

라미부딘 내성 만성 B형 간염 환자에서의 아데포비어의 치료 효과

이지숙, 장리라, 이상욱, 한병훈, 윤병철

고신대학교 복음병원 내과학교실

The Efficacy of Adefovir Dipivoxil in Chronic Hepatitis B with Lamivudine Resistance

Jee-Suk Lee, Lee-La Jang, Sang-Uk Lee, Byung-Hoon Han, Byung-Chul Yoon

Department of Internal medicine, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Backgrounds/Aims : Adefovir dipivoxil(ADV) has been shown to be effective against lamivudine resistant strain of hepatitis B virus. But continuation of lamivudine therapy or switching to Adefovir dipivoxil in patients with viral breakthrough after long term lamivudine therapy are controversial. To find efficacy of adefovir dipivoxil, we retrospectively assessed clinical course after lamivudine resistance in patients who changed adefovir dipivoxil and continued lamivudine therapy.

Methods : 58 patients with lamivudine resistant HBV mutants after at least 6 months of lamivudine treatment were included in this study. 24 of the 58 patients were treated with ADV and rest of them were continued the lamivudine therapy after lamivudine resistance. The continuous lamivudine treatment group (n=34) was divided into two groups according to ALT count (ALT $\geq$ 40, n=19 vs ALT<40, n=16). The clinical course and the biochemical and virological response of the switching adefovir group were compared with those of continuing lamivudine group. HBV genotypes and YMDD mutation site was analyzed by TRUGENE HBV Genotyping.

Results : At twelve months, the levels of median serum HBV DNA and ALT was decreased and albumin was improved significantly(P<0.01) in adefovir switching group compared with lamivudine sustained group, especially ALT was elevated more than 40. There is no significant differences between adefovir switching group and lamivudine sustained group (ALT<40, n=15). This study showed that adefovir dipivoxil reduces HBV replication and improves not only biochemical markers of disease activity, but also liver function. HBV genotypes of 58 patients were all C and rtM204I/V mutant was the most common.

Conclusion : This study provides an evidence that adefovir dipivoxil can be effective in the treatment of lamivudine-resistant HBV mutants, especially ALT elevated.

Key words : Chronic hepatitis B, Adefovir dipivoxil, Lamivudine resistant, YMDD motif

서 론

B형 간염바이러스는 10년 이상의 예방 백신 사업에도 불구하고 여전히 우리나라 만성 간염 발생의 주요 원인으로 우리나라 인구의 약 5%가 B형 간염바이러스 보유자로 알려져 있다.¹⁾ 만성 B형 간염은 간경변, 간암 등을 일으켜 사망에 이르게 하며 특히 바이러스가 활동적으로 증식하는 경우 진행성 간질환에 빠질 위험이 높아 바이

러스의 증식을 효과적으로 억제하여 더 이상 간질환이 진행되는 것을 막는 것이 중요하다. 이러한 만성 B형 간염의 치료제로는 최근 여러 가지가 개발되었으나 흔히 사용되는 것으로는 주사제인 인터페론과 경구용 항바이러스제 등이 있다. 인터페론은 주사로 투여해야하며 부작용이 심하며 치료 효과도 일반적으로 약 30-40%에서 HBeAg이 음전되는 것으로 알려져 있으나 국내에서 보고된 만성 B형 간염에서의 인터페론 반응률은 약 25-30%로서 유럽이나 미국에 비해 낮은 실정이다.¹⁻³⁾ 이러한 한계점을 보완하여 2001년부터 만성 B형 간염 치료제로 널리 사용되고 있는 뉴클레오사이드 유도체인 라미부딘은 B형 간염 바이러스의 증식과 활동을 효과적으로 억제하

교신저자 : 이 상 욱

주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 내과학교실
TEL : 051-990-5060, FAX : 051-990-3005
E-mail : FK506@dreamwiz.com

여 대부분의 환자에서 혈청 HBV DNA가 음전될 뿐 아니라 혈청 alanine aminotransferase (이하 ALT) 수치의 감소 및 조직학적 소견도 호전된다고 보고하였다.^{4, 5)} 그러나 투여기간이 길어질수록 내성 바이러스의 출현율의 증가가 치료의 한계점으로, 음전되었던 HBV DNA가 다시 양전되는 바이러스의 돌파현상(viral breakthrough)이 치료의 한계점으로 지적되고 있다.⁶⁾ 이들 내성균은 HBV 역전사 효소 내의 YMDD motif 내 점돌연변이에 의한 것으로 알려져 있으며, 라미부딘의 치료 효과를 낮출 뿐 아니라 환자의 장기적인 예후에도 영향을 미친다.^{7, 8)}

라미부딘 내성 바이러스 발생 시 라미부딘 투여를 중단 후 임상경과를 관찰하거나 라미부딘 지속 투여를 권장하기도 하나,^{5, 8, 9)} 급성 악화의 우려가 있으므로 라미부딘을 중단하고 임상경과만 관찰한다는 것은 현실적으로 어려우며, 지속적인 라미부딘 투여에도 불구하고 임상경과가 항상 양호한 것만은 아니므로¹⁰⁻¹²⁾ 치료에 대한 논란이 많다. 만성 B형 간염 환자에서 라미부딘 치료 도중 바이러스의 돌파현상이 나타나도 라미부딘을 계속 투여하면 혈청 HBV DNA나 ALT치가 라미부딘 치료 전보다 더 증가하지 않는다는 보고⁵⁾가 있는 반면 일부에서는 급성악화를 보이기도하고 심하면 비대상성 간기능 저하가 발생하여 그 중 일부가 사망한다는 보고도 있다.^{9, 11, 13)} 이에 라미부딘 내성 변이종을 치료할 수 있는 약제로 아데포비어 디피복실이 개발되어 라미부딘 내성 만성 B형 간염 환자의 치료에 구조요법으로 사용되고 있다.

아데포비어 디피복실(adeфовir dipivoxil, 이하 아데포비어)은 라미부딘과 다른 뉴클레오사이드 유도체로 라미부딘과 교차 내성이 없고 내성 바이러스의 발현률이 적어 라미부딘 내성 바이러스에 효과적인 2차 약물로 알려져 있다. 야생형 뿐만 아니라 라미부딘 내성의 변이종에 대해서도 항바이러스 효과가 있고 대상성 간질환에서 뿐만 아니라 비대상성 간질환에서도 생화학적, 바이러스적 호전의 효과를 보인다고 보고되었다.¹⁴⁻¹⁸⁾

그러나, 라미부딘 내성 변이종이 발생한 환자의 임상경과가 다양하여 최근까지도 아데포비어로의 전환 시기 및 효과에 대한 연구가 부족하여 임상지침은 아직 불명확한 실정이다. 이에 본 연구에서는 라미부딘 투여 중 라미부딘에 내성을 보인 환자를 대상으로 HBV 역전사 효소의 YMDD motif 내 점돌연변이의 특징을 분석하였고, 지속적으로 라미부딘을 사용한 군과 아데포비어로 대체한 환자 군과의 임상경과 및 특징을 비교하여 아데포비어의 치료 효과 및 적절한 전환 시기에 대해 알아보고자 하였다.

연구 대상

고신 대학교 복음 병원에서 B형 간염 바이러스에 의한 만성 간질환으로 진단받고 라미부딘을 1일 100mg씩 6개월 이상 투여 중인 환자를 대상으로 하여 혈청 ALT 수치가 정상화되고, DNA hybrid 법에 의한 정량적인 검사로 혈청 HBV DNA가 음성으로 변하여 라미부딘에 반응이 있다고 판단되었던 환자들 중에 혈청 DNA가 재 양전되면서 바이러스 돌파 현상이 나타나고 YMDD 변이 양성 반응을 보인 환자 89명 중 바이러스 돌파 현상이 나타난 이후 라미부딘 및 아데포비어를 지속적으로 투여하면서 12개월 이상 추적 관찰이 가능한 환자 58명을 대상으로 하였다. C형 간염, 술, 독성물질, 약물, 대사 장애 등 다른 원인에 의한 간 기능의 이상이 동반된 환자, 라미부딘 내성 발생 당시 이미 비대상성 간경변증 (Child-Pugh 등급 B 혹은 C)이 있거나, 이후 비 대상 악화를 보였던 환자는 제외하였다.

연구 방법

1. 대상 환자의 분석 및 분류

대상 환자들에 대한 진료 기록부를 후향적으로 비교하였다. 만성 B형 간염에 의해 장기간 라미부딘을 투여한 환자 중 라미부딘 내성이 발생한 이후 아데포비어로 대체하여 매일 10mg씩 투여한 환자군(n=24명)과 라미부딘을 계속 지속적으로 투여한 환자군(n=34명)으로 구분하였다. 라미부딘 내성 발생 이후 2-3개월 간격으로 CBC, 간 기능 검사, HBe Ag, anti-HBe, HBV DNA 검사 등을 시행하였고 12개월 쯤 시행한 CBC, 간 기능 검사, HBe Ag, anti-HBe, HBV DNA 검사 등의 결과를 통하여 임상경과를 비교하였다. 라미부딘을 지속적으로 투여한 군은 다시 라미부딘 내성으로 진단 당시의 ALT 수치가 40 IU/L이상인 군과 40IU/L 미만인 군으로 나누어 각각을 비교하였다.

HBeAg과 anti-HBe 는 ELISA법 (COBA COTR II, Roche Co., Swiss)으로 측정하였고, HBV-DNA는 검출 한계가 5.0 pg/mL (1.4×10^6 copies/mL)인 hybrid법 (Hybrid capture system I, Digene, Gaithersburg, Maryland, USA)으로 정량적인 측정을 하여 HBV DNA가 음전되었다가 지속적으로 2회 이상 재 검출되는 경우를 바이러스 돌파현상으로 정의하였다.

2. 중합효소연쇄반응 (Polymerase chain reaction, PCR) 및 염기 서열 분석

QIAmp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN Inc., CA, USA)를 사용하여 환자 혈청으로부터 DNA를 분리한 후 TRUGENE HBV Genotyping Kit (BAYER HEALTH CARE, USA)를 사용하여 중합효소연쇄반응으로 증폭하였다. 염기 서열 분석을 위한 주형 DNA는 TRUGENE HBV Genotyping Kit 내에 있는 HBV PCR Primer-dNTP Mix 시발체를 이용하였고, 중합효소연쇄반응액 총량은 27 μ L이었다. 반응액은 HBV PCR Nuclease-free Water 9.0 μ L, HBV PCR Primer-dNTP Mix 4.4 μ L, HBV PCR Buffer 2.8 μ L, HBV DMSO 2.8 μ L, HBV Ammonium Sulfate 2.8 μ L, HBV PCR Enzyme 0.3 μ L 및 DNA template 5 μ L이었다. 중합효소반응은 GeneAmp PCR System 9700 (Applied-biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 94 ° C에서 3 분간 전변성 반응 후 94 ° C에서 30 초, 60 ° C에서 30 초, 72 ° C에서 1 분 15 초씩 35회 반응 시켰으며, 마지막으로 72 ° C에서 3분간 연장하였다. 중합효소연쇄반응의 산물은 2% agarose gel에 젤 온도 60 ° C, 전압 2,000 V, 레이저 동력 50 %, 샘플링 간격 0.5 초로 맞추어 70분간 시행하였으며, 약 290 bp의 PCR 산물을 확인하였다.

증폭된 산물은 CLIP™ Bi-directional Sequencing 검사 방법으로 Trugen Long read tower Analyzer (BAYER HEALTH CARE, USA)를 이용하여 염기 서열 분석 반응을 시행하였다. 반응액은 HBV CLIP Nuclease-free Water 12.3 μ L, HBV CLIP Buffer 5.8 μ L, HBV CLIP Enzyme 2.9 μ L, HBV A CLIP Mix 7 μ L, HBV C CLIP Mix 7 μ L, HBV G CLIP Mix 7 μ L, HBV T CLIP Mix 7 μ L, 및 HBV Stop Loading Dye 12 μ L를 포함하며 94 ° C에 3 분간 전 변성 반응 후 94 ° C에서 30 초, 50 ° C에서 30 초, 70 ° C에서 1분 30초씩 30회 반응시켰으며, 마지막으로 70도에서 3분간 연장시켰다. 반응이 끝난 후 PCR 산물은 정제하지 않은 채로 전기영동을 거쳐 Trugen Long read tower Analyzer (BAYER HEALTH CARE, USA)에 넣어 염기 서열을 분석하여 HBV의 유전자형과 돌연변이 발생 여부 및 위치를 확인하였다.

통계적 방법

윈도우용 SPSS 통계 분석 프로그램을 사용하여 각 군 간의 분석은 student's t-test 와 chi-square test를 이용하였

고, 모든 측정치는 평균 표준편차로 표시하고 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특징 (Table 1)

대상 환자 총 58명 중 남자는 42명, 여자는 16명이었고, 라미부딘 내성 발생 후 아데포비어로 투약한 환자는 24명, 라미부딘을 지속적으로 투약한 환자는 34명 이었다. 바이러스 돌파 현상 당시 아데포비어를 사용한 군과 라미부딘을 지속적으로 사용한 군 사이에 나이, 남 녀 성비, 혈청 HBV DNA치 및 총 빌리루빈 수치에 유의한 차이는 발견되지 않았으나, ALT (220.9 ± 267.9 IU/L vs 78.0 ± 130.7 IU/L, $P=0.022$)와 AST (206.4 ± 261.6 IU/L vs 69.7 ± 89.7 , $P=0.021$)는 아데포비어를 사용한 군에서 유의하게 높았고, 알부민 (3.8 ± 0.6 g/dL vs 4.2 ± 0.3 g/dL, P value=0.008)은 라미부딘을 지속적으로 사용한 군에서 유의하게 높았다 (표 1). 초음파 소견상 54명 중 50명 (92.6%)이 만성 간질환 소견을 보였고 간경화 및 복수 동반, 간암이 있는 환자가 나머지 4명을 차지하였으며, 유의한 차이점은 발견되지 않았다.

Table 1. Baseline Characteristics between Adefovir changed group and Lamivudine sustained group with Lamivudine Resistance

Characteristics	Adefovir changed group (n=24)	Lamivudine sustained group (n=34)	P-value
Age (yrs)	46.0 $\pm$ 9.5	46.4 $\pm$ 10.5	NS(0.87)
Sex (M/F)	17/7	25/9	NS(1.0)
serum ALT (IU/L)	220.9 $\pm$ 267.9	78.0 $\pm$ 130.7	0.022
serum AST (IU/L)	206.5 $\pm$ 261.7	69.7 $\pm$ 89.7	0.021
HBV DNA (pg/mL)	322.8 $\pm$ 468.8	174.7 $\pm$ 409.5	NS(0.207)
Albumin (g/dL)	3.8 $\pm$ 0.6	4.2 $\pm$ 0.3	0.008
Bilirubin (mg/dL)	1.9 $\pm$ 2.8	0.9 $\pm$ 0.3	NS(0.052)
USG 소견			NS(0.178)
DHCD (n)	20 (83.3%)	30 (88.2%)	
LC (n)	2 (8.3%)	3 (8.8%)	
Ascites (n)	1 (4.2%)	0	
HCC (n)	1 (4.2%)	1 (2.9%)	

ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase, DHCD; diffuse hepatocellular disease, LC; liver cirrhosis, HCC; hepatocellular carcinoma

2. 라미부딘 내성 당시의 ALT 수치에 따라 분류한 라미부딘 지속군의 특징 (Table 2)

라미부딘 지속 투여군을 다시 라미부딘 내성 발생 당시 ALT를 기준으로 ALT가 40 IU/L 이상인 환자(n=19

명)와 40 IU/L 미만인 환자(n=15명)로 구분하였으며, 두 군 사이에 혈청 ALT를 제외한 검사실 소견 및 임상적 특성의 유의한 차이는 없었다.

Table 2. Comparison of Clinical and Laboratory Parameters between ALT $\geq$ 40 group and ALT<40 group in Lamivudine sustained patients

Characteristics	Lamivudine sustained group		P-value
	ALT $\geq$ 40(n=19)	ALT<40 (n=15)	
Baseline			
Age (yrs)	45.6 $\pm$ 9.2	47.6 $\pm$ 12.3	NS(0.587)
Sex (M/F)	16/3	9/6	NS(0.139)
serum ALT (IU/L)	121.9 $\pm$ 163.4	22.4 $\pm$ 7.0	0.025
serum AST (IU/L)	94.1 $\pm$ 114.6	38.8 $\pm$ 15.9	NS(0.051)
HBV DNA (pg/mL)	150.2 $\pm$ 263.5	206.1 $\pm$ 551.5	NS(0.699)
Serum albumin (g/dL)	4.2 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	NS(0.831)
Serum bilirubin (mg/dL)	1.9 $\pm$ 2.8	0.8 $\pm$ 0.3	NS(0.3)

ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase

3. HBV DNA 중합 효소 내 역전사 효소 영역의 아미노산 변이 양상 (Table 3)

대상 환자 58예의 HBV 유전자형은 모두 C형이었으며, 내성 발생 후 혈청에서는 YMDD motif의 RT 부위 204번 아미노산 메티오닌(Methionine)이 아이소류신(Isoleucine)이나 발린(Valine)으로 치환된 예가 58예 중 모두에서 관찰되었다. RT 부위 204번 메티오닌이 아이소류신으로 치환된 rtM204I 변이가 37예(64%), 발린으로 치환된 rtM204V 변이가 21예(36%)였으며, 49예 (84%)에서 RT 부위 180번 아미노산 류신(Leucine)이 메티오닌으로 치환된 rtL180M 변이가 동반되어 관찰되었다. 이외에 rtV173L가 동반된 예가 2예, rtV207I 변이가 혼재한 예가 각 1예씩 관찰되었다. 아데포비어 대치군과 라미부딘 지

Table 3. The rate and pattern of mutation in YMDD motif of HBV polymerase gene between adefovir changing group with lamivudine sustained group (P>0.05)

YMDD mutation site	N(%)		Total N(%)
	Adefovir changed group (n=24)	Lamivudine sustained group (n=34)	
L180M/ M204I	10(41.6%)	16(47.1%)	26(44.8%)
L180M/ M204V	11(45.8%)	10(29.4%)	21(36.2%)
M204I	1(4.2%)	7(20.6%)	8(13.8%)
L180M/ M204I/V173L	0	1(2.9%)	1(1.7%)
L180M/ M204I/V207I	1(4.2%)	0	1(1.7%)
M204I/V173L	1(4.2%)	0	1(1.7%)
Total	24(100%)	34(100%)	58

L180M; Leucine $\rightarrow$ Methionine, M204I/V; Methionine $\rightarrow$ Isoleucine/Valine, V173L/I; Valine $\rightarrow$ Leucine/Isoleucine

속군 사이에 YMDD motif 변이형의 유의한 차이는 발견되지 않았다 (P>0.05).

4. 라미부딘 내성 발생 후 아데포비어 치료에 따른 생화학 적, 바이러스적 지표의 변화 (Table 4), (Fig. 1), (Fig. 2)

라미부딘 내성 발생 이후 아데포비어로 바꾸어 치료한 군과 라미부딘을 지속적으로 사용한 군의 치료 후 생화학 적, 바이러스적 수준을 치료 12개월째 비교하였다. 치료 12개월째 혈청 AST 및 총 빌리루빈 수치는 유의한 변화를 보이지 않았고, 혈청 ALT 평균값은 아데포비어를 사용한 군에서 라미부딘을 지속적으로 사용한 군에 비해 유의하게 낮았다(25.4 $\pm$ 11.0 IU/L vs 46.4 $\pm$ 37.7 IU/L, P<0.05). 혈청 HBV DNA 역가의 평균값은 아데포비어를 사용한 군에서 라미부딘을 지속 사용한 군에 비하여 유의하게 감소되었으며(0.06 $\pm$ 0.2 pg/mL vs 282.3 $\pm$ 479.8 pg/mL, P<0.05), 알부민은 아데포비어를 사용한 군에서 라미부딘 지속 사용군에 비해 유의하게 증가되었다(4.4 $\pm$ 0.4 g/dL vs 4.2 $\pm$ 0.3g/dL, P<0.05).

Table 4. Comparison with Clinical Parameters between adefovir changed group and Lamivudine sustained group at 12 months after Lamivudine resistance

	Adefovir changed group (n=24)	Lamivudine sustained group (n=34)	P-value
At 12 months			
serum ALT (IU/L)	25.4 $\pm$ 11.0	46.4 $\pm$ 37.7	0.004
serum AST (IU/L)	41.2 $\pm$ 39.8	53.9 $\pm$ 38.1	NS(0.251)
HBV DNA (pg/mL)	0.06 $\pm$ 0.2	282.3 $\pm$ 479.8	0.003
Serum albumin (g/dL)	4.4 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.3	0.505
Serum bilirubin (mg/dL)	1.0 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.3	NS

ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase

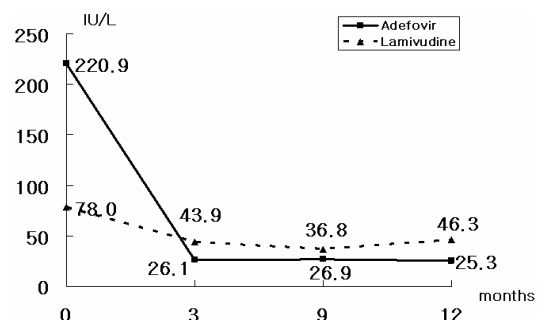


Fig. 1 Comparison of mean ALT between adefovir changed group and Lamivudine sustained group after viral breakthrough

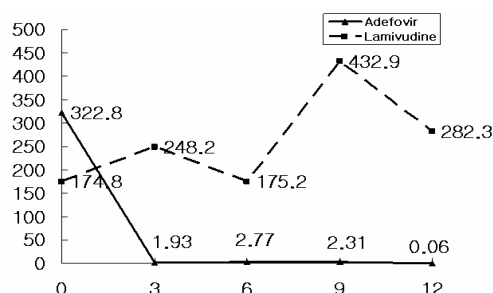


Fig. 2 Comparison of mean HBV DNA between adefovir changed group and Lamivudine sustained group after viral breakthrough

5. 라미부딘 내성 발생 당시 ALT의 수치에 따른 아데포비어 치료 효과의 비교 (Table 5)

라미부딘 내성 발생 후 아데포비어 치료 12개월째 혈청 ALT 평균값은 라미부딘을 지속적으로 복용한 군 중 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 이상인 군에 비하여 유의하게 호전을 보였으나(25.4 ± 11.0 IU/L vs 36.0 ± 25.0 IU/L, $P < 0.05$), 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 미만인 군과 비교 시 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 혈청 HBV DNA 역가의 평균값은 아데포비어를 사용한 군에서 라미부딘을 지속적으로 복용한 군 중 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 이상인 군과 비교 하였을 때도 유의하게 호전을 보였으나(0.06 ± 0.2 pg/mL vs 200.5 ± 377.8 pg/mL, $P < 0.05$) 그러나, 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 미만인 군과 비교 시 12개월째 혈청 HBV DNA 평균값의 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 치료 12개월째 알부민은 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 이상인 군과 비교 하였을 때도 아데포비어를 사용한 군이 유의하게 높게 유지 되었으나(4.4 ± 0.4 g/dL vs 4.2 ± 0.2 g/dL, $P < 0.05$), 라미부딘 내성 발생 당시 ALT가 40 IU/L 미만인 군과 비교 시 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

6. 아데포비어 투여로 인한 합병증 및 부작용

아데포비어 투여시 설사, 오심, 구토, 복통, 무력증, 신독성 및 저인산혈증 등과 같은 부작용이 관찰된 예는 없었다.

고 찰

라미부딘은 인터페론의 비경구적 투여 및 부작용의 측면을 보완한 만성 B형 간염의 치료에 흔히 사용되는 약물이나, 장기간 투여시 YMDD 변이에 의한 라미부딘 내성 바이러스의 출현은 라미부딘 치료의 큰 장애가 되고 있다.^{19, 20} 라미부딘 내성 바이러스의 출현율은 1년 후 16-32%, 2년 후 38%, 3년 후 53%, 4년 후 66%로 5년 후 69%까지 증가한다.¹⁶⁾

2004년 대한 간 학회에서 발표한 만성 B형간염 치료 가이드라인에서는 이러한 라미부딘 내성 발생 시 라미부딘 중단 후 경과 관찰, 라미부딘 계속 투여 및 아데포비어를 추가 혹은 대치할 수 있다고 규정하였으나 환자의 상태에 대한 의사의 평가에 따르는 것으로 명확한 기준이 제시되어 있지 않아 라미부딘 내성 발생 시 치료에 대해 논쟁의 여지가 남아 있다.

라미부딘 내성 변이종은 야생형에 비해 증식력이 낮아 변이 발생 후 혈청 ALT나 HBV DNA 농도가 낮은 경향을 보일 뿐만 아니라 조직학적 소견의 개선 및 HBeAg 혈청 전환이 일어나기도 하며 투여 중단 시 증식능이 강한 야생형이 재 활성화되면서 간염이 악화될 가능성이 있으므로 라미부딘의 계속적인 투여를 권장하고 있다.^{5, 8)} 그러나 바이러스 돌과 현상 후 라미부딘을 계속 투여함에도 불구하고 혈청 ALT가 라미부딘 치료 시작 전보다 증가하거나 급성 악화를 보이는 경우도 있었고, 라미부딘 중단 후 경과 관찰 도중 비대상성 간 부전으로 사망한 경우도 있어 라미부딘 내성 만성 B형 간염 환자에서 아데포비어의 구조 요법은 피할 수 없는 것으로 생각된

Table 5. Comparison with Clinical Parameters between adefovir changed group and Lamivudine sustained group (ALT ≥ 40 vs ALT < 40) at 12 months after Lamivudine resistance

	Adefovir changed group (n=24)	Lamivudine sustained group (n=34)		P-value	
		ALT ≥ 40 (n=19)	ALT < 40 (n=15)	ALT ≥ 40 (n=19)	ALT < 40 (n=15)
At 12 months					
serum ALT (IU/L)	25.4 ± 11.0	54.5 ± 44.3	36.0 ± 25.0	0.011	NS(0.076)
serum AST (IU/L)	41.2 ± 39.8	61.1 ± 45.0	44.8 ± 25.7	NS(0.154)	NS(0.762)
HBV DNA (pg/mL)	0.06 ± 0.2	344.8 ± 548.3	200.5 ± 377.8	0.020	NS(0.080)
Serum albumin (g/dL)	4.4 ± 0.4	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.2	0.040	NS(0.141)
Serum bilirubin (mg/dL)	1.0 ± 0.5	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	NS(0.307)	NS(0.219)

ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase

다.¹⁰⁻¹³⁾

본 연구에서는 아데포비어 사용군에서 라미부딘 지속 사용 군에 비해 라미부딘 내성 발생 당시의 혈청 ALT, AST가 유의하게 증가되어있고, 알부민 수치가 감소되어 있는 점으로 미루어 볼 때, 환자의 상태가 악화된 경우에는 라미부딘을 계속해서 사용하기 보다는 아데포비어로 대체하여 사용했음을 짐작할 수 있었다. 라미부딘 내성 발생 후 아데포비어로 대체하여 사용한 지 12개월째 HBV DNA 역가 및 ALT 평균값이 유의하게 감소하고 HBV DNA 역가 및 ALT 평균값이 라미부딘 지속 사용군에 비하여 유의하게 감소한 것으로 보아, 아데포비어 단독 투여로도 효과적으로 HBV DNA의 억제 및 간기능의 호전을 시키는데 효과적임을 알 수 있었고, 알부민 수치가 라미부딘 지속 사용군에 비해 높게 유지되는 것은 아데포비어가 간 기능의 보존적 측면에도 영향을 주는 것으로 생각된다. 대상성 간경변증 환자를 대상으로 한 연구에서 라미부딘 내성 발생 시, 변 등²¹⁾은 아데포비어 단독 요법을 시행한 경우 첫 12주에 혈청 ALT치의 상승이 동반될 가능성이 더 높으므로 2-3개월간 라미부딘과 병합 치료 하는 것을 권고하는 한편, Peters 등¹⁶⁾은 아데포비어 단독 요법과 아데포비어/라미부딘 병합 요법으로 12개월간 치료하였을 때 두 군 간의 HBV DNA 억제나 ALT치의 정상화율의 유의성이 없어 라미부딘을 병용하는 것은 의미가 없다고 하였다. 본 연구에서는 아데포비어 또는 라미부딘 단독으로 사용하여 병합요법의 효과는 판단할 수 없었다. 병합요법의 효과 및 병합기간의 대해서는 향후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

그렇다면 아데포비어는 현재 가격적인 면에서 라미부딘 보다 고가로 라미부딘 내성 발생 시 모든 환자를 아데포비어로 바꾸는 것이 현명한 것인가? 아니면 어떤 환자를 아데포비어로 바꿀 것인가? 라는 의문을 가질 수 있다.

본 연구에서는 라미부딘을 지속적으로 사용한 군을 다시 라미부딘 내성 당시 ALT 수치가 40 IU/L 이상인 환자군과 40 IU/L미만인 환자 군으로 나누어 각각 아데포비어를 사용한 군과 비교해 본 결과 라미부딘 내성 발생 당시 ALT 수치가 증가한 경우에는 라미부딘을 지속적으로 투여하기 보다는 아데포비어로 바꾸어 치료하는 것이 더 효과적이며, ALT가 40 IU/L 미만으로 안정화되어 있는 경우에는 아데포비어를 사용하는 것이 라미부딘을 지속 사용하는 것과 비교하여 큰 이점이 없음을 알 수 있었다. 또한 Marcellin 등²²⁾은 치료 전 혈청 ALT치가 아데포비

어 치료 효과에 미치는 영향에 대하여, 아데포비어를 하루 10mg씩 48주간 투여 시 HBe Ag의 혈청 전환은 치료 전 ALT가 정상 2배 이하인 군에서는 10%였던 반면 정상 5배 이상 상승되었던 군에서는 21%로 높았다고 보고 하였다. 본 연구에서는 아데포비어의 치료 효과를 HBV DNA 및 ALT치의 변화로 비교 하였으며, 치료 전 ALT치가 높을수록 아데포비어의 치료 효과가 높았던 것은 같은 맥락으로 이해해도 될 것으로 생각된다. 본 연구에서는 ALT치를 40 IU/L 기준으로 비교하였으나, 아데포비어의 효과를 극대화 시킬 수 있는 ALT의 적정한 값을 정하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다.

라미부딘 내성은 주로 HBV 역전사 효소의 YMDD motif 내 RT 부위 204번 아미노산 methionine이 isoleucine으로 치환되거나 (rtM204I, YIDD mutant) 혹은 valine으로 치환 (rtM204V, YVDD mutant) 되는 점 돌연변이에 의한 것으로 알려져 있다.^{7, 8, 23, 24)} 본 연구에서 사용된 TRUGENE HBV Genotyping은 HBs Ag의 중심 부위를 코드화 하는 101부터 237번째 아미노산 부위와 RT 부위의 99부터 280번째 아미노산 부위에 대한 염기 서열 분석법으로써 HBV 유전자형에 독립적인 시스템의 사용으로 유전자형에 상관없이 돌연변이의 위치를 정확하게 판단할 수 있는 장점이 있다. 예전에 A형에서 M552V/I, B/C/F에서 M550V/I, D형에서 M539V/I, E/G형에서 M549V/I의 돌연변이 위치를 RT M204V/I로 보고하였으며, rtL180M은 기존에 보고되었던 아미노산 528, 526, 515 또는 525번에 해당된다.^{25, 26)} 서양의 보고에서는 rtM204V (YVDD) 변이형이 90% 이상에서 관찰된다고 하였으나, 동양에서는 rtM204I (YIDD) 변이형이 약 60%로 더 호발하는 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 본 연구에서도 rtM204I (YIDD) 변이형이 64%로 가장 흔하였다. rtL180M 변이형은 대부분 YMDD motif 변이형과 동반된다는 보고와 같이²⁷⁾ 본 예에서도 9 예를 제외한 49 예에서 동반되어 있었다. rtL180M은 HBV 중합 효소의 B 영역의 변이로서 자체는 저항성이 크지 않으나, YMDD 영역의 돌연변이와 동반될 때 라미부딘에 대한 저항성을 증가시킨다고 알려져 있다.²⁸⁾

HBV 유전자형은 항 바이러스 제제의 투여에 대한 반응성 및 간 질환의 심각성 판단에 도움이 되며 A-G형으로 나눌 수 있는데, 지역에 따라 그 분포의 차이가 있어 아시아는 B와 C형이 흔한 것으로 알려져 있다.²⁹⁾ 우리나라 HBV 유전자형의 대부분은 C형으로 인터페론에 잘 반응하지 않고, B형보다 간 기능의 저하와 간염의 만성화

로의 진행 및 보다 이른 시기에 간암 이 발생할 확률이 높다고 한다.^{30, 31)} 본 연구에서는 HBV 유전자형이 모두 C형으로 국내 보고들과 일치하였다.

아데포비어의 부작용은 고용량을 장기간 투여시 신독성이 유발될 수 있으며, Fanconi 증후군에서처럼 저인산 혈증의 발생이 보고되고 있는데^{18, 32)} 본 연구에서는 부작용이 관찰되지 않았으나, 관찰 기간이 짧았으므로 아데포비어를 복용하는 기간 동안 정기적인 신 기능 검사가 필요 할 것으로 생각된다. 아데포비어의 장기간 사용 시 임상경과는 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 2년 사용에 약 1.7% 정도의 내성이 보고 되고 있다 (N236T 변이).³³⁾ 이는 라미부딘에 비해 현저히 낮은 내성율을 보이나, 내성 발생시의 대처 방법에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로, 만성 B형 간염 환자에서 장기간 라미부딘 치료 중 내성 발생은 HBV 역전사 효소의 YMDD motif 내 RT 부위 204번 아미노산 methionine이 isoleucine으로 치환되거나 (rtM204I, YIDD mutant) 혹은 valine으로 치환 (rtM204V, YVDD mutant) 되는 점돌연변이에 의한 것으로 치료 전략에 대해서는 많은 논란이 있으나, 본 연구에서는 아데포비어를 대치하여 사용한 군이 라미부딘을 지속한 환자들에 비해 간 기능 및 바이러스적 수준이 호전됨을 알 수 있었다. 지금까지의 연구들과 다른 점은 라미부딘 지속군을 라미부딘 내성 발생 당시의 ALT치에 따라 구분하여 비교함으로써, 라미부딘 내성 발생 시 ALT가 40 IU/L 이상으로 증가된 경우에는 라미부딘을 지속적으로 재투여 하기 보다는 조기에 아데포비어로 대치하여 치료하는 것이 더 효과적임을 알 수 있었다.

참고 문헌

- 1) 한남익, 이창돈, 최상욱, 정진우, 정규원, 설희식, 박두호, 김부성: B형 만성 활동성간염에 대한 천연형 interferon alpha의 안전성 및 효과. 대한소화기병학회지 21:358-368;1989
- 2) 박재용, 탁원영, 김성록, 김은영, 박규식, 최용환, 정준모: B형 간염 바이러스에 의한 만성 활동성 간염 환자에서 알파 인터페론의 치료효과. 대한소화기병학회지 22:310-316;1990
- 3) 최예원, 박승욱, 김규태, 조호준, 고순희, 김동규, 신희균: 만성 B형 간염환자에서 인터페론의 용량에 따른 치료효과. 대한내과학회지 41:37-42;1991
- 4) Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, Bartholomew MB, Vicary C, Rubin M: A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. N Engl J Med 333:1657-1661;1995
- 5) Lai CL, Chien RN, Leung NWY, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Wu PC, Dent JC, Barber J, Stephenson SL, Gray DF: A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. N Engl

- J Med 339:61-68;1998
- 6) Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Lim SG, Wu PC, Dent JC, Edmundson S, Condreay LD, Chien RN: On behalf of the Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. Hepatology. 33(6):1527-32;2001
- 7) Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, Condreay LD: Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. Hepatology. 27(6):1670-7;1998
- 8) Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, Kobayashi M, Tsubota A, Hashimoto M, Miyano Y, Koike H, Kobayashi M, Koida I, Arase Y, Saitoh S, Murashima N, Ikeda K, Kumada H: Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. Hepatology. 27(6):1711-6;1998
- 9) Chen CH, Lee CM, Lu SN, Wang JH, Tung HD, Hung CH, Chen WJ, Changchien CS: Comparison of clinical outcome between patients continuing and discontinuing lamivudine therapy after biochemical breakthrough of YMDD mutants. J Hepatol. 41(3):454-61;2004
- 10) Liaw YF, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Chien RN, Dent J, Roman L, Edmundson S, Lai CL: Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. Gastroenterology. 119(1):172-80;2000
- 11) Lau DT, Khokhar MF, Doo E, Ghany MG, Herion D, Park Y, Kleiner DE, Schmid P, Condreay LD, Gauthier J, Kuhns MC, Liang TJ, Hoofnagle JH: Long-term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine. Hepatology. 32(4 Pt 1):828-34;2000
- 12) 안수현, 장윤정, 오성남, 최도원, 백수정, 정원석, 최창원, 김경오, 임형준, 조남영, 박종재, 김재선, 박영태, 이명석, 연종은, 변관수, 이창홍: 만성 B형 간염에서 라미부딘 치료중 발생한 Viral Breakthrough 예의 임상 경과. 대한간학회지 8(4):389-396;2002
- 13) 박찬복, 임현정, 윤병철, 이상욱, 한병훈: B형 간염 바이러스에 의한 만성 간질환 환자에서 라미부딘 치료 도중 나타난 Viral Breakthrough의 임상적 의미. 대한간학회지 10(2):108-116;2004
- 14) Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, Statler A, Hirsch K, Wright T, Gutfreund K, Lamy P, Murray A: Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology. 32(1):129-34;2000
- 15) Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, Calvez V, Fievet MH, Vig P, Gibbs CS, Brosgart C, Fry J, Namini H, Katlama C, Poynard T: Safety and efficacy of adefovir dipivoxil in patients co-infected with HIV-1 and lamivudine-resistant hepatitis B virus: an open-label pilot study. Lancet. 358(9283):718-23;2001
- 16) Peters MG, Hann HW, Martin P, Heathcote EJ, Buggisch P, Rubin R, Bourliere M, Kowdley K, Trepo C, Gray DF, Sullivan M, Kleber K, Ebrahimi R, Xiong S, Brosgart CL:

- Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 126:91-101;2003
- 17) Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL: Adefovir Dipivoxil 438 Study Group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 27;348(9):800-7;2003
- 18) Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, Jeffers L, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL: Adefovir Dipivoxil 437 Study group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 27;348(9):808-16;2003
- 19) Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, Perrillo RP, Hann HW, Goodman Z, Crowther L, Condreay LD, Woessner M, Rubin M, Brown NA: Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med.* 21;341(17):1256-63;1999
- 20) Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, Farrell G, Sherman M, Willems B, Dhillon A, Moorat A, Barber J, Gray DF: Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut.* 46(4):562-8;2000
- 21) Byun KS, Lee KS, Cho M: Treatment of chronic hepatitis B The Korean Association for the Study of the Liver 2004. *Korean J Hepatol* 9:293A-303A; 2003
- 22) Marcellin P, Chang TT, Lim SG, M. Tong, W. Sievert, M. Shiffman, L. Jeffers, Z. Goodman, S. Chen, A. Jain, C. James, J. Fry, C. Brosgart: Baseline ALT predicts histologic and serologic response in patients with HBe Ag+ chronic hepatitis B treated with adefovir dipivoxil (ADV). *J Hepatol* 36(abstr):122A;2002
- 23) Yeh CT, Chien RN, Chu CM, Liaw YF: Clearance of the original hepatitis B virus YMDD-motif mutants with emergence of distinct lamivudine-resistant mutants during prolonged lamivudine therapy. *Hepatology.* 31(6):1318-26;2000
- 24) Gutfreund KS, Williams M, George R, Bain VG, Ma MM, Yoshida EM, Villeneuve JP, Fischer KP, Tyrrel DL: Genotypic succession of mutations of the hepatitis B virus polymerase associated with lamivudine resistance. *J Hepatol.* 33(3):469-75;2000
- 25) Roque-Afonso AM, Ferey MP, Mackiewicz V, Fki L, Dussaix E. *Antivir Ther*: Monitoring the emergence of hepatitis B virus polymerase gene variants during lamivudine therapy in human immunodeficiency virus coinfectd patients: performance of CLIP sequencing and line probe assay. 8(6):627-34;2003
- 26) 신정원, 박기현, 최태윤, 진소영, 김미영, 전병열, 박노진, 김연수, 김진, 김문정, 이상규, 이동화: 만성 B형 간염의 바이러스 유전자형과 라미부딘 내성 돌연변이 및 조직학적 연관성. 24(3):198-202;2004
- 27) 김선숙, 장문기, 주기탁, 박동균, 권오상, 구양서, 김유경, 최덕주, 황유진, 김주현: 만성 B형 간질환에서 라미부딘 내성의 임상적, 바이러스적 특징. *대한 간학회지* 4:405-407;2002
- 28) Ono SK, Kato N, Shiratori Y, Kato J, Goto T, Schinazi RF, Carrilho FJ, Omata M: The polymerase L528M mutation cooperates with nucleotide binding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. *J Clin Invest.* 107(4):449-55;2001
- 29) Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, Rossau R. A new genotype of hepatitis B virus: Complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol.* 81(Pt 1):67-74;2000
- 30) 조일현, 송정엽, 김택기, 임홍석, 신승수, 김원석, 이기명, 함기백, 김진홍, 조성원: 만성 B형 간염 환자에서 B형 간염 바이러스 유전자형의 빈도. *대한간학회지* 4: 381-6;2001
- 31) 이승환, 한성희, 조승철, 노병주, 손주현, 김택인, 이동후, 기춘석: 한국인 만성 B형 간염 바이러스 감염에서 B형 간염 바이러스 유전자형의 분포. *대한간학회지* 7: 373-80;2001
- 32) Kahn J, Lagakos S, Wulfsohn M, Cherng D, Miller M, Cherrington J, Hardy D, Beall G, Cooper R, Murphy R, Basgoz N, Ng E, Deeks S, Winslow D, Toole JJ, Coakley D: Efficacy and safety of adefovir dipivoxil with antiretroviral therapy: a randomized controlled trial. *JAMA.* 22-29;282(24):2305-12;1999
- 33) Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, Brosgart C, Colledge D, Edwards R, Ayres A, Bartholomeusz A, Locarnini S: Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology.* 125(2):292-7;2003