

HBeAg 양성 산모의 분만 직후 HBV-DNA 수치에 따른 주산기 예방조치의 결과

가톨릭대학교 의과대학 소아과학교실

정 온 · 김 증 현

The outcome of perinatal prophylaxis for HBeAg positive mothers according to the maternal HBV-DNA levels at the delivery time

On Jeong, M.D. and Jong-Hyun Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: Perinatal hepatitis B viral infection is decreasing; however, 10% of babies to HBeAg positive mothers still become chronic carriers despite perinatal prophylaxis. Although, the cause of prophylaxis failure is still unclear, an importance of maternal HBV-DNA level at the delivery time has been suggested. This study was established to certify if it would be a useful predictable factor for the outcome of perinatal prophylaxis.

Methods: Twenty-nine HBeAg positive mothers whose babies had known outcomes of prophylaxis were selected. To determine the amount of maternal HBV-DNA, a quantitative PCR was performed with the WHO International Standard for HBV DNA NAT assays.

Results: The mean logarithm HBV-DNA level of mothers with failed outcomes was significantly higher than that of mothers with successful outcomes (7.99 vs. 6.72, $P=0.015$). The predictable maternal HBV-DNA cut-off level to prophylaxis outcome was 2.83×10^7 copies/mL (100 pg/mL). None out of the case 16 (0%) who had below this level, and 5 out of 13 (38.5%) who had above this level of maternal HBV-DNA failed in perinatal prophylaxis.

Conclusion: Mothers with higher levels of HBV-DNA at delivery time would be prone to a worse outcome of prophylaxis using the conventional approach. Perinatal prophylaxis failure rate can be reduced, if we try to introduce more potent prophylactic treatment into the cases with this risk factor. (*Korean J Pediatr* 2007;50:348-354)

Key Words: Hepatitis B, Perinatal infection, Real time PCR, Maternal HBV-DNA, Prophylaxis failure

서 론

B형 간염 바이러스(hepatitis B virus, HBV)에 의한 감염은 급성 및 만성 감염 뿐 아니라 생명을 위협하는 전격성 감염, 간경변, 간세포암종 등을 유발한다¹⁾. 1983년 국내에서 처음 HBV 백신을 사용한 이래, 1991년에는 대한소아과학회 예방접종표에

처음 포함되었고, 현재 기본 백신으로 영아의 90% 이상²⁾이 접종받고 있어 과거에 비하여 소아 연령의 HBV 만성 감염자 빈도는 1% 미만으로 현저히 감소하였고³⁾, 10세 이상의 전 인구에서도 3.7%(남자 4.4%, 여자 3.0%)로 감소하였으나⁴⁾ 북미 및 유럽 국가들에 비하여 아직까지 높은 편이다.

감염 시기에 따라 만성화되는 비율이 달라서, 감염이 1세 미만에서 발생되면 90%, 1-5세이면 25-50%, 그 이후 연령에선 5-10%에서 만성화가 이루어지므로⁵⁾, 신생아 및 소아를 포함하여 대다수의 국민이 HBV 백신을 접종받은 현실점에서 국내의 새로운 만성 감염자는 주산기 감염의 예방조치에 실패한 경우에서 대부분 발생되고 있다. 이러한 주산기 예방조치 실패는 모두 HBeAg 양성 산모로부터 분만된 영아들의 10% 정도^{6, 7)}에서 일어나는데, 아직 확실한 기전은 밝혀지지 않았다.

그 동안의 연구에 의하면 일부는 이미 임신 중에 감염되어 분

접수: 2007년 2월 6일, 승인: 2007년 3월 14일

이 논문은 2005년 가톨릭중앙의료원 성의장학 학술연구비에 의하여 이루어졌음.

이 논문은 The 4th World Congress of the World Society of Pediatric Infectious Diseases(Warsaw, Poland, September 2005)에서 발표되었음.

책임저자: 김종현, 가톨릭대학교 성빈센트병원 소아과

Correspondence: Jong-Hyun Kim, M.D.

Tel: 031)249-8206 Fax: 031)257-9111

E-mail: jh00mn@catholic.ac.kr

만 후의 처치로 예방이 되지 않는 자궁 내 감염으로 설명되고⁸⁾, 또한 주산기 예방조치에 사용되는 백신이나 면역글로불린의 성분, 질, 용량, 횟수 및 투여시기와 방법의 차이 등의 외부 요인⁶⁾, 각 개인이 가진 조직적합 백혈구 항원(histocompatibility leukocyte antigen)^{1, 9)}과 시토카인 유전자¹⁰⁾ 등의 숙주요인, 표면항원 유전자 변이에 의한 감염¹¹⁻¹⁴⁾과 각 산모의 HBV-DNA 양적 차이¹⁵⁻²³⁾ 등의 바이러스 요인으로 설명되고 있다.

이 중 주산기 예방조치의 실패기전으로서 분만 당시 산모의 HBV-DNA 수치가 높을수록 실패율이 높다는 사실은 과거부터 제시되었으나, 실험방법의 한계 때문에 실제로 임상영역에서 사용될 수 있는 구체적 결과의 제시가 어려웠다¹⁵⁻¹⁷⁾. 그러나 최근 분자생물학적 검사방법의 발달로 HBV-DNA의 정량 분석이 한결 수월해졌음에도 불구하고 이에 관한 연구 숫자는 많지 않으며¹⁸⁻²³⁾ 더욱이 국내에는 아직까지 없는 실정이다. 각 나라마다 주산기 예방조치에 사용하는 면역글로불린의 양, 백신의 종류가 다르고, 인종적인 차이가 있기 때문에 예방조치의 결과를 예측할 수 있는 HBV-DNA의 기준치는 다를 것이며, 만약 주산기 감염이 만성 감염의 주 경로인 우리나라에 이러한 기준치가 확립된다면 이 수치 이상인 경우에 현재의 예방조치보다 더욱 강력한 처치를 적용할 수 있기에 보다 의미가 클 것이라 여겨진다.

따라서 HBeAg 양성 산모로부터 얻은 분만 직후 검체의 HBV-DNA를 정량 분석하고, 이를 주산기 예방조치의 성공 및 실패군으로 나누어 비교함으로써 예방조치의 결과를 예측할 수 있는 산모의 HBV-DNA 기준치를 알아보았다. 아울러 주산기 예방조치 실패 기전의 또 다른 바이러스 요인인 산모의 표면항원 유전자 변이 바이러스의 존재 여부도 확인함으로써 이것이 국내 예방조치의 결과와 어떠한 관련이 있는가도 동시에 확인하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1996년부터 2001년까지 가톨릭대학교 성빈센트병원에 입원하여 분만이 이루어진 HBeAg 양성 산모 중 분만 직후의 혈청이 -70℃ 냉동고에 보관되어 있으며, 그 영아를 HBV 백신과 면역글로불린으로 완벽한 주산기 예방조치를 실시한 후 생후 8-12개월에 B형 간염 표지자 검사를 통하여 예방조치의 결과가 확인된 29례를 대상으로 하였다.

예방조치로 사용되었던 백신 및 면역글로불린은 헤파신-비(3 µg 표면항원 단백질, CJ, 서울)와 헤파빅(100-125 IU 표면항체, 녹십자백신, 용인)이었다. 연구의 취지를 설명한 후 보호자에게 동의를 얻었으며, 가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구 기관심의위원회의 허가를 받았다.

2. 방법

1) B형 간염 표지자

효소면역 측정법으로 표면항원 및 항체(AUSZYME과 AUSAB; Abbott Laboratories, Tokyo, Japan), HBeAg, anti-HBe, anti-HBc IgG(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)를 검사하였으며 검사방법과 결과의 보정 및 판독은 제작사의 지침에 따라 시행하였다.

2) HBV-DNA의 추출 및 증합효소연쇄반응

보관된 혈청 50 µL에서 MasterPure DNA Purification Kit (Epicentre, Madison, WI, USA)을 이용하여 HBV-DNA를 추출하고 nested PCR을 시행하였다. 표면항원 유전자의 염기순서 179번과 728번에 위치하는 한 쌍의 시발체(sense: 5'-CTA GGA CCC CTG CTC GTG TT-3', anti-sense: 5'-CG AAA GGG GGT GAC AGA CCG-3')를 DNA 합성기(392 DNA synthesizer, Applied Biosystems Inc., Foster city, CA, USA)로 만들어 1차 PCR에 사용하였다. 혈청으로부터 추출한 DNA 2 µL와 0.2 mM deoxynucleotide triphosphates(dNTP) 1 µL, 50 pM의 두 가지 시발체 1 µL, Taq DNA polymerase (Boehringer Mannheim, GmbH, Germany) 1 µL, PCR 완충액(10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 2.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0.1% gelatin) 2 µL로 구성된 100 µL의 반응용액을 준비하였고, HBV-DNA를 1차로 증폭하기 위하여 thermocycler(GeneAmp PCR 9700, Perkin-Elmer Cetus Inc, Norwalk, CT, USA)를 사용하여 변성(denaturation)을 위해 95℃에서 1분 30초간, 불임(annealing)을 위해 47℃에서 45초간, 펌(extension)을 위해 72℃에서 2분간 작동시켜 549 base pair PCR 산물의 증폭을 목표로 45회 반복 시행하였다.

2차 PCR은 1차 PCR 종료 후의 반응산물 2 µL를 얻어 염기순서 237번과 706번에 위치하는 한 쌍의 시발체[sense: 5'-TAC C(AG)C AGA GTC TAG ACT CGT GGT GGA CTT-3', anti-sense: 5'-AAT GAT CAC GGT AAA CAA GTC ACC AAG C(GA)C-3']를 사용하여 모든 반응액과 증폭조건은 thermocycler에서 35회 반복 반응시키는 것 이외에는 1차 반응 때와 동일한 방법으로 시행하였다. 반응이 종료되면 3 µL씩을 취하여 겔 장진(gel loading) 완충액에 혼합하고 1 µg/mL ethidium bromide가 첨가된 2% 우무(agarose) 겔(FMC Bioproducts Co, Rockland, ME, USA) 상에서 70 volts, 20분간 전기영동을 시행하고 결과는 자외선 투사기(ultraviolet transilluminator) 상에서 확인하였다.

3) 핵산 염기순서분석(nucleic acid sequencing)

2차 PCR 산물을 정제한 후(QIAquickSpin PCR Purification Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) 자동 염기순서 분석기(ABI Model 3100, Applied Biosystems Inc.)를 통해 염기순서를 확인하였다. 염기순서 반응은 제작사의 지침에 따라 ABI PRISM dRhodmine Terminator Cycle Sequencing Ready

Reaction Kit(Applied Biosystems Inc.)을 사용하였고, 이 때 얻은 염기순서는 Sequence Navigator(Applied Biosystems Inc.)로 분석하였다. 염기 및 아미노산 순서의 변이 발생 여부를 확인하기 위한 야생종의 염기순서는 Genbank access number AF286594-c를 참고하였다.

4) HBV-DNA의 정량 분석

LightCycler-FastStart DNA Master SYBR Green I(Roche Applied Science, Mannheim, Germany) 키트, 2 μ L의 DNA 본틀(template), HBV 표면항원 유전자 중 염기순서 383-713 구간의 증폭을 위한 시발체 각각 1 μ L를 이용하여 제작사의 지침에 따라 그 혼합물을 LightCycler Capillary(Roche Applied Science)에 주입한 후 LightCycler 기계(Roche Applied Science)를 사용하여 각 산모의 HBV-DNA 양을 측정하였다.

HBV-DNA 양의 표준화는 WHO International Standard For Hepatitis B Virus DNA For Nucleic Acid Amplification Technology Assays를 이용하여 IU/mL(1 IU=HBV-DNA 5 개체)로 결과를 내어 최종적인 HBV-DNA의 양을 개체 수/mL로 보정하였다²⁴⁾.

본 연구에서는 실험을 통하여 HBV-DNA 양을 개체 수/mL로 얻었으나, 다른 연구의 결과와 비교하기 위하여 Kapke 등²⁵⁾이 제안한 '1 pg/mL=2.83 \times 10⁵ 개체 수/mL'의 식을 이용하여 HBV-DNA 양을 pg/mL로도 표시하였다.

5) 통계

통계분석은 Microsoft[®] Office Excel 2003 프로그램을 사용하였다. 성공군과 실패군 산모의 HBV-DNA 수치의 중간값, 평균, 최소 및 최대치를 구하였으며, 두 군간의 HBV-DNA 수치의 비교는 실수치를 로그(Log) 수치로 전환하여 unpaired t-test로 검정하였고 유의수준은 0.05로 정하였다.

결 과

1. 산모의 HBV-DNA 유전자형 및 표면항원 유전자 변이 양상

연구군 29명 산모에서 검출된 바이러스의 유전형은 모두 C형이었다. 성공군 24명 산모 중 19명은 야생종 바이러스, 5명(20.8%)은 표면항원 유전자 변이 바이러스가 검출되었다. 검출된 변이종은 L95W, Y100C, S114T, I126N, I126S로 'a' 결정기에 변이가 있는 경우는 2명(8.3%)이었다. 반면에 실패군 5명의 산모에서는 변이종이 발견되지 않고 모두 야생종 바이러스만이 검출되었다(Table 1).

2. 주산기 예방조치 성공 및 실패군 산모의 HBV-DNA 양 차이

각 산모의 HBV-DNA 수치(개체/mL) 분포는 10³ 이상 10⁴ 미만인 2명, 10⁴ 이상 10⁵ 미만인 1명, 10⁵ 이상 10⁶ 미만인 2명,

10⁶ 이상 10⁷ 미만인 8명, 10⁷ 이상 10⁸ 미만인 14명, 10⁸ 이상 10⁹ 미만인 2명으로 10⁷ 이상 10⁸ 미만인 경우가 가장 많았다.

이 중 성공군 24명 산모의 HBV-DNA 중간치와 평균치는 각각 8.52 \times 10⁶, 2.44 \times 10⁷ 개체/mL(9.74 \times 10⁷-4.93 \times 10³), 실패군 5명은 각각 4.88 \times 10⁷, 9.01 \times 10⁷ 개체/mL(5.46 \times 10⁸-3.59 \times 10⁷)이었다(Table 1, Fig. 1).

위의 결과를 pg/mL로 나타내면 성공군의 HBV-DNA 중간치와 평균치는 각각 30.11, 86.23 pg/mL(344.16-0.02), 실패군은 각각 172.44, 636.82 pg/mL(1929.32-126.86)이었다(Table 1, Fig. 2). 두 군의 산모 DNA 수치를 로그 수치로 전환하여 비교한 결과 실패군 산모의 DNA 수치가 통계학적으로 유의하게 높았다(7.99 vs. 6.72, P=0.015).

Table 1. The Status of HBV-DNA Levels and Surface Gene Variants in the HBsAg-positive

Case number	Maternal HBV-DNA level		Surface gene variants* (amino acid)
	copies/mL	pg/mL	
Succeeded group (n=24)			
B022M	5.19 \times 10 ⁷	183.39	wt
B023M	9.84 \times 10 ⁶	34.77	wt
B031M	7.56 \times 10 ³	0.03	wt
B034M	9.74 \times 10 ⁷	344.16	wt
B046M	4.61 \times 10 ⁶	16.29	wt
B049M	4.99 \times 10 ⁵	1.76	wt
B050M	1.31 \times 10 ⁷	46.29	wt
B053M	6.23 \times 10 ⁴	0.22	wt
B058M	5.31 \times 10 ⁶	18.76	L95W
B065M	5.82 \times 10 ⁷	205.65	wt
B072M	4.87 \times 10 ⁶	17.21	wt
B075M	4.33 \times 10 ⁷	153.00	wt
B088M	2.97 \times 10 ⁶	10.49	wt
B095M	3.92 \times 10 ⁶	13.85	Y100C
B097M	6.35 \times 10 ⁷	224.38	wt
B099M	7.20 \times 10 ⁶	25.44	wt
B122M	2.71 \times 10 ⁷	95.76	wt
B141M	1.72 \times 10 ⁷	60.78	wt
B153M	4.09 \times 10 ⁵	1.45	I126N
B167M	5.44 \times 10 ⁷	192.23	wt
B180M	4.94 \times 10 ⁶	17.46	I126S
B183M	6.37 \times 10 ⁷	225.09	wt
B194M	5.12 \times 10 ⁷	180.92	S114T
B200M	4.93 \times 10 ³	0.02	wt
Failed group (n=5)			
B063M	3.84 \times 10 ⁷	135.69	wt
B077M	3.59 \times 10 ⁷	126.86	wt
B119M	5.46 \times 10 ⁸	1929.32	wt
B182M	2.32 \times 10 ⁸	819.79	wt
B196M	4.88 \times 10 ⁷	172.44	wt

*L95W represents a leucine (L) was switched into a tryptophan (W) at the amino acid No. 95 position. Abbreviations: C, cysteine; I, isoleucine; N, asparagine; S, serine; T, threonine; wt, wild type; Y, tyrosine

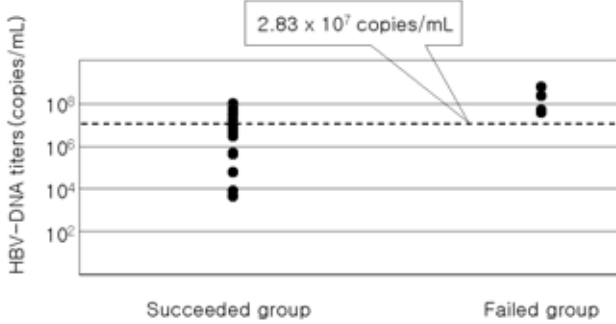


Fig. 1. Maternal HBV-DNA levels expressed by copies/mL in 24 succeeded outcome compared with 5 failed outcome of perinatal prophylaxis. The mean logarithm HBV-DNA level of mothers with failed outcome was significantly higher than that of mothers with succeeded outcome (7.99 vs. 6.72, $P=0.015$). The predictable maternal HBV-DNA cut-off level to prophylaxis outcome was 2.83×10^7 copies/mL (100 pg/mL).

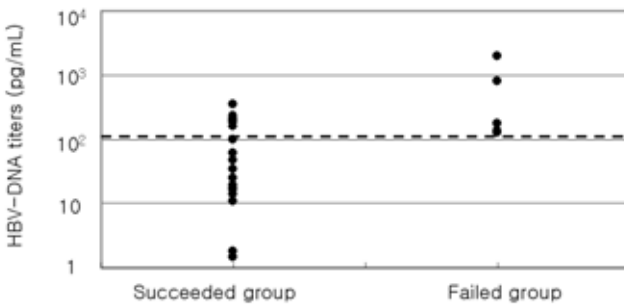


Fig. 2. Maternal HBV-DNA levels expressed by pg/mL in 24 succeeded outcome compared with 5 failed outcome of perinatal prophylaxis. The predictable maternal HBV-DNA cut-off level to prophylaxis outcome was 100 pg/mL (2.83×10^7 copies/mL).

3. 주산기 예방조치 결과를 예측할 수 있는 산모의 HBV-DNA 수치

예방조치에 실패한 산모 중 가장 낮은 HBV-DNA 수치가 3.59×10^7 개체/mL (126.86 pg/mL)이고, 이 수치보다 적으면서 가장 가까운 성공군 산모의 HBV-DNA 수치는 2.71×10^7 개체/mL (95.76 pg/mL)이었다. 따라서 예방조치 결과를 예측할 수 있는 산모의 HBV-DNA 기준치를 2.83×10^7 개체/mL (100 pg/mL)로 정했을 때, 이 수치 미만인 16명의 경우는 예방조치에 모두 성공(100%)하였고, 이 수치 이상인 경우는 13명 중 8명(61.5%)만이 성공하였고, 5명(38.5%)은 실패하였다(Fig. 1).

고 찰

감염이 발생하면 약 90%에서 만성화가 이루어지는⁵⁾ 주산기 HBV 감염의 중요성은 우리나라와 같이 HBeAg의 양성률이 높은 지역에서 더욱 강조된다. Hwang 등²⁶⁾에 의하면 우리나라 소

아 만성 HBV 감염자의 83.3%가 만성 HBV 감염의 가족력이 있고, 이 중 88%는 주산기 감염과 밀접한 관련이 있는 만성 감염이 있는 어머니를 가지고 있었다.

2002년 7월부터 실시되고 있는 정부 주관의 'B형간염수직감염예방사업' 이전부터 주산기 예방조치가 일반화되었기에 주산기 감염의 숫자는 매우 감소하였다. 예방조치가 없었던 시기에는 HBeAg 양성 산모 신생아의 65-93%에서 보유자로 이행되었던 반면에²⁷⁾, 예방조치를 실시하면 HBeAg 음성 산모의 신생아는 대부분 예방이 가능하나, HBeAg 양성 산모의 신생아는 백신 단독으로는 25%²⁸⁾, 백신과 HBV 면역글로불린을 모두 사용하여도 10% 정도는 감염을 예방할 수 없다⁷⁾. 2005년 우리나라 산모 연령의 HBV 만성 감염자 비율이 약 3%⁴⁾이고 HBeAg 양성률은 30-40%^{7, 29)}로, 이 중 약 10%가 예방조치에 실패하기에 1년간의 신생아 분만을 40만 명으로 가정한다면 영아기에 발생하는 만성 감염자의 숫자는 매 해 360-480명 정도로 추산된다. 이와 같이 같은 조건의 처치에도 불구하고 예방조치의 실패가 초래되는 여러 가능성 중에 바이러스 요인으로 분만 시 산모의 HBV-DNA 양이 많을수록 실패율이 증가한다는 것¹⁵⁻²³⁾과 표면항원 유전자 변이종의 존재¹¹⁻¹⁴⁾가 중요한 실패기전으로 설명되고 있다.

표면항원 유전자 변이 바이러스는 표면항체와 결합하는 주항원성 부위의 구조적 변화가 생겨 항체와의 결합력이 떨어질 수 있으므로, 현재 사용하고 있는 면역글로불린이나 백신으로 형성된 항체의 중화효과가 감소될 수 있는데, 특히 표면항원 유전자 'a' 결정기 내의 아미노산 145번 위치에서 glycine이 arginine으로 대체된 G145R 변이종이 가장 문제가 된다³⁰⁾. 주산기 감염에 있어 표면항원 유전자 변이 바이러스의 역할은 두 가지 기전으로 설명되는데, 하나는 예방조치 제제의 면역 압력에 의해서 새로이 생성된다는 것¹²⁾과, 또 하나는 이미 산모에 존재하였던 변이 바이러스가 그 신생아에게 전달되고 이것이 주산기 예방조치에 중화되지 않고 증식되어 감염이 이루어진다는 것이다¹³⁾. 최근에는 전자보다는 후자의 설명이 더욱 설득력을 얻고 있다.

이번 연구는 위에서 언급한 표면항원 유전자 변이의 역할에 대한 후자의 설명을 증명하기 위하여 분만 직후의 산모의 검체로 변이 바이러스의 존재를 검사하였다. 검사 결과 예방조치 성공군 산모는 표면항원 유전자 변이율이 20.8%인 것에 비해, 오히려 실패군 산모의 변이율은 0%로 모두 야생종 바이러스를 가지고 있었다. 이는 외국에서 예방조치 실패군의 산모와 소아에서 G145R을 포함한 높은 비율의 변이종이 검출된 것^{11, 13)}과는 크게 다른 결과이다. 국내의 주산기 예방조치 실패 소아의 표면항원 유전자 변이율은 6.5%¹⁴⁾로 싱가포르¹¹⁾, 대만¹²⁾, 미국¹³⁾의 39-25.5%에 비하여 매우 낮았고, 싱가포르¹¹⁾와 미국¹³⁾에서 높은 비율로 검출된 G145R 변이가 한 예에서도 검출되지 않았기에 국내에서는 표면항원 유전자 변이가 예방조치의 실패 기전으로써 중요한 역할을 하지 않는다는 Kim 등¹⁴⁾의 주장을 확인하는 증거가 될 수 있다. 또한 산모가 표면항원 유전자 변이종에 의해

감염되었음에도 불구하고 예방조치에 모두 성공한 결과는 산모로부터 그 신생아에게 변이종이 전달되었더라도 G145R 변이종과는 달리 현재의 주산기 예방조치인 백신과 면역글로불린에 의해 중화가 된 결과이고, 실패군 산모는 오히려 변이종이 검출되지 않고 야생종만 가지고 있는 것으로 미루어 표면항원 유전자의 변이가 아닌 다른 원인에 의하여 예방조치가 실패된 것으로 여겨지는데 이 같은 유사한 결과를 Nainan 등³¹⁾도 제시하였다.

위에서 언급한대로 우리나라는 외국에 비하여 표면항원 유전자 변이가 주산기 예방조치 실패 기전에 중요한 역할을 하지 않으므로 산모의 HBV-DNA 양이 많을수록 실패율이 증가한다는 관점이 보다 강조된다. 과거부터 여러 연구¹⁵⁻²³⁾가 있었으나 현재 가장 많이 인용되고 있는 것은 del Canho 등¹⁸⁾에 의한 것으로 보유자 산모의 DNA 양이 150 pg/mL 미만인 48명은 예방조치에 모두 성공하였으나, 이 수치 이상이었던 24명은 14명(68%)만이 성공하고 7명(32%)은 실패하였기에 150 pg/mL를 기준으로 정하고 이 수치 이상인 경우는 기존보다 더욱 강력한 예방조치법의 실시를 제안하였다.

본 연구에서 나타난 보유자 산모의 HBV-DNA 수치는 같은 HBeAg 양성이라도 4.93×10^3 개체/mL부터 5.46×10^8 개체/mL로 매우 넓은 분포를 보였고, 예방조치 성공 및 실패군 산모의 DNA 수치는 통계적으로 차이가 있어서 실패군에서 의미 있게 높았다. 이는 분만 시 산모의 DNA 양이 많을수록 주산기 예방조치의 실패율이 증가한다는 사실¹⁸⁻²³⁾을 우리나라에서는 처음으로 입증한 의미 있는 결과이다. 또한 주산기 예방조치 결과를 예측할 수 있는 국내 산모의 HBV-DNA 수치를 2.83×10^7 개체/mL(100 pg/mL)로 정할 수 있었는데, 이 수치 미만인 16명의 경우는 예방조치에 모두 성공(100%)하였고, 이 수치 이상인 경우는 13명 중 8명(61.5%)만이 성공하고, 5명(38.5%)이 실패한 사실을 근거로 하였다. 일반적으로 인용되고 있는 del Canho 등¹⁸⁾이 제시한 기준치인 150 pg/mL보다는 낮으나 이러한 차이는 주산기 예방조치에 사용되었던 면역글로불린의 양, 종류, 투여시기 및 백신의 종류, 인종적 차이와도 관련이 있을 것이라 추측된다. 실제로 본 연구는 국내에서 생산된 면역글로불린(100-125 IU, 생후 12시간 이내)과 백신을 투여하였으나 del Canho 등¹⁸⁾은 본 연구와는 다른 면역글로불린(네델란드 생산, 200-300 IU, 생후 2시간 이내)과 백신 및 다양한 스케줄을 사용한 차이가 있다.

현재 주산기 예방조치의 실패 예측인자로서 실지 임상에서 사용하고 있는 것은 산모의 HBeAg 상태로, 이것이 양성인 산모의 영아들 중 약 10%^{6, 7)}가 예방조치에 실패할 수 있다는 사실만 인지하고 일률적으로 같은 예방조치를 실시하고 있다. 하지만 본 연구에서 제시한 HBV-DNA 100 pg/mL를 기준으로 이 수치 이상의 DNA를 가지는 산모들의 예방조치 실패율은 38.5%로 증가한다. 따라서 이에 해당되는 경우를 특별히 고위험군으로 분류하여 현재 사용하고 있는 예방조치보다 더욱 강력한 방법을 사용한다면 실패율을 줄일 수도 있을 것이다. 아직까지 확실한

효과가 정립된 것은 없지만 이론적으로 사용할 수 있는 강력한 예방조치법이란 면역글로불린의 양이나 횟수 증가²⁹⁾, pre-S 부위 포함 백신³²⁾, 임신 중 항바이러스제 투여²²⁾ 등이다. 이 중 지도부딘을 이용한 HIV 주산기 감염의 예방법³³⁾과 같은 이론으로 라미부딘을 임신 3기의 산모에게 투여함으로써 분만 시 산모의 DNA를 줄이려는 방법이 최근에 시도되고 있는데 HBV-DNA 양이 150 pg/mL 이상인 산모 33명 중 8명에게 임신 34주부터 매일 150 mg씩 분만 시까지 투여한 결과 8명 중 1명(12.5%)이 주산기 예방조치에 실패하였으나, 라미부딘을 투여하지 않은 25명 중에서는 7명(28%)이 예방조치에 실패하여 두 군간에 차이를 보여주었다²²⁾. 만약 같은 결과가 더 많은 숫자의 대상을 통하여 확인된다면 다른 방법보다 임상 영역에서 실지로 적용될 가능성이 가장 높으며 이는 주산기 예방조치의 실패율 감소를 의미하므로 HBV 만성 감염자의 숫자는 지금보다 더욱 줄어 들 수 있다.

비록 연구군의 숫자가 많지는 않았으나 표면항원 유전자 변이는 우리나라의 주산기 예방조치 실패 기전에 중요한 역할을 하지 않는다는 사실과 예방조치의 결과를 예측할 수 있는 국내 산모의 HBV-DNA 수치를 처음으로 제시했다는 점에서 본 연구는 큰 의미를 갖는다고 생각한다. 추후 구체적이고 광범위한 연구를 통하여 이러한 결론들이 B형 간염 주산기 예방 정책에 실지 반영되기를 기대한다.

요 약

목적 : B형 간염 바이러스 주산기 감염은 현재 감소하고 있지만 HBeAg 양성 산모로부터 분만된 신생아의 10%는 예방조치에도 불구하고 보유자가 된다. 비록 예방조치 실패의 원인이 아직 불확실하나 산모의 분만시 HBV-DNA 수치의 중요성이 제시되고 있다. 본 연구는 산모의 분만시 HBV-DNA 수치가 주산기 예방조치 결과의 유용한 예측인자임을 확인하기 위하여 시행하였다.

방법 : 주산기 예방조치의 결과를 이미 알고 있는 29명의 HBeAg 양성 산모를 선정하였다. 산모의 HBV-DNA 양을 측정하기 위하여 WHO International Standard For Hepatitis B Virus DNA For NAT Assay를 이용한 정량적 PCR을 시행하였다.

결과 : 주산기 예방조치 실패군 산모의 로그 HBV-DNA 수치가 성공군 산모의 수치보다 유의하게 높았다(7.99 vs. 6.72, $P=0.015$). 주산기 예방조치 결과를 예측할 수 있는 산모의 HBV-DNA 수치의 기준은 2.83×10^7 개체/mL(100 pg/mL)로 정할 수 있었는데, 산모의 HBV-DNA 수치가 기준치 미만인 16명 중 예방조치에 실패한 경우는 없었으며(0%), 기준치 이상인 경우는 13명 중 5명(38.5%)이 실패하였다.

결론 : 현재의 예방조치법으로는 분만시 높은 HBV-DNA 수치를 가지는 산모의 주산기 예방조치 결과는 좋지 않을 가능성

이 높다. 따라서 주산기 예방조치의 실패율을 낮추기 위해서는 이러한 위험요인이 있는 경우에 보다 강력한 방법을 적용시켜야 하겠다.

References

- 1) Moradpour D, Wands JR. Understanding hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995;332:1092-3.
- 2) Choung JM, Kim JC, Eun SH, Hwang PH, Nyhambat B, Kilgore P, et al. Study on vaccination state in children: Jeonbuk Province, 2000. *J Korean Pediatr Soc* 2002;45:1234-40.
- 3) Chang JY, Cheong SJ, Kim SK, Son BK, Hong YJ, Hong KS. Positive rate of HBsAg in school children in Incheon area. *Korean J Pediatr Infect Dis* 2003;10:153-8.
- 4) The Office for Health and Medical Care Policy in The Ministry of Health & Welfare, Division of Chronic Disease Surveillance in Korea Centers for Disease Control and Prevention. 2005 National Health and Nutrition Survey in Korea: Medical Examination Survey. Kwacheon: The Ministry of Health & Welfare, 2006:204-9.
- 5) McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of carrier state. *J Infect Dis* 1985;151:599-603.
- 6) Andre FE, Zuckerman AJ. Review: protective efficacy of hepatitis B vaccines in neonates. *J Med Virol* 1994;44:144-51.
- 7) Kim JH, Kang JH, Oh CK. Immune responses and efficacy of hepatitis B vaccine in neonates born from hepatitis B carrier mothers: focus on HBV-DNA. *J Korean Pediatr Soc* 1998;41:1498-508.
- 8) 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.
- 9) Kim JH, Pyo CW, Koh DK, Hur JK, Kang JH, Kim TG. Alteration of the influences of HLA classes I and II alleles on the perinatal hepatitis B virus infection after immunoprophylaxis in Korean children. *Hepatol Res* 2006;35:118-26.
- 10) Kim JH, Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Kim TG. Influences of IL-1B, IL-1RN, TNFA, and TNFB alleles on chronic HBV infection and perinatal infections of hepatitis B virus after immunoprophylaxis. *Human Immunol* 2003;64 Suppl 10:143.
- 11) Oon CJ, Lim GK, Ye Z, Goh KT, Tan KL, Yo SL, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus vaccine variants in Singapore. *Vaccine* 1995;13:699-702.
- 12) Hsu HY, Chang MH, Liaw SH, Ni YH, Chen HL. Changes of hepatitis B surface antigen variants in carrier children before and after universal vaccination in Taiwan. *Hepatology* 1999;30:1312-7.
- 13) Nainan OV, Khristova ML, Byun K, Xia G, Taylor PE, Stevens CE, et al. Genetic variation of hepatitis B surface antigen coding region among infants with chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2002;68:319-27.
- 14) Kim JH, Koh DK, Hur JK, Kang JH, Nainan OV, Margolis HS. The incidence rate of hepatitis B virus surface gene variants in Korean children with immunoprophylaxis failure of perinatal infection. *Korean J Hepatol* 2005;11:320-8.
- 15) Ip HMH, Lelie PN, Wong VCW, Kuhns MC, Reesink HW. Prevention of hepatitis B virus carrier state in infants according to maternal serum levels of HBV DNA. *Lancet* 1989;i:406-9.
- 16) Wheeley SM, Jackson PT, Boxall EH, Tarlow MJ, Gatrad AR, Anderson J, et al. Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus(HBV): a comparison of two prophylactic schedules. *J Med Virol* 2001;35:212-5.
- 17) Lin HH, Chang MH, Chen DS, Sung JL, Hong KH, Young YC, et al. Early predictor of the efficacy of immunoprophylaxis against perinatal hepatitis B transmission: analysis of prophylaxis failure. *Vaccine* 1991;9:457-60.
- 18) del Canho R, Grosheide PM, Mazel JA, Heijntink RA, Hop WCJ, Gerards LJ, et al. Ten-year neonatal hepatitis B vaccination program, The Netherlands, 1982-1992: protective efficacy and long-term immunogenicity. *Vaccine* 1997;15:1624-30.
- 19) Ngui SL, Andrews NJ, Underhill GS, Heptonstall J, Teo CG. Failed postnatal immunoprophylaxis for hepatitis B: characteristics of maternal hepatitis B virus as a risk. *Clin Infect Dis* 1998;27:100-6.
- 20) Zhang SL, Han XB, Yue YF. Relationship between HBV viremia level of pregnant women and intrauterine infection: nested PCR for detection of HBV DNA. *World J Gastroenterol* 1998;4:61-4.
- 21) Wang Z, Zhang J, Yang H, Li X, Wen S, Guo Y, et al. Quantitative analysis of HBV DNA level and HBeAg titer in hepatitis B surface antigen positive mothers and their babies: HBeAg passage through the placenta and the rate of decay in babies. *J Med Virol* 2003;71:360-6.
- 22) van Zonneveld M, van Nunen AB, Niesters HGM, de Man RA, Schalm SW, Janssen HLA. Lamivudine treatment during pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2003;10:294-7.
- 23) Soderstrom A, Norkrans G, Lindh M. Hepatitis B virus DNA during pregnancy and postpartum: aspects on vertical transmission. *Scand J Infect Dis* 2003;35:814-9.
- 24) Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, Dawson P, Heermann K, Heath A, et al. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2001;80:63-71.
- 25) Kapke GF, Watson S, Sheffler S, Hunt D, Frederick C. Comparison of the Chiron Quantiplex branched DNA (bDNA) assay and the Abbott Genostics solution hybridization assay for quantification of hepatitis B viral DNA. *J Viral Hepat* 1997;4:67-75.
- 26) Hwang SH, Kim JH, Kang JH, Hur JK, Lee KY, Lee SH, et al. Follow-up of children with chronic hepatitis B virus infection. *Korean J Pediatr Infect Dis* 2004;11:73-80.
- 27) Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Eng J Med* 1975;292:771-4.
- 28) Marion SA, Pastore MT, Pi DW, Mathias RG. Long-term

- follow-up of hepatitis B vaccine in infants of carrier mothers. *Am J Epidemiol* 1994;140:734-46.
- 29) Kim JH, Seo K, Kim HM. A comparative study for the outcome of perinatal hepatitis B prophylaxis according to the dosages of hepatitis B immunoglobulin. Seoul : Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2006.
- 30) Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1997;4 Suppl 1:11-20.
- 31) Nainan OV, Khristova ML, Byun KS, Xia GL, Taylor PE, Stevens CE, et al. Frequency and significance of hepatitis B virus antibody resistant mutants. *Antiviral Ther* 2000;5 Suppl 1:30.
- 32) Rendi-Wagner P, Shouval D, Genton B, Lurie Y, Rumke H, Boland G, et al. Comparative immunogenicity of a PreS/S hepatitis B vaccine in non- and low responders to conventional vaccine. *Vaccine* 2006;24:2781-9.
- 33) Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331:1173-80.