

만성 B형 간염 바이러스 감염 환자에서 혈청 Cytokine에 관한 연구

전남대학교 의과대학 소아과학교실

김 병 주 · 마 재 숙 · 황 태 주

A Study of Serum Cytokines in the Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection

Byung Ju Kim, M.D., Jae Sook Ma, M.D. and Tai Ju Hwang, M.D.

Department of Pediatrics, Chonnam University Medical School,
Kwangju, Korea

Purpose: The aim of this study was to clarify the serum cytokine pattern in patients with chronic HBV infection in terms of their clinical state.

Methods: Intravenous blood samples were taken from 35 patients who were seropositive for HBsAg for at least 6 months and 7 healthy controls. Samples were initially tested for serum aminotransferases and serologic markers for hepatitis B virus by EIA. Serum levels of interleukin(IL)-2, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interferon-gamma (IFN- γ), IL-4, and IL-10 were measured by ELISA.

Results: Among 35 patients, seropositive for HBeAg was 20 and for anti-HBe was 15. The histologic diagnosis of 19 patients underwent liver biopsy were chronic persistent hepatitis (CPH) in 10 and chronic active hepatitis (CAH) in 9. Serum IL-10 level in patients seropositive for HBeAg was significantly higher than that in patients seropositive for anti-HBe ($p < 0.05$). All measured cytokine levels in patients with CAH were higher than those of patients with CPH. High values of all measured cytokines except IL-4 were seen in patients with AST and ALT > 100 U/L. High level of IL-4 was seen in patients with normal aminotransferase levels.

Conclusion: These results were thought to indicate that anti-inflammatory Th2-like cytokine (IL-10) production in chronic HBV infection is related to circulating HBeAg rather than activity of hepatitis and that Th1 cytokines seem to be associated with the increasing activity of hepatitis. (**J Korean Pediatr Gastroenterol Nutr 1998; 1: 90~99**)

Key Words: Serum cytokine, Chronic hepatitis B infection

접수 : 1998년 7월 15일, 승인 : 1998년 9월 8일

책임저자 : 김병주, 501-757, 광주광역시 동구 학동 8번지, 전남대학교병원 소아과, Tel: 062) 220-6646, Fax: 062) 222-6103

서 론

B형 간염 바이러스(hepatitis B virus)는 “hepadnavirus”에 속하는 직경 42 nm의 간 친화성 DNA 바이러스로 세포 변성 현상은 일으키지 않는다. B형 간염 바이러스에 감염되었을 때 그 임상 경과는 증상 없이 B형 간염 바이러스 보유자가 되는 경우, 쇠약감과 구토 등의 비특이적 증상만 보이면서 아급성 경과를 보이는 경우, 황달을 동반하는 전형적인 간염의 증세를 보이는 경우 그리고 전격성 간염 증상으로 사망하는 예까지 매우 다양하다¹⁾.

수직 감염을 받은 신생아를 제외한 소아에서 급성 B형 간염을 앓은 후 약 95% 정도는 바이러스가 제거되고 임상적 회복을 보이나 약 5% 정도는 만성 보유자 상태로 이행한다²⁾. 보유자 상태는 정상적인 간 효소치를 보이는 건강 보유자 상태 또는 간 효소치의 상승을 보이며 지속적으로 바이러스가 증식하는 만성 B형 간염 바이러스 감염 상태로 나타난다. 만성 B형 간염은 간 경변증이나 원발성 간 세포암으로 이행할 수 있고, 간 세포암 환자의 상당수에서 소아기에 B형 간염 바이러스 감염을 받아 발생한다^{3,4)}. 우리나라와 같이 B형 간염의 유병률이 높은 지역에서는 수직 감염이 문제인데 B형 간염 바이러스 표면 항원(HBs)이 양성인 산모에서 태어난 신생아에서 출생 직후에 적절한 예방적인 처치가 이루어지지 않으면 약 90% 이상에서 만성 B형 간염 바이러스 감염 상태로 이행하게 된다⁵⁾.

B형 간염 바이러스에 감염된 후에 만성 B형 간염으로의 이행은 세포성 면역 반응의 결함에 의해서 초래된다고 알려져 있는데 그 결함으로는 인터페론의 불충분한 생산이나 인터페론의 작용 둔화 및 B형 간염 바이러스에 감염된 간세포의 인터페론에 대한 불감성⁶⁾, 간세포 표면에 1급 주조직 적합 복합체(class I major histocompatibility complex) 발현의 감소⁷⁾, HBe 항원에 의해 HBc 항원에 대한 T 세포 수용체의 포화⁸⁾, 표적 세포 리간드인 ICAM-1(intracellular adhesion molecule 1)과 LFA-3

(lymphocyte function-associated antigen 3)의 발현 결여⁹⁾ 및 사이토카인의 불균형¹⁰⁾이 주장되고 있으나 아직도 만족할만한 정설은 정립되어 있지 않아 많은 논란이 계속되고 있다.

Fukuda 등¹¹⁾은 만성 B형 간염 환자에서 간염의 정도가 악화되거나 완화되는 경우에 간 조직에서 interleukin(IL)-2, interferon(IFN)- γ 와 IL-4 mRNA가 현저히 다르게 발현됨을 보고하였다. 즉, 간염의 정도가 심해지는 상태에서는 IL-2와 IFN- γ 의 발현이 증가하는데 이는 IL-2가 세포독성 T 세포(cytotoxic T cell)를 활성화시키는 주된 사이토카인이기 때문으로 생각하였으며, IL-4의 발현은 간염의 정도가 완화되는 동안에 증가하였는데 이는 IL-4가 간 내에서 염증 반응을 완화하는 역할을 함을 암시하는 것이라 하였다.

위의 연구 결과를 볼 때 만성 B형 간염 바이러스 보유자의 임상 경과 즉 바이러스의 지속적인 증식과 간 조직 손상 여부는 Th1과 Th2 세포에서 생산되는 사이토카인의 분비 양상과 관련이 있을 것을 시사하고 있다. 따라서 본 연구는 혈청 B형 간염 바이러스 표면 항원이 양성인 만성 보유자에서 혈청에서 Th1 사이토카인인 IL-2, IFN- γ 및 tumor necrosis factor(TNF)- α 와 Th2 사이토카인인 IL-4와 IL-10을 측정하여 만성 B형 간염 바이러스 감염 환자의 병태에 따른 사이토카인의 변화를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 대상 환자

전남대학교 병원에 내원하여 6개월 이상 혈청 HBs 항원이 양성을 보여 만성 B형 간염 바이러스 보유자로 진단된 35명(남자 28명, 여자 7명)을 대상으로 하였다. 이중 15세 이하의 소아는 19명, 성인인 16명이었고 대상 환자의 평균 연령은 20.3세(4세~59세)이었다. 이들 모두는 항 HBs 항체와 항 HBc IgM 항체를 가지고 있지 않았고 항 바이러스 치료를 받은 기왕력도 없었다. HBe 항원 양성인 20명(소아: 12명, 성인: 8명), 항 HBe 항체 양성인

15명(소아: 7명, 성인: 8명)이었다. 경피적 간 생검은 19례에서 시행하였으며, 대조군은 HBs 항원 음성인 건강한 소아 7명으로 하였다.

2. 혈액 채취

환자나 환자의 부모로부터 허락을 받아 대상 환자와 대조군으로부터 말초 정맥혈을 채취하여 아미노전이 효소(aspartate aminotransferase; AST, alanine aminotransferase; ALT) 측정과 B형 간염 바이러스 표지자 검사를 하였다. 말초 정맥혈의 일부는 멸균 상태의 5 mL 진공 튜브에 담아 실온에서 2시간동안 약간 기울여서 세워 놓은 후에 4°C 냉장고에 24시간 보관하였다. 다음날 5~10분간 원심 분리하여 분리된 혈청을 방부제가 포함되지 않은 멸균된 1.5 mL 튜브에 담아 -70°C에 싸이토카인 측정시까지 동결 보관하였다.

3. 혈청 바이러스 표지자 검사와 아미노전이 효소 측정

혈청 B형 간염 바이러스 표지자(HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBcIgM, 및 anti-HBcIgG) 검사는 효소 면역법(enzyme immunoassay; Abbott Laboratories, North Chicago, U.S.A)에 따랐으며 생화학적 간 기능 검사인 혈청 아미노전이 효소(AST 및 ALT) 검사는 자동 혈액 화학 분석기에 의한 효소 반응 속도법으로 임상병리 검사실에 의뢰하여 시행하였다.

4. 싸이토카인의 측정(cytokine assays)

동결 보관된 혈청을 상온에서 녹여 효소 면역법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA: Molecular Devices, Menlo Park, U.S.A)으로 IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, 및 IL-10 (Predicta Human ELISA Kit, Genzyme Diagnostics, Cambridge, U.S.A)을 각각 2회 측정하여 그 평균값을 측정치로 하였다. 이중 IL-2 측정법을 예를 들어 간단히 설명하면 아래와 같다. 1) 측정의 기준이 되는 시약(standard)을 적당한 검사 well에 100 μ L을 분주한다. 2) 나머지 well에 검체 희석액(sample diluent)을 50 μ L씩 분주한

후에 그 위에 혈청 검체를 50 μ L씩 분주한다. 3) 플레이트(plate)를 3~4회 가볍게 쳐서 검체와 희석액이 잘 혼합되도록 한다. 4) 검사 well을 플레이트 sealer로 덮고 37°C에 60분 동안 둔다. 5) 검사 well의 내용물을 따라낸 후에 세척 시약(wash reagent)으로 가득 채워서 5회 세척한다. 6) 마지막 세척한 후에 플레이트를 종이 타월에 얹어서 남은 액을 모두 제거한다. 7) IL-2 biotinylated antibody 100 μ L을 well에 분주한다. 8) 검사 well을 플레이트 sealer로 덮고 37°C에 60분 동안 둔다. 9) 다시 5회 세척한다. 10) Streptavidin 시약 100 μ L을 분주한다. 11) 검사 well을 플레이트 sealer로 덮고 37°C에 15분 동안 둔다. 12) 검사 well을 다시 5회 세척한다. 13) 각 검사 well에 working substrate 용액을 100 μ L씩 분주한다. 14) 실온(18~24°C)에서 10분 동안 둔다. 15) 반응 중지액(stop solution)을 각각의 well에 100 μ L씩 분주한다. 16) 반응이 중지된 후 30분내에 450 nm에서 측정한다.

5. 통계 분석

Pearson's correlation과 Unpaired Students's t-test를 시행하여 P값이 0.05 이하일 때 통계적 의의를 부여하였다.

결 과

1. 혈청 아미노전이 효소

대상 환자에서 평균 AST는 132.5 U/L, ALT는 213.1 U/L, 대조군에서 AST는 22.8 U/L, ALT는 11.8 U/L, HBe 항원 양성인 환자에서 AST는 201.6 U/L, ALT는 345.9 U/L, 항 HBe 항체 양성인 환자에서 AST는 40.3 U/L, ALT는 35.9 U/L로 대상 환자에서 대조군에 비해 그리고 HBe 항원 양성인 환자에서 항 HBe 항체 양성인 환자에 비해 유의하게 혈청 AST와 ALT치가 높았다($p < 0.05$)(Table 1).

2. 간 생검 소견

대상 환자 35명 중 19례에서 경피적 간 생검을 시행하였고 그 결과는 만성 지속성 간염이 10례,

Table 1. Serum Aminotransferase Levels in Normal Controls and Patients with Chronic HBV Infection

	Control	Chronic HBV infection		
		Total	HBe (+)	anti-HBe(+)
Number	7	35	20	15
AST (U/L)	22.8±3.7	132.5±217.0	201.6±267.9	40.3±32.5
ALT (U/L)	11.8±1.5	213.1±451.3	345.9±565.6	35.9±40.6

Values presented as mean±SD.

HBV, hepatitis B virus; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

Table 2. Serum Aminotransferase Levels in Patients with Chronic HBV Infection according to Histologic Diagnosis

	CAH (n=9)	CPH (n=10)	P value
AST (U/L)	361.4±324.4	39.1±33.8	0.01
ALT (U/L)	674.4±723.1	43.2±29.7	0.03

Values presented as mean±SD.

HBV, hepatitis B virus; CAH, chronic active hepatitis; CPH, chronic persistent hepatitis; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

만성 활동성 간염이 9례이었다. 만성 활동성 간염 환자에서 지속성 간염 환자에 비해 혈청 AST (361.9±324.4 U/L: 39.1±33.8 U/L)와 ALT치(674.4 ±723.1 U/L: 43.2±29.7 U/L)가 유의있게 높았다(p <0.05)(Table 2).

3. 혈청 사이토카인의 측정

대조군에서 IL-2는 8.4 pg/mL, TNF-α는 6.1 pg/mL, IFN-γ는 14.8 pg/mL, IL-4는 34.3 pg/mL, IL-10은 3.2 pg/mL이었고 대상 환자에서는 IL-2는 14.1 pg/mL, TNF-α는 7.7 pg/mL, IFN-γ는 11.7 pg/mL, IL-4는 26.5 pg/mL, IL-10은 11.6 pg/mL로 IL-10을 제외하고는 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. HBeAg 양성인 환자에서 IL-2는 20.3 pg/mL, TNF-α는 8.6 pg/mL, IFN-γ는 16.1 pg/mL,

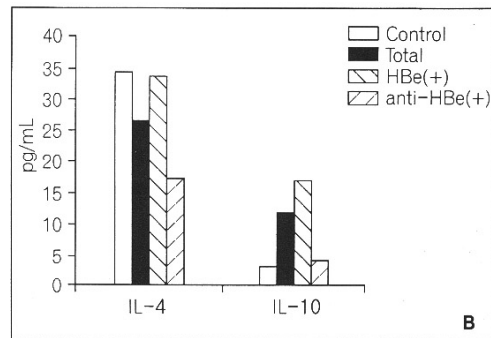
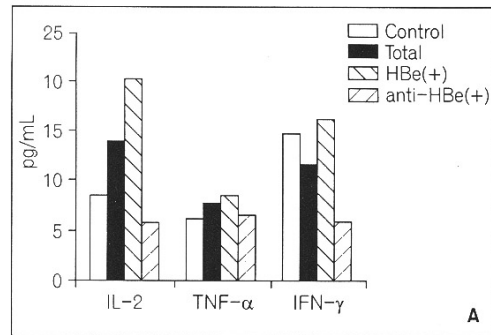


Fig. 1. Serum Th1 (A) and Th2 (B) cytokine levels in controls and patients with chronic HBV infection.

IL-4는 33.5 pg/mL, IL-10은 17.0 pg/mL이었고 항 HBe 항체 양성인 환자에서 IL-2는 5.9 pg/mL, TNF-α는 6.6 pg/mL, IFN-γ는 5.8 pg/mL, IL-4는 17.2 pg/mL, IL-10은 4.3 pg/mL로(Fig. 1, Table 3), IL-10만이 HBeAg 양성인 환자에서 항 HBe 항체

Table 3. Comparison of Serum Cytokine Levels in Normal Controls and Patients with Chronic HBV Infection

(pg/mL)	Control (n=7)	Chronic HBV infection		
		Total (n=35)	HBeAg (+) (n=20)	anti-HBe (+) (n=15)
IL-2	8.4±11.3	14.1±36.3	20.3±46.5	5.9±11.4
TNF-α	6.1±0.3	7.7±6.7	8.6±8.8	6.6±1.3
IFN-γ	14.8±7.4	11.7±19.3	16.1±23.3	5.8±9.9
IL-4	34.3±31.9	26.5±44.1	33.5±48.9	17.2±36.4
IL-10	3.2±5.3*	11.6±18.7*	17.0±21.8†	4.3±10.1†

Values presented as mean±SD.

IL, interleukin; TNF-α, tumor necrosis factor α; IFN-γ, interferon γ

*: p<0.05, † : p<0.05

Table 4. Serum Cytokine Levels according to Histologic Diagnosis of Liver Biopsy

	CAH (n=9)	CPH (n=10)
L-2 (pg/mL)	32.3±67.5	7.6±14.6
TNF-α (pg/mL)	10.8±12.8	5.9±0.2
IFN-γ (pg/mL)	22.0±31.6	4.7±6.4
IL-4 (pg/mL)	27.7±37.3	10.0±11.0
IL-10 (pg/mL)	25.7±30.4	4.8±5.6

CAH, chronic active hepatitis; CPH, chronic persistent hepatitis

양성인 환자에 비해 유의있게 높았다(p<0.05).

만성 활동성 간염 환자에서 IL-2는 32.3 pg/mL, TNF-α는 10.8 pg/mL, IFN-γ는 22.0 pg/mL, IL-4는 27.7 pg/mL, IL-10은 25.7 pg/mL이었고 만성 지속성 간염 환자에서 IL-2는 7.6 pg/mL, TNF-α는 5.9 pg/mL, IFN-γ는 4.7 pg/mL, IL-4는 10.0 pg/mL, IL-10은 4.8 pg/mL로(Table 4), 만성 활동성 간염 환자에서 높은 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 2).

혈청 아미노전이 효소치가 정상인 환자에서 IL-2는 11.8 pg/mL, TNF-α는 6.5 pg/mL, IFN-γ는 9.7 pg/mL, IL-4는 32.4 pg/mL, IL-10은 8.1 pg/mL이었고 혈청 아미노전이 효소치가 40~100 U/L인 환자에서 IL-2는 2.6 pg/mL, TNF-α는 6.3 pg/mL, IFN-γ

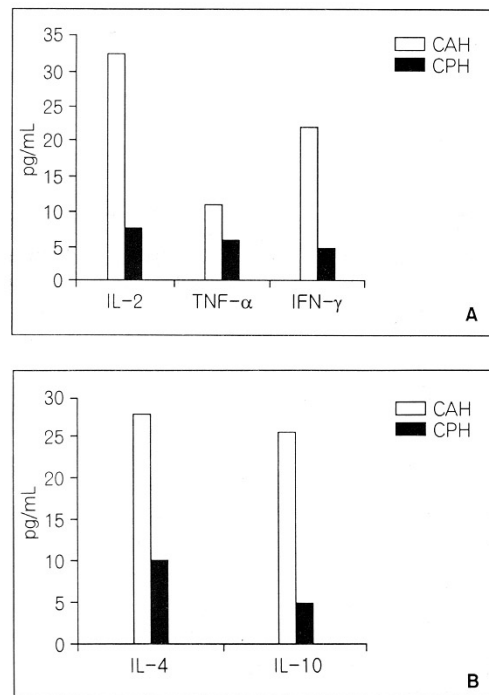


Fig. 2. Serum Th1 (A) and Th2 (B) cytokine levels in patients with chronic active hepatitis (CAH) and chronic persistent hepatitis (CPH).

는 5.7 pg/mL, IL-4는 22.3 pg/mL, IL-10은 9.5 pg/mL이었으며 혈청 아미노전이 효소치가 100 U/L 이상인 환자에서 IL-2는 36.6 pg/mL, TNF-α는

Table 5. Comparison of Serum Cytokine Levels in Patients with Chronic HBV Infection According to Serum Aminotransferase Levels

	Aminotransferase levels (U/L)		
	< 40 (n=18)	40 ~ 100 (n=10)	> 100 (n=7)
IL-2 (pg/mL)	11.8±15.1	2.6±3.6	36.6±77.2
TNF-α (pg/mL)	6.5±1.2	6.3±0.7	13.1±14.4
IFN-γ (pg/mL)	9.7±13.3	5.7±6.0	25.4±35.4
IL-4 (pg/mL)	32.4±48.9	22.3±42.1	17.4±36.9
IL-10 (pg/mL)	8.1±11.7	9.5±9.9	23.5±35.1

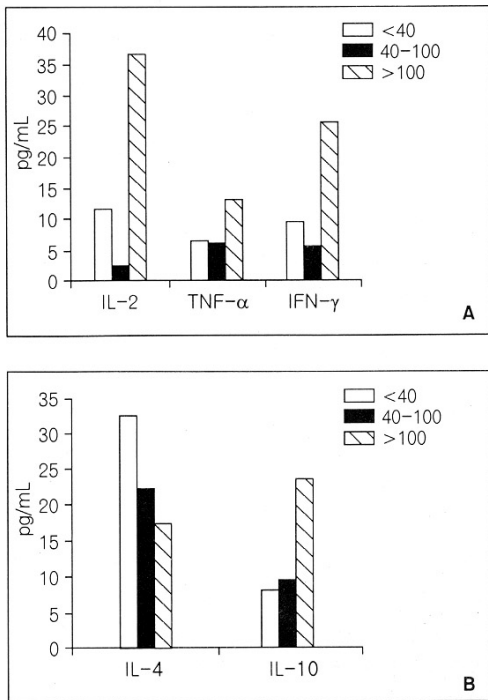


Fig. 3. Serum Th1 (A) and Th2 (B) cytokine levels in patients with chronic HBV infection according to serum aminotransferase levels.

13.1 pg/mL, IFN-γ는 25.4 pg/mL, IL-4는 17.4 pg/mL, IL-10은 23.5 pg/mL이었다(Table 5). 정상적인 혈청 아미노전이 효소치를 보인 환자에서는 효

소치가 높은 환자에 비해 IL-4가 높은 경향을 보였고 혈청 아미노전이 효소가 100 U/L인 환자에서 IL-4를 제외한 모든 사이토카인이 높은 경향을 보였지만 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

고 찰

B형 간염 바이러스는 감염된 간세포에 직접 작용하여 세포 변성을 일으키지는 않지만 B형 간염 바이러스에 의한 간세포의 손상과 감염 후에 뒤따르는 바이러스의 제거는 세포성 면역 기전에 의해 매개되며 B형 간염 바이러스 감염 후 회복되지 못하고 B형 간염 바이러스 만성 보유자가 되는 경우에 바이러스의 생태에 두가지 다른 상태가 있다¹²⁾. 그 하나는 활발한 바이러스 증식이 있는 초기 단계로 혈청내에 HBe 항원과 간 세포내에 HBc 항원이 존재하고 흔히 만성적인 간병변을 보인다. 다른 한 단계는 건강 보유자 상태(healthy carrier state)로 항 HBe 항체가 생성되고 순환하는 viron의 소실 및 만성 간 질환의 활성도가 생화학적 및 조직학적 완화를 보인다. 본 연구의 대상 환자에서도 혈청 HBe 항원이 양성인 환자와 간 생검상 만성 활동성 간염의 소견을 보였던 환자에서 혈청 아미노전이 효소치가 항 HBe 항체 양성인 환자나 간 생검상 만성 지속성 병변을 보인 환자에 비해 유의하게 높았는데 이는 혈청 HBe 항원 양성인 경우(만성 활동성 간염 환자 9명 모두는 혈청 HBe

항원이 양성이었음) 바이러스의 활발한 증식이 있고 이에 따른 간세포의 손상이 초래되는 상태이어서 혈청 아미노전이 효소치의 상승을 보인 것으로 생각되었다.

분자 면역학의 진보로 다른 세포들과 조직들 사이의 상호 작용을 중재하는 호르몬과 유사한 단백질의 특성이 밝혀져 이를 싸이토카인(cytokine)이라 명명하게 되었으며 이런 싸이토카인의 대부분은 분자량이 80,000 Da 이하인 당단백질(glycoprotein)이다¹³. 싸이토카인의 생성에 관여하는 세포들은 대식 세포/단핵 세포계, 림프구, 중성구, 혈관내피 세포, 섬유아 세포, 평활근 세포, 및 케라틴 형성 세포 등이 있으며 간내의 대식 세포인 Kupffer 세포도 자극의 종류에 따라 다양한 싸이토카인을 분비한다. 싸이토카인을 분비하며 세포 매개성 면역에서 중심적인 역할을 수행하는 T 림프구인 보조 T(helper T; Th) 세포는 싸이토카인의 분비 양상에 따라 Th1과 Th2 세포로 분류하며 Th1 세포는 IL-2, IFN- γ 및 TNF- α 를, Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, 및 IL-10을 주로 생산한다^{14,15}. 일반적으로 Th1 세포는 세포 매개성 면역에 관여하며 바이러스를 포함한 세포 내의 병원체로부터 숙주를 방어하는데 주요한 역할을 하나 Th2 세포는 주로 체액성 면역 반응을 조절하는 역할을 하는데 세포 외의 병원체에 대해서는 효과적으로 대처하지만 세포 내의 감염 인자에 대해서는 효과적으로 대처하지 못한다¹⁶.

만성 B형 간염 바이러스 감염 동안에 Th1계의 싸이토카인(IL-2, IFN- γ)은 간염 활동성의 증가된 상태와 관련이 있고 Th2계의 싸이토카인(IL-4, IL-10)은 간 병변의 완화와 관계 있는 것으로 보인다¹⁷⁻¹⁹. Fukuda 등¹¹은 만성 B형 간염 환자의 간 조직에서 싸이토카인 mRNA 발현을 연구하여 활발한 간염의 소견을 보이는 환자에서는 IL-2, IFN- γ 와 TNF- β mRNA가 선택적으로 발현되고 간염의 활성도가 비교적 경한 환자에서는 IL-4 mRNA가 발현됨을 보고하였다. 이렇게 간염의 활성도가 증가되어 있는 상태 즉 혈청 아미노전이 효소의 상승을 보이는 경우에는 Th2계의 싸이토카인보다

는 Th1계의 싸이토카인의 활성을 보일 것이다. 그러나 본 연구에서는 HBe 항원 양성인 환자에서 혈청 AST와 ALT치가 상승되어 간염의 활성도가 증가되어 있는 상태임에도 불구하고 Th2계의 IL-10만이 유의있게 높았다. Milich 등²⁰은 B형 간염 바이러스 항원인 HBcAg과 HBeAg을 각각 보조 T 세포에 주입하여 생성되는 싸이토카인을 연구하여 순환하는 HBeAg이 항염증성 Th2계 싸이토카인의 생산을 유도한다고 하였다. 본 연구에서 HBe 항원이 양성이고 간염의 활성도가 증가되어 있음에도 IL-10의 활성화를 보인 것은 Milich 등의 연구와 같이 순환하는 HBeAg이 Th2계 싸이토카인의 생성을 유도한 결과로 사료되었지만 같은 Th2계인 IL-4는 활성화를 보이지 않았다. 본 연구에서 만성 활동성 간염 환자에서 지속성 환자에 비해 측정된 모든 싸이토카인이 그리고 혈청 아미노전이 효소치가 100 U/L 이상인 환자에서 100 U/L 미만이거나 정상인 환자에 비해 IL-2, TNF- α , IFN- γ 및 IL-10이 높은 경향을 보였다. 이와 같이 간염의 활성도가 높은 경우에 혈청 Th1계의 싸이토카인(IL-2, TNF- α 및 IFN- γ)이 높은 경향을 보여 간염 활성도의 증가는 Th1계 싸이토카인의 활성화와 관련이 있는 것으로 보였다. 활동성 간염 환자 9명 모두와 혈청 아미노전이 효소치가 100 U/L 이상인 환자 7명 모두는 HBeAg 양성인 환자들이어서 Th2계인 IL-10도 높은 경향을 보인 것으로 생각되었다. 또한 정상적인 혈청 아미노전이 효소치를 보인 환자에서 통계학적인 의미는 없으나 효소치가 높은 환자에 비해 IL-4가 높은 경향을 보였다. 이는 혈청 아미노전이 효소치가 정상인 즉 간염의 활성도가 낮은 상태에서는 Th2계의 싸이토카인의 활성도가 증가함을 암시하는 소견이라 사료되었다.

실제로 바이러스 감염 후 처음으로 나타나는 싸이토카인의 프로파일 Th1계의 싸이토카인이 우세하면 바이러스 증식을 효과적으로 억제하는데 기여하지만 Th2계의 싸이토카인이 우세하게 되면 숙주내에서 병원체의 전파가 용이하게 된다^{21,22}. 이와 같이 Th1계의 싸이토카인의 효과가 강하게 나타나면 지연 과민반응에 의한 간 손상이 초래되

기는 하지만 결국에는 B형 간염 바이러스에 의한 감염으로부터 회복이 이루어지고 만약 그 효과가 불충분하다면 Th2계의 사이토카인이 동시에 작용하여 Th1계 사이토카인의 항 바이러스 방어 기능이 상쇄되어 만성적인 감염 상태로 이행될 수 있을 것이다. 아직까지 B형 간염 바이러스 만성 보유자 상태에서 Th1과 Th2 사이토카인의 불균형이 초래되는 기전은 잘 알려져 있지 않지만, 가능한 기전으로 B형 간염 바이러스의 항원인 HBc와 HBe 항원에 의해 유도된다고 한다²⁰. B형 간염 바이러스의 생활사에서 이 항원들의 역할을 보면 HBc 항원은 바이러스 DNA를 싸고있는 세포내 단백질로 바이러스의 성숙에 중요한 역할을 하고 분비되어 순환하는 HBe 항원은 바이러스 증식에 필요하지는 않으나 면역 조절 기능(immunomodulator)을 가지고 있어 B형 간염 바이러스와 면역 체계 사이의 복잡한 상호작용을 하는 것으로 보인다²³⁻²⁵. B형 간염 바이러스 감염 동안 HBc 항원은 우선적으로 Th1 세포의 활성화와 IL-2, IFN- γ 및 종양 괴사 인자(TNF)의 분비를 유도하여 염증 유발, 세포독 T 림프구 유도, 간세포 손상 및 바이러스 증식의 억제에 관여하고 HBe 항원은 우선적으로 Th2 세포의 활성화를 유도하여 항염증 사이토카인인 IL-4, IL-5, 및 IL-10의 분비, 항체 생성의 증강과 바이러스의 지속적인 증식이 이루어진다고 한다²⁰. B형 간염 바이러스에 감염되었을 때 HBc/HBe 항원 특이 Th1 세포가 우세하면 급성 경과를 보이기는 하지만 감염으로부터 회복을 보이지만 Th2 세포가 우세한 경우에는 지속적인 감염의 형태를 더 자주 보인다고 한다^{26,27}. 본 연구에서 간염의 활성도가 높은 상태(혈청 HBe 항원 양성, 병리 조직 소견상 만성 활동성 간염, 및 혈청 아미노전이 효소치가 상승된 환자)에서 Th1계 사이토카인의 의의있는 활성화가 관찰되지 않았던 것으로 보아 Th2계의 사이토카인이 동시에 작용하여 Th1계 사이토카인의 항 바이러스 방어 기능이 상쇄됨으로서 만성적인 감염상태를 보인 것으로 추측되었다.

B형 간염 바이러스 감염상태에서의 사이토카인

의 변화는 만성 B형 간염의 치료에서도 관찰되는데 만성 B형 간염 환자의 치료에 이용되는 IFN- α 는 T 세포의 활성화와 IL-2 생산의 증가를 유도하고 IL-4와 IL-10의 생산을 감소시켜 바이러스 증식을 억제함으로써 B형 간염 바이러스 감염상태로부터 회복되게 하는데²⁸ 이런 IFN- α 의 치료효과는 30~40%에서 나타난다. 이와 같이 효과적으로 Th1계의 사이토카인을 활성화시키고 Th2계의 사이토카인의 활성화를 억제시키는 치료법은 B형 간염 바이러스의 증식을 종식시켜 결국에는 B형 간염 바이러스 감염상태로부터 환자를 회복시킬 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 만성 B형 간염 바이러스 감염시 환자의 상태에 따라 다른 혈청 사이토카인의 양상을 보였는데 B형 간염 바이러스 만성 감염 환자에서 사이토카인의 연구는 만성 B형 간염 바이러스 감염시 사이토카인의 역할을 구명할 뿐만 아니라 새로운 면역 조절 치료의 개발에 이용될 수 있을 것으로 사료되었다.

요 약

목 적: 혈청 B형 간염 바이러스 표면 항원(HBsAg)이 양성인 만성 보유자 35명에서 혈청 Th1계 사이토카인(IL-2, TNF- α 및 IFN- γ)과 Th2계 사이토카인(IL-4와 IL-10)을 측정하여 만성 B형 간염 바이러스 감염 환자의 병태에 따른 사이토카인의 변화를 구명하고자 하였다.

방 법: 대조군은 항 HBs 항체 양성인 정상 소아 7명이었고 환자군 35례중 HBeAg 양성군은 20례, 항 HBe 항체 양성군은 15례이었으며 간 조직검사를 시행한 19례중 만성 지속성 간염은 10례, 만성 활동성 간염은 9례이었다. 말초 정맥혈로부터 혈청을 분리하여 aminotransferase, B형 간염 바이러스 표지자 검사 및 ELISA로 사이토카인(IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4 및 IL-10)을 측정하였다.

결 과:

1) HBe 항원 양성인 환자에서 항 HBe 항체 양성인 환자에 비해 그리고 만성 활동성 간염 환자

에서 지속성 간염 환자에 비해 유의 있게 혈청 AST와 ALT치가 높았다.

2) HBe 항원 양성인 환자에서 항 HBe 항체 양성인 환자에 비해 IL-10이 유의 있게 높았다.

3) 만성 활동성 간염 환자에서 지속성 환자에 비해 통계학적인 의미는 없었으나 측정된 모든 사이토카인이 높은 경향을 보였다.

4) 혈청 아미노전이 효소치가 100 U/L 이상인 환자에서 IL-2, TNF- α , IFN- γ 및 IL-10이 높은 경향을 보였고 혈청 아미노전이 효소치가 정상인 환자에서 효소치가 높은 환자에 비해 IL-4가 높은 경향을 보였다.

결론: Th2계 사이토카인인 IL-10의 증가는 간염의 활성도보다는 HBe 항원의 지속성과 관련이 있고 Th1계의 사이토카인인 IL-2, TNF- α 및 IFN- γ 는 간염의 활성도 증가와 관련이 있음을 시사하였다.

참 고 문 헌

- 1) Perrillo RP. Hepatitis B: Transmission and natural history. *Gut* 1993; 34(suppl): S48-S9.
- 2) Hsu HY, Chang MH, Lee CY, Chen JS, Hsu HC, Chen DS. Spontaneous loss of HBsAg in children with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1992; 15: 380-6.
- 3) Chang MH. Maternal transmission of hepatitis B virus in childhood hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1989; 64: 2377-80.
- 4) Suchy FJ. Chronic viral hepatitis in children. *Semin Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 2: 9-14.
- 5) Lok ASF. Natural history and control of perinatally acquired hepatitis B virus infection. *Dig Dis* 1992; 10: 46-52.
- 6) Ikeda T, Lever AM, Thomas HC. Evidence for a deficiency of interferon production in patients with chronic hepatitis B virus infection acquired in adult life. *Hepatology* 1986; 6: 962-5.
- 7) Foster GR, Thomas HC. Recent advances in the molecular biology of hepatitis B: mutant virus and the host response. *Gut* 1993; 34: 1-3.
- 8) Milich DR. Immune response to hepatitis B virus core antigen(HBcAg): localization of T cell recognition sites within HBcAg/HBeAg. *J Immunol* 1987; 139: 1223-31.
- 9) Malizia G. Expression of leukocyte adhesion molecules in the liver of patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1991; 100: 749-55.
- 10) Lau JYN, Wright TL. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. *Lancet* 1993; 342: 1335-40.
- 11) Fukuda R, Ishimura N, Nguyen TX, Chowdhury A, Ishihara S, Kohge N, et al. The expression of IL-2, IL-4 and interferon-gamma(IFN- γ) mRNA using liver biopsies at different phases of acute exacerbation of chronic hepatitis B. *Clin Exp Immunol* 1995; 100: 446-51.
- 12) Fattovich G, Rugge M, Brollo L. Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986; 6: 167-72.
- 13) Green AR. Peptide regulatory factors: multifunctional mediators of cellular growth and differentiation. *Lancet* 1989; 1: 705-7.
- 14) Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-73.
- 15) Cherwinski HC, Schumacher JH, Brown KD, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell clone: 3. Further differences in lymphokine synthesis between TH1 and TH2 clones revealed by RNA hybridization, functionally monospecific bioassays and monoclonal antibodies. *J Exp Med* 1987; 166: 1229-44.
- 16) Romagni S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 227-57.
- 17) Fukuda R, Satoh S, Nguyen TX. Expression rate of cytokine mRNA in the liver of chronic hepatitis C: comparison with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol* 1995; 30: 41-7.
- 18) Daniels HM, Meager A, Eddleston AL, Alexander GJ, Williams R. Spontaneous production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta during interferon-alpha treatment of chronic HBV infection. *Lancet* 1990; 335: 875-7.
- 19) Minuk GY, LaFreniere R. Interleukin-1 and interleukin-2 in chronic type B hepatitis. *Gastroen-*

- terology 1988; 94: 1094-6.
- 20) Milich DR, Schodel F, Hughes JL, Jones JE, Peterson DL. The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets: antigen structure can affect Th cell phenotype. *J Virol* 1997; 71: 2192-201.
 - 21) Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 1994; 76: 241-51.
 - 22) Sher A, Coffman RL. Regulation of immunity to parasites by T cells and T-cell derived cytokines. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 385-409.
 - 23) Schlicht HJ, Salfeld J, Schhaller H. The pre-C region of the duck hepatitis B virus encodes a signal sequence which is essential for the synthesis and secretion of processed core proteins but not for virus formation. *J Virol* 1987; 63: 3701-9.
 - 24) Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6599-603.
 - 25) Milich DR, Jones J, Hughes J, Maruyama T. Role of T-cell tolerance in the persistence of hepatitis B virus infection. *J Immunother* 1993; 14: 226-33.
 - 26) Maruyama T, McLachlan A, Iino S, Koike K, Kurokawa K, Milich DR. The serology of chronic hepatitis B infection revisited. *J Clin Invest* 1993; 9: 2586-95.
 - 27) Maruyama T, Schodel F, Iino S, Koike K, Yasuda D, Peterson D, et al. Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1994; 106: 1006-15.
 - 28) Alexander GJ, Nouri-Aria KT, Neuberger J, Baktiar M, Vogel W, Anderson MG, et al. In vitro effects of lymphoblastoid interferon on lymphocyte activation and cell-mediated cytolysis in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1986; 3(supple 12): S269-S77.