도가 유의하게 증가하였으며, 또한 변이종의 빈도가 예방접종을 받은 집단에서 받지 않은 집단에 비해 유의하게 높았다고 보고하여 “a” 결정기를 표적으로 하여 시행되는 예방접종이 HBV의 일차 감염을 줄이는 데에는 효과적이거나 반면 S 유전자 영역의 변이종 출현을 촉진시킬 가능성을 제시하였다. 그러나 예방접종을 시행하기 전인 1984년에도 “a” 결정기의 변이종이 7.8%나 되었고 1994년에 비하여 1999년에 변이종의 발생률이 더 증가하지 않은 점을 고려할 때, 이 변이종의 병인론에 대해서는 보다 더 심층적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 우리나라도 대만과 마찬가지로 항체 보유자의 증가에 따라 만성 B형 간염의 유병률은 감소하고 있으나, 예방조치에도 불구하고 만성 B형 간염에 이환되는 소아들에서 “a” 결정기의 돌연변이는 중요한 의미를 가질 것으로 생각된다. 본 연구에서는 아미노산의 변화를 일으키는 “a” 결정기 변이종이 28예 중 6예(21.4%)로 대만에서의 연구와 비슷하게 나타났다. 이전에 “a” 결정기 돌연변이의 빈도에 대한 광범위한 조사가 없었으므로 비교를 할 수는 없지만, 대만에서와 같이 예방접종으로 인한 항체 보유율의 증가와 연관되어 있을 것으로 생각된다. 그리고 외국의 보고와는 달리 145번 아미노산의 변화는 1례에서만 발견되었고 126번의 변이가 특징적으로 높게 나타났는데, 국내에서 송 등¹⁵⁾이 자연 발생하는 S 유전자 변이로 126번 아미노산이 isoleucine 혹은 threonine이 asparagine으로 치환되는 변이종이 가장 빈번하다고 보고한 바 있어 “a” 결정기 영역 변이종의 발생 빈도가 외국과

차이가 있음을 시사하는 소견으로 생각된다. 또한 “a” 결정기 변이종의 빈도는 수직감염군에서 19예 중 6예로 비수직감염군보다 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다. 본 연구에서는 HBsAg 양성인 환자만을 대상으로 하여 HBV 감염을 규정하였기 때문에 occult HBV 감염에 대해서는 조사가 이루어지지 못하였으며, 향후 HBcAb와 HBV DNA를 포함한 대규모 연구가 필요할 것으로 생각한다.

요 약

목 적: 만성 B형 간염을 앓고 있는 소아에서 precore와 basal core promoter 및 “a” 결정기 돌연변이의 빈도와 변이종의 종류는 아직 잘 밝혀져 있지 않으며, 그 임상적 의의도 확실히 규명되지 않은 실정이다. 본 연구에서는 국내 만성 B형 간염 소아에서 precore와 basal core promoter 및 “a” 결정기 변이종의 빈도 및 종류, 그리고 임상적 의의를 알아보려고 하였다.

방 법: 서울대학교병원 소아과에서 만성 B형 간염으로 진단받고 6개월 이상 치료 및 추적관찰 중인 환자들 중, 2004년부터 2005년 9월 사이에 본원을 방문하고 혈청 DNA 추출에 동의한 31명의 환자들을 대상으로 하여 PCR로 precore 및 core promoter 영역과 “a” 결정기 영역을 증폭하였다.

결 과: Precore 영역의 변이종은 PCR 산물이 추출된 총 27예 중 11예(40.7%)에서 발견되었다. 이 중 G1896A 변이종이 9예(81.8%)였고, 이 중 2예는 A1846T, 1예는 A1837G 변이종을 동반하고 있었다. 그 외에 A1846T 단독 변이가 2예에서 발견되었다. Precore 변이종은 HBeAg 음성 환자 7명 중 6명에서 발견되었고(85.7%), HBeAg 양성 환자 20명 중 5명에서 나타나(25%) HBeAg 음성 환자에서 유의하게 높게 나타났으나($p=0.005$) AST, ALT나 혈청 총빌리루빈치와는 상관관계를 보이지 않았다. Basal core promoter 영역의 변이종은 27예 중 15예(55.6%)에서 발견되었는데, 이 중 13예가 A1762T와 G1764A의 중복 변이종이었다. 이 13예 중 1예는 T1719G와 A1727G를, 1예는 G1742A 변이를 동반하고 있었다. 그 외에 A1775G와 A1727G의 단독 변이종이 각각 1예씩 관찰되었다. Basal core promoter 영역의 변이종은 HBeAg의 유무와 유의한 상관관계를 보

이지 않았으나, AST, ALT 치가 야생종에 비하여 유의하게 높았다(AST: $p=0.01$, ALT: $p=0.004$). 이 15예 중 8예에서 precore 변이종이 함께 동반되었으나, 역시 유의한 관계는 보이지 않았다($p>0.05$). “a” 결정기의 PCR 산물은 28예에서 추출되었고, 이 중 6예(21.4%)에서 아미노산 변이가 관찰되었다. 중 codon 126번의 단독 변이 4예, 126번과 127번의 중복 변이 1예, 144와 145번의 중복 변이 1예였다. “a” 결정기의 돌연변이는 수직감염 여부와는 관계를 보이지 않았고, 수직감염군 및 비수직감염군 내에서 예방접종 여부와 유의한 관계를 보이지 않았다. 또한 간효소치 및 총빌리루빈치와도 통계적으로 유의한 관계를 보이지 않았다.

결 론: 소아 만성 B형 간염 환자에서 precore 영역의 변이종은 40.7%, core promoter 영역의 변이종은 55.6%로 높은 빈도를 보였으며, “a” 결정기 변이종은 21.4%로 역시 높은 빈도를 보였다. Precore 변이종 중에서는 G1896A가, basal core promoter 변이종 중에는 A1762T와 G1764A의 중복 변이(A1762T/G1764A)가 가장 많았고, “a” 결정기에서는 외국에서의 보고와는 달리 염기서 아미노산 codon 126번의 변이가 가장 높은 빈도로 관찰되었다. Core promoter 변이종에서 AST, ALT가 높았던 것을 제외하고 이 변이종들에서 생화학적 간기능치, 수직감염 여부, 예방접종 여부 등과 통계적 유의성을 보이지 않아 임상적으로 큰 의미를 부여하기는 어려울 것으로 생각되나, 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

- 1) Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26(Suppl 1):123-30.
- 2) Liu Y, Zhong Y, Zou Z, Xu Z, Li B, Ren X, et al. Features and clinical implications of hepatitis B virus genotypes and mutations in basal core promoter/precore region in 507 Chinese patients with acute and chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2010;47:243-7.
- 3) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 2003;124:327-34.
- 4) Zheng JX, Zeng Z, Zheng YY, Yin SJ, Zhang DY, Yu

- YY, et al. Role of hepatitis B virus base core and precore/core promoter mutations on hepatocellular carcinoma in untreated older genotype C Chinese patients. *J Viral Hepat* 2011;18:423-31.
- 5) Carmen WF, Zanetti AR, Karayiannis P, Water J, Manzillo G, Tonzi E, et al. Vaccine- induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990;336:325-9.
 - 6) Tabor E. Infections by hepatitis B surface antigen gene mutants in Europe and North America. *J Med Virol* 2006;78(Suppl 1):S43-7.
 - 7) Carman WF, Hadziyannis S, McGarvey MJ, Jacyna MR, Karayiannis P, Makris A, et al. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989;2:588-91.
 - 8) Kim JK, Park YH, Chung WY, Kim CH. Mutations in Hepatitis B Virus precore and core promoter in children with chronic hepatitis B infection-comparison between vertical and non-vertical transmission-. *J Korean Pediatr Soc* 2000;43:779-91.
 - 9) Kang HS, Kang KS, Song BC. Precore and core promoter mutations of the hepatitis B virus gene in chronic genotype C-infected children. *J Korean Med Sci* 2011;26:546-50.
 - 10) Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1134-43.
 - 11) Hsu HY, Chang MH, Ni YH, Chen HL. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. *Gut* 2004;53:1499-503.
 - 12) Ni YH, Chen DS. Hepatitis B vaccination in children: the Taiwan experience. *Pathol Biol* 2010;58:296-300.
 - 13) Zanetti AR, Tanzi E, Manzillo G, Maio G, Sbraglia C, Caporaso N, et al. Hepatitis B variant in Europe. *Lancet* 1988;12:1132-3.
 - 14) Hsu HY, Chang MH, Ni YH, Chen HL. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. *Gut* 2004;53:1499-503.
 - 15) Song BC, Kim SH, Kim H, Ying YH, Kim HJ, Kim YJ, et al. Prevalence of naturally occurring surface antigen variants of hepatitis B virus in Korean patients infected chronically. *J Med Virol* 2005;76:194-202.