

A Case Report of HBsAg Seroclearance in Chronic Hepatitis B Patient

Hyeok Jae Lee¹ and Min-Hyeok Lee²

*Department of Clinical Laboratory Science, Seonam University, Namwon 590-711, Korea¹
Department of Laboratory Medicine, Suncheon Hankook Hospital, Suncheon 540-725, Korea²*

Hepatitis B surface antigen (HBsAg) seroclearance is a rare event in chronic hepatitis B virus (HBV) infection which acquires the disease early in life. A case study have examined with asymptomatic chronic hepatitis B carrier who exhibits HBsAg seroclearance in anti-HBe positive. We comprehensively studied the biochemical, virological and clinical aspects of a patient with HBsAg seroclearance. Liver biochemistry, serological markers, serum HBV DNA levels, and development of clinical complications were monitored. Mutation of hepatitis B virus is suspected serum HBsAg detected by the HBsAg assay systems of VITROS (OrthoClinical Diagnostics, USA), AxSYM (Abbott Laboratories, USA), Elecsys (Roche Diagnostics, Germany) and ADVIA Centaur (Bayer Diagnostics, USA). These four immunoassays showed negative results. Also, the patient had undetectable serum HBV DNA. Therefore, no mutation within the "a" determinant of HBsAg, which might escape detection from HBsAg immunoassay were found. Natural seroclearance was confirmed.

Key Word : HBV, HBsAg, Seroclearance, Mutation, "a" determinant

서론

B형간염은 전 세계적으로 약 5% 정도의 유병률을 보이는 흔한 감염성 질환의 하나로 우리나라를 비롯해 전 세계적으로 급, 만성 간염과 간경변증 그리고 간세포암종의 중요한 원인으로 알려져 있다. 만성 B형간염은 B형 간염바이러스 (hepatitis B virus, HBV)의 급성 감염 후 6개월 이상 혈청 B형간염 표면항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg)이 지속되는 것으로 정의된다(Lok과 McMahon, 2007).

국내의 HBsAg 양성률은 B형간염 예방백신이 상용화되

기 이전인 1980년대 초에는 남자는 8~9%, 여자는 5~6%로 보고되었고 1983년 B형간염 예방백신이 도입된 이후, 국가 예방접종 사업 등을 통해 2008년에는 HBsAg 양성률이 남자는 3.2%, 여자는 2.7%로 조사되었다(Ahn 등, 2010). 최근 조사에 따르면 10대에서는 HBsAg 양성률이 0.44%, 10세 미만에서는 0.2%로 감소되었다 (Park 등, 2010). 또한 우리나라 만성간염 및 간경변증 환자의 약 70%, 간세포암종 환자의 65~75%에서 HBsAg이 검출되는 점을 고려할 때(Kim 등, 2008) 아직도 만성 B형간염이 우리나라 국민 보건에 미치는 영향은 작지 않다고 생각된다.

만성 B형간염에서 간세포의 손상은 HBV와 환자의 면역체계간의 역동적인 상호작용의 결과이며(Liaw, 2009), 이에 따라 만성 B형간염은 면역관용기, 면역제거기, 비활동성기, 재활성화기의 역동적인 자연경과를 보인다(Yim과 Lok, 2005). 특히 면역제거기 중에 연간 2~15% 정도의 B형 간염 e항원(HBeAg)의 자연적인 혈청전환이 일어나면서 HBV DNA의 증식이 감소하고 혈청 알라닌아미노전이효소(ala-

교신저자 : 이혁재, (우) 590-711 전북 남원시 광치동 720번지 서남대학교 임상병리학과
TEL : 063-620-0120, 010-2637-1833
E-Mail : primo-uomo@hanmail.net

Received : 3 September 2012
Return for modification : 14 September 2012
Accepted : 17 September 2012

nine aminotransferase, ALT) 수치도 안정되는 비활동성기에 들어가며, 그 중 일부에서는 HBsAg seroclearance가 일어난다(Yim과 Lok, 2005; Liaw, 2009).

HBsAg은 HBV S 유전자로부터 해독된 아미노산 226개의 단백질로 알려져 있으며, 그 중에서도 HBsAg이 B형간염 표면항체와 결합하는 주친수성부위(major hydrophilic region, MHR)는 103번째에서 173번째 아미노산 사이를 말하며, cysteine 아미노산에 의해 큰 고리(loop)를 형성하게 되는데, 124~138번째 아미노산들과 139~147번째 아미노산들이 2개의 주요 고리를 형성하게 된다 (Water 등, 1987). 이 중 HBsAg에 대한 항체 결합을 결정하는 부위를 HBsAg “a” 결정기라고 부르는데, 그 범위는 124번째 아미노산에서 147번째 아미노산 사이를 지칭한다. 특히 139~147번째 아미노산들이 매우 잘 보존되어 있으며, B형 간염 표면 항체에 강한 친화도를 보이는 것으로 알려져 있다(Thomas와 Carman, 1994). 그러나 이 부위에 변이가 생기면 바이러스의 표면항원 구조 변화를 초래하여 항원·항체 반응에 기초한 면역학적 검사법으로 HBV 표지자 검사를 시행할 경우에 기존 항체와 반응하지 않을 수 있어 위음성(false negative) 결과가 초래 될 수 있으므로 실제 감염이 존재하더라도 감염이 없는 것으로 오인할 수 있어 HBV 감염의 진단에 어려움이 있을 수 있다는 보고가 있다(La'ulu와 Roberts, 2006).

본 사례에서는 HBV 감염 진단에 일반적으로 시행되고 있는 혈청학적 표지자 검사에서 HBsAg이 수년전 여러 차례 양성되었던 환자가 현재 음성 결과를 보이고 HBeAg 음성, B형 간염 e항체(anti-HBe) 양성의 혈청전환이 이루어진 1예가 있어 실제로 HBsAg seroclearance가 일어났는지 아니면 HBV 변이에 의해 면역장비에서 검출이 안 되었는지를 확인하기 위해 서로 다른 제조사의 시약과 장비를 이용하여 HBsAg를 검사하여 비교하였다. 또한 HBV 변이 유·무와 HBsAg seroclearance 확인을 위해 실시간중합효소연쇄반응(real-time PCR)을 실시하였다. 이러한 검사들로 HBsAg seroclearance를 확인하였기에 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

증 례

1. 대상환자

전남 동부지역에 위치한 순천한국병원에 내원한 57세 남자로서 만성 B형간염 환자로 간세포암종의 가족력이 없고 음주는 주 1회 정도로 소주 반병 정도의 주량을 가졌으며, 항바이러스제 치료력은 없었으며, 타 약물 복용력도 없었다. 과거 서로 다른 2차 의료기관에서 여러 차례 HBsAg 양성인 건강보급자로 진단받았다. 순천한국병원 내원 당시 검사에서 HBsAg이 음성으로 나타났고 HBeAg 음성, anti-HBe 양성으로 혈청전환이 일어난 상태였다. 기타 anti-HCV나 anti-HIV 검사에서는 음성이었다. 대상자는 본 연구 취지에 대해 사전에 충분히 설명을 듣고 이에 동의하였으며, 임상시험윤리기준에 준하여 연구를 실시하였다.

2. 생화학적 검사소견

혈청 생화학검사에서 aspartate aminotransferase (AST)는 22 U/L, ALT는 23 U/L, alkaline phosphatase (ALP)는 164 U/L, gamma glutamyltranspeptidase (GGT)는 32 U/L, Total bilirubin은 0.8 mg/dL, albumin은 4.0 g/dL, prothrombin time은 12.0s로 모두 정상소견을 보였다. 완전혈구계산(complete blood count, CBC)검사에서의 platelet count는 184,000/ μ L이었다.

3. B형 간염 표지자 검사소견

B형간염 바이러스 표지자인 HBsAg과 표면항체(anti-HBs), HBeAg, anti-HBe에 대해 다음 4가지 장비로 제조사의 지침에 따라 검사하였다. HBsAg 검사는 HBsAg seroclearance에 의해 HBsAg이 자연적으로 소실되었는지 아니면 HBsAg “a” 결정기 변이에 의해 항체와 반응하지 않아 위음성(false negative)으로 나타났는지의 여부를 확인하기 위해 각기 다른 4개 제조사의 자동면역장비로 HBsAg 검출을 시도하였으며, 결과는 다음과 같았다(Table 1).

Table 1. Overview of the results of automated immunoassay systems used to compare HBV serum markers

Marker	Assay system			
	VITROS	AxSYM	Elecsys	ADVIA
HBsAg	Negative	Negative	Negative	Negative
Anti-HBs	Negative	Negative	Negative	Negative
HBeAg	Negative	Negative	Negative	Negative
Anti-HBe	Positive	Positive	Positive	Positive

4. 혈청 HBV DNA 정량검사 소견

HBV DNA는 COBAS[®] AmpliPrep & COBAS[®] TaqMan[®] Analyzer System(Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)을 사용하였으며, 측정범위는 2.00E+01 IU/mL (1.16×10^2 copies/mL)에서 1.70E+08 IU/mL (1.10×10^8 copies/mL)까지이며, 최소 검출량은 20 IU/mL이다. HBV DNA real-time PCR 정량에서 검출 한계인 20 IU/mL 이하 (116 copies/mL 이하)의 결과를 보여 음성이었다. 또한 중합효소연쇄반응에서 시발체 부착부위의 변이를 고려하여 다른 부착부위의 시발체로 중합효소연쇄반응을 실시하였으나 이 결과 역시 음성이었다.

고찰

최근 만성 B형간염의 치료 가이드라인은 장기적인 HBV 증식 억제를 통해 염증을 완화시키고 질병 진행을 억제하여 간의 섬유화를 예방하며, 간경변증, 간세포암으로의 진행을 예방함으로써 간질환에 의한 합병증을 감소시키고 사망률을 낮추어 생존율을 향상시키는 것이다. 가장 이상적인 치료는 HBsAg의 혈청 내 소실이지만 치료에도 불구하고 HBV의 완전 치료는 현재까지 거의 불가능하다고 볼 수 있다. Yuen 등(2008)의 연구에서 혈청 HBsAg의 연간 소실률은 0.13%로 이전 보고들과 유사하였다. 만성 B형간염 환자에서 혈청 HBsAg의 소실은 수직감염이 많은 동양에서는 연간 0.1-0.8% 정도로 일어나며(Ahn 등, 2005; Liaw, 2009), 반면 감염이 주로 청소년기 이후에 일어나는 서양에서는 0.8-2.1% 정도로 좀 더 높다(Fattovich 등, 1998; Sattler 등,

2006). 또한 혈청 HBsAg의 연간 소실률은 연구 시작 시의 간질환의 정도에 따라 차이를 보여 조직으로 만성간염이 확인된 환자에서는 0.5% 정도, 혈청 ALT치가 정상이고 조직에서 염증이 없는 환자에서는 0.8% 정도를 보인다(Liaw 등, 1991). HBsAg의 혈청 내 소실과 연관된 인자로는 HBeAg 양·음성 여부, 나이, 간경변의 발생 여부, 간염이 안정화되어 있는 경우에 유의하게 높은 HBsAg 소실을 기대할 수 있다고 보고된 바 있다(Huo 등, 1998; Chu와 Liaw, 2007). 또한 인터페론 치료를 받는 경우 받지 않는 경우보다 HBsAg 소실률이 더 높다고 알려져 왔다(Evans 등, 1997). 혈청 HBV DNA는 HBsAg 소실 후 1.7% 정도에서 검출된다고 보고하였다(Arase 등, 2006). 또한 Yuen 등(2008)의 연구에서는 혈청 HBV DNA는 HBsAg 소실 1년 이내, 5-10년, 10년 이후에 각각 13.4%, 6.1%, 3.7%의 환자들에서 검출된다고 하였다. 이러한 연구결과로 미루어 볼 때 혈청 HBV DNA는 HBsAg이 소실되고 시간이 경과되면서 점차 감소하는 것이 일반적인 현상인 것 같다. 따라서 드물게 경험하게 되는 HBsAg의 seroclearance를 확인할 수 있는 최선의 방법은 현재로서는 HBV DNA levels를 확인함으로써 가능하다고 생각된다.

만성 B형간염에서도 급성 B형간염과 유사하게 혈청 HBsAg이 소실된 환자에 대한 최근 가이드라인에서는 혈청 HBsAg의 소실을 B형간염 치료의 이상적인 종결 기준으로 기술하고 있다(EASL Clinical Practice, 2009). 만성 B형간염 환자에서 혈청 HBsAg 소실 후 생화학적, 조직학적, 바이러스학적 검사소견 및 임상경과는 대체로 양호하지만 많은 예에서 간경변, 간경변의 합병증, 특히 간암으로의 진행이 관찰된다고 보고하고 있다. Yuen 등(2008)의 연구에서

도 45세 이후에 HBsAg의 소실을 보인 환자에서는 정기적인 간암 감시를 고려해야 한다고 하였다. 국내 연구에 의하면 만성 B형간염 환자에서 혈청 HBsAg 소실 후에도 간암은 6.2~10.2%에서 발생한다고 보고하고 있으며(Ahn 등, 2005; Nam 등, 2007; Kim 등, 2009), 이는 여러 연구와 유사한 수준이다. 하지만 우리나라의 경우 HBV는 거의 대부분 유전자형이 C형이며, C형 HBV는 B형에 비해 HBeAg의 혈청 전환이 늦고 간염의 활성도도 높으며 간경변으로의 진행이 빠르면서 간암 발생도 많다고 알려져 있다(Chu 등, 2002). 따라서 국내 환자에서의 혈청 HBsAg 소실의 의미와 그 후 질병 진행 정도는 다른 나라와 차이가 있을 것으로 생각된다. 따라서 만성 B형간염 환자에서 혈청 HBsAg의 소실은 양호한 질병경과를 예측할 수 있는 좋은 지표이며 치료 목표중의 하나지만 혈청 HBsAg 소실이 질병으로부터의 완전한 해방을 의미한다고 말할 수는 없으며, HBsAg 소실 후에도 간암 발생에 대한 감시를 비롯한 정기적인 추적의 불가피할 것으로 보인다.

HBV 감염 진단을 위해 혈청학적 표지자들이 유용하게 사용되고 있으나 HBsAg “a” 결정기 부위 변이가 발생할 경우 바이러스의 표면항원 구조 변화를 일으켜 기존 항체와 반응하지 않을 수 있으므로 면역검사법으로 측정하였을 때 HBsAg이 검출되지 않아 실제 감염이 존재하더라도 감염이 없는 것으로 오인할 수 있어 HBV 감염 진단에 어려움이 있을 수 있다고 보고하였다(La'ulu와 Roberts, 2006). Cha(2005)의 B형간염 바이러스 표면항원 변이 검출에 관한 연구에서 재조합 HBsAg 변이항원 9종류에 대한 검사 결과에서 분석기기에 따라 검출률이 다르다고 보고하였다. Sohn 등(2009)의 연구에서도 방사선면역측정법에서 HBsAg 음성인 13검체 중 10예(76.9%)는 Architect HBsAg kit로 검사하였을 때 양성 결과를 보여 S 단백질에 발생한 돌연변이에 의해 방사선면역측정법에서 검출되지 못했을 가능성이 더 높은 것으로 보고하였다. 국내에서도 HBsAg S 유전자 “a” 결정기 변이가 계속 보고되고 있으며(Kim 등, 2003; Cha, 2005), HBV 백신 접종이 보편적으로 이루어지고 있어 표면항원 변이가 점차 증가할 것으로 예측하였다(Cha, 2005). 대만의 경우 예방접종 프로그램이 도입되기 전에 실시한 역학조사에서 소아 감염자의 7.8%에서 HBsAg 변이

가 발견되었으며, 10년 후에는 28.1%로 증가하였다(Hsu 등, 2004). 아직까지는 국내의 HBsAg “a” 결정기 부위에 변이를 가진 환자의 비율이 어느 정도인지 정확한 자료는 없지만 HBIG 및 HBV 백신 접종이 보편적으로 이루어지고 있어 향후 “a” 결정기 변이에 의한 HBV 감염 진단에 어려움이 있을 수 있다고 사료된다. 또한 HBsAg을 정확히 검출하기 위해 매우 낮은 농도의 HBsAg을 검출할 수 있어야 하며, 변이형을 검출할 수 있도록 다클론성항체(polyclonal antibody) 개발이 필요할 것으로 사료된다. 따라서 HBV 감염의 의심되면 HBsAg이 음성이더라도 B형간염 중심항체(hepatitis B core antibody, anti-HBc)와 혈청 HBV DNA 농도를 반드시 확인해야 할 것이다. 본 사례에서는 4개 제조사의 면역장비에서 HBsAg이 모두 음성결과를 보였고 실시간중합효소연쇄반응에서 음성을 보여 확실히 HBsAg의 “a” 결정기 변이가 아닌 HBsAg seroclearance임을 확인할 수 있었다. 향후 HBsAg 양성 만성 B형간염 환자들에게서 앞에서 언급했던 이유들로 인해 HBsAg 음성인 결과를 자주 경험하게 될 것이라고 생각된다.

결론적으로 만성 B형간염 환자에서 아주 드물게 일어나는 HBsAg seroclearance에 의해 면역검사법에서 HBsAg이 음성을 나타냈는지 아니면 HBsAg “a” 결정기 변이에 의해 진단 항체와 반응하지 않아 HBsAg이 검출되지 않는 위음성(false negative) 인지 반드시 확인이 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Ahn SH, Park YN, Park JY, Chang HY, Lee JM, Shin JE, et al. Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *J Hepatol*. 2005, 42:188-194.
2. Ahn YO, Kim CY, Bae SH, Chang HG. Changing pattern of HBV-related diseases in Korea since after HBV vaccination. *Korean J Hepatol*. 2010, 16:23-37.
3. Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, et al. Long-term outcome after hepatitis B surface antigen seroclearance in patients with chronic hepatitis B. *Am J Med*. 2006, 119:71 e9-e16.
4. Cha YJ. Detection of hepatitis B virus surface antigen mutants.

- Korean J Lab Med.* 2005, 25:442-447.
5. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology.* 2002, 122:1756-1762.
 6. Chu CM, Liaw YF. HBsAg seroclearance in asymptomatic carriers of high endemic areas: appreciably high rate during a long-term follow-up. *Hepatology.* 2007, 45:1187-1192.
 7. European Association For The Study Of The L. Easl Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2009, 50:227-242.
 8. Evans AA, Fine M, London WT. Spontaneous seroconversion in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B: implications for interferon therapy. *J Infect Dis.* 1997, 176:845-850.
 9. Fattovich G, Giustina G, Sanchez-Tapias J, Quero C, Mas A, Olivetto PG, et al. Delayed clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B: relation to interferon alpha therapy and disease prognosis. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Am J Gastroenterol.* 1998, 93:896-900.
 10. Hsu HY, Chang MH, Ni YH, Chen HL. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nation wide vaccination program in Taiwan. *Gut.* 2004, 53:1499-1503.
 11. Huo TI, Wu JC, Lee PC, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, et al. Seroclearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology.* 1998, 28:231-236.
 12. Kim JH, Yeon IL, Lee HJ, Lee YS, Jung YK, Kim JH, et al. The relationship between incidence of hepatocellular carcinoma and time of HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with HBsAg seroclearance [Abstact]. *Korean J Hepatol.* 2009, 15(Suppl 3):S228.
 13. Kim KH, Lee KH, Chang HY, Ahn SH, Tong S, Yoon YJ, et al. Evolution of hepatitis B virus sequence from a liver transplant recipient with rapid breakthrough despite hepatitis B immune globulin prophylaxis and lamivudine therapy. *J Med Virol.* 2003, 71:367-375.
 14. Kim SR, Kudo M, Hino O, Han KH, Chung YH, Lee HS. Epidemiology of hepato-cellular carcinoma in Japan and Korea. A review. *Oncology.* 2008, 75:13-16.
 15. La'ulu SL, Roberts WL. The analytic sensitivity and mutant detection capability of six hepatitis B surface antigen assays. *Am J Clin Pathol.* 2006, 125:748-751.
 16. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long-term outcome under treatment. *Liver Int.* 2009, 29(Suppl 1):100-107.
 17. Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence determinants and significance of delayed clearance of serum HBSAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology.* 1991, 13:627-631.
 18. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2007, 45:507-539.
 19. Nam SW, Jung JJ, Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Cho SH, et al. Clinical outcomes of delayed clearance of serum HBsAg in patients with chronic HBV infection. *Korean J Inter Med.* 2007, 22:73-76.
 20. Park NH, Chung YH, Lee HS. Impacts of vaccination on hepatitis B viral infections in Korea over a 25-year period. *Inter-virology.* 2010, 53:20-28.
 21. Sattler M, Walz C, Crowley BJ, Lengfelder E, Janne PA, Rogers AM, et al. A sensitive high-throughput method to detect activating mutations of Jak2 in peripheral-blood samples. *Blood.* 2006, 107:1237-1238.
 22. Sohn YH, Oh HB, Ko SY, Lim YS, Kwon OJ. Analysis of clinical characteristics and S gene mutation of hepatitis B virus in patients with hepatitis B surface antigen RIA negative and HBV DNA positive. *Korean J Lab Med.* 2009, 29:224-230.
 23. Thomas HC, Carman WF. Envelope and precore/core variants of hepatitis B virus. *Gastroenterol Clin North Am.* 1994, 23:499-514.
 24. Waters JA, O'Rourke SM, Richardson SC, Papaevangelou G, Thomas HC. Qualitative analysis of the humoral immune response to the "a" determinant of HBs antigen after inoculation with plasma-derived or recombinant vaccine. *J Med Virol.* 1987, 21:155-160.
 25. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology.* 2006, 43(Suppl 1):S173-S181.
 26. Yuen MF, Wong DK, Fung J, Ip P, But D, Hung I, et al. HBsAg Seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008, 135:1192-1199.