

## 간조직내 B형 간염표지자의 검색

계명대학교 의과대학 병리학교실

김상표 · 김찬환 · 이상숙 · 정재홍

### 서 론

B형 간염바이러스(이하 HBV라 함)이 감염되면 다양한 간의 상해를 초래하는 데 이는 조직병리학적 특성에 의하여 급성 소엽성 간염, 만성활동성간염, 만성지속성 간염, 간경변증과 간암등으로 크게 구분된다<sup>1)</sup>. HBV가 어떻게 간세포들을 침범하여 상해를 초래하는지, 그리고 어떻게 선택된 간세포내에서 HBV가 계속하여 존재하고, 또한 면역감시(surveillance)를 피할 수 있는지 여전히 알려지고 있지 않다.

최근 단일클론성(monoclonal) 항체들의 개발과 in situ hybridization 등의 기술적 진보가 이루어져 인체간 질환의 연구에 적용하게 되었다<sup>2)</sup>. HBV항원의 간조직내 존재여부를 알기 위해 orcein염색법<sup>3)</sup> 등 조직화학적 방법과 면역조직학적 연구와 더불어 미세형태학적 연구가 이루어져 왔다. 최근 면역조직화학적 기법이 더욱 발달하여 formalin으로 고정된 간조직의 paraffin 절편에서도 적용이 가능하게 되어 보관된 간조직블록을 이용한 HBV의 후향성 연구가 비로소 가능하게 되었다<sup>4,5)</sup>. 또한 간세포내에 HBV의 출현과 조직병리학적 소견, 환자의 면역상태와의 상호연구에서 간조직내 HBV의 표면항원(이하 HBsAg이라 함) 및 핵심항원(이하 HBcAg이라 함)의 출현의 질적, 양적 양상이 간질환의 진단과 예후를 아는데 한 지침이 될 수 있다고 제시되었다<sup>6)</sup>. 또한 HBV 표지자중 HBsAg은 완전한 바이러스의 증식이 없어도 간세포내에서 생성이 가능함이 알려졌다.

최근 HBV의 증식상태를 가장 잘 반영하는 것은 HBV DNA로서 이는 간세포의 HBcAg 및 혈청 DNA polymerase, HBeAg, anti-HBc등과 밀접한 상관관계

가 있음이 밝혀졌다. 그러나 일부보고에 의하면 이와 같은 표지자가 없어도 조직학적으로 더욱더 심한 반응을 보여 이러한 HBV 표지자들의 존재와 HBV증식과의 관련성이 논란의 대상이 되고 있다<sup>7)</sup>.

저자들은 1985년부터 1987년까지 계명대학교의과대학 동산병원에서 채취된 일련의 간생검조직중 HBsAg seropositive인 112예를 대상으로 HBsAg과 HBcAg의 항체(DAKO PAP Kit)를 사용한 immunoperoxidase 방법으로 간조직내 HBsAg과 HBcAg을 발현시켜 그 발현도와 간질환의 유형 및 혈청내 HBV항원, 특히 HBeAg과 anti-HBc의 상태와 비교분석하여 그 결과를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

1985년부터 1987년까지 계명대학교 의과대학 동산병원에서 간생검을 실시한 환자중 혈청에서 HBsAg이 양성으로 검출된 112예를 대상으로 하였다. 남자가 90명, 여자가 22명으로 남녀비는 4.1:1이었고, 평균나이는 33세(남자 34세:여자 30세)였다. 이 중에는 급성간염 15예, 만성활동성간염 59예, 만성지속성간염 13예, 간경변증 6예, 원발성간세포암 11이, 비특이성변화를 보인 2예와 정상간조직을 보인 5예로 구성되어 있었다.

혈청에서 검사한 HBV표지자는 HBs Ag, Anti-HBs, Ant-HBc, HBe Ag, Anti-HBe의 전부 또는 일부였다. 이에 대한 검사는 "horse-radish peroxidase"를 항원 또는 항체에 부착시킨 Abbott사의 E1A(enzyme immunoassay) Kit를 이용하였다.

생검한 간조직은 10% buffered formalin으로 고정하고 ethanol과 xylene으로 탈수하고 60°C이하의 paraffin에 포매하였다. 형태학적 검사를 위해 hematoxylin-eosin, reticulin, Masson's trichrome 과

\* 본 논문의 일부는 1987년도 계명대학교 갑종연구비로 이루어졌음.

HBsAg의 screening을 위해 Shikata에 의한 modified orcein염색<sup>3)</sup>을 행하였다.

간조직내 HBsAg의 발현을 위해 DAKO PAP KIT (DAKO Co, K511, USA)를 사용하여 PAP (peroxidase-antiperoxidase)법에 따라 염색하였고 HBcAg은 DAKO PAP KIT (DAKO Co, K523, USA)내에 포함된 HBcAg에 대한 1차 항혈청(rabbit antisera)와 이차 항혈청으로 goat antirabbit IgG (HRP) (Biomedical Tehnologies Inc, BT 527, USA)를 사용한 간접 immunoperoxidase법을 실시하였다<sup>4,5,6)</sup>. 파라핀블록으로 부터 얻은 간조직절편을 탈파라핀과 합수과정을 거친 후 methanol (Merck, W.Germany)과 0.1% 과산화수소가 섞인 용액에 담구어 30분간 실온에 두어 내인성페록시다제와의 반응을 차단하였다. 그 후 포르말린고정으로 감추어진 조직내 항원성을 회복시키고자 0.1% protease (type XXVII, Sigma P4789, USA)를 0.1N NaOH로 pH 7.4로 조정 한 후 각 조직절편위에 적당량 놓아 37°C에서 30분 부란하였다. HBsAg의 조직내 발현을 위해 HBsAg에 대한 1차 항혈청(goat anti-sera against HBsAg)을 조직절편위에 놓아 실온에서 30분간 부란하였다. 그 후 2차 연결 항체(rabbit anti-goat serum protein)과 PAP (soluble horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase)로 실온에서 다시 각각 20분씩 부란하였다. 한편 HBcAg의 경우 1차 항혈청(rabbit antisera against HBcAg)을 조직절편위에 놓아 실온에서 30분간 부란한후 수세하고 2차 항혈청(oxidase conjugated anti-rabbit IgG, 1:20)으로 실온에서 30분간 부란하였다.

그후 마지막과정으로 발색용 수매질용액인 DAB(3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma)로 발색하고 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색한 후 광학현미경하에서 검경하였다. HBsAg은 세포질내 양성반응을 보인 세포들의 수와 분포를 관찰하였으며 HBcAg은 핵과 세포질에서 양성반응을 보인 세포들을 관찰하였다.

항원의 발현 정도에 따라 아래의 기준에 따라 -, +, ++, +++로 판정하였다. 즉 양성반응을 보인 세포가 없을때 '-'로 세포 한두개가 산발적으로 양성반응을 보이는 경우는 '+'로 몇개의 세포들이 모여 집단적인 양성반응을 보일때, '++'로, 그리고 세포의 반수이상인 양성반응을 보일때 '+++로 판정하였다. 양

성대조는 DAKO control slide 또는 본 실험을 통해 양성반응이 저명했던 간조직을 이용하였고 음성대조는 1차 항원 대신에 non-immunized serum 또는 Tris buffer를 사용하였다.

## 결 과

### 간조직내 HBsAg의 발현양상

Immunoperoxidase법에 의해 HBsAg이 35예(31.3%)에서 염색되어 그 염색정도는 '+'이 14예, '++'가 9예, '+++'가 12예였다 HBsAg은 대부분 간조직내에서 focal로 random하게 분포하였다 HBsAg에 양성으로 염색된 세포는 H&E 염색으로 'ground-glass'양상의 세포질을 갖고 있었다. HBsAg은 간세포의 세포질내에 대부분 미만성 과립으로 존재하여 그중 경계가 분명한 cytoplasmic inclusion형(Fig. 1)이 주종을 이루었고 그의 일부에서 perinuclear pattern(Fig. 2)과 드물게 membranous pattern(Fig. 3)도 cytoplasmic inclusion형과 함께 인지되었다. 각 질환에 따른 간조직내의 HBsAg 양성율은 만성 활동성간염이 28.8%, 만성 지속성간염이 23.1%, 간경변증이 50%, 간암이 36.4%이었으나 급성간염은 18.8%이었다.

그외 비특이성변화군은 50%, 정상간조직군의 80%에서 HBsAg를 보였다(표 1). 간암조직내에서는 HBsAg이 염색되지 않았고 간암주변의 간조직내에서만 발견되었다. 각 질환의 유형에 따른 HBsAg의 양 및 출현 분포에 대한 차이는 관찰 할 수 없었다. 반면 orcein염색으로 16예(14.3%)가 양성으로 염색되었다. Orcein법으로 양성으로 염색된 간세포들은 immunoperoxidase 염색에 의해서도 같은 세포들내에 HBsAg이 발견되었다.

### 간조직내 HBcAg의 발현양상

HBcAg은 71예(63.4%)에서 간세포의 핵과 세포질내에 갈색 또는 흑색으로 염색되었는데 핵에만 국한된 경우는 5예뿐 이었다(Fig. 4). 핵에는 염색되지 않고 세포질내에 과립으로 나타나는 예가 40예였고(Fig. 5). 나머지 26예에서 핵과 세포질내에 동시에 관찰되었다(Fig. 6). 핵에 국한된 HBcAg은 focal, random으로 존재하였으나 세포질에 존재하는 HBcAg은 비교적 미만성으로 분포하였다. HBcAg의 염색되는 정도는 '+'또는

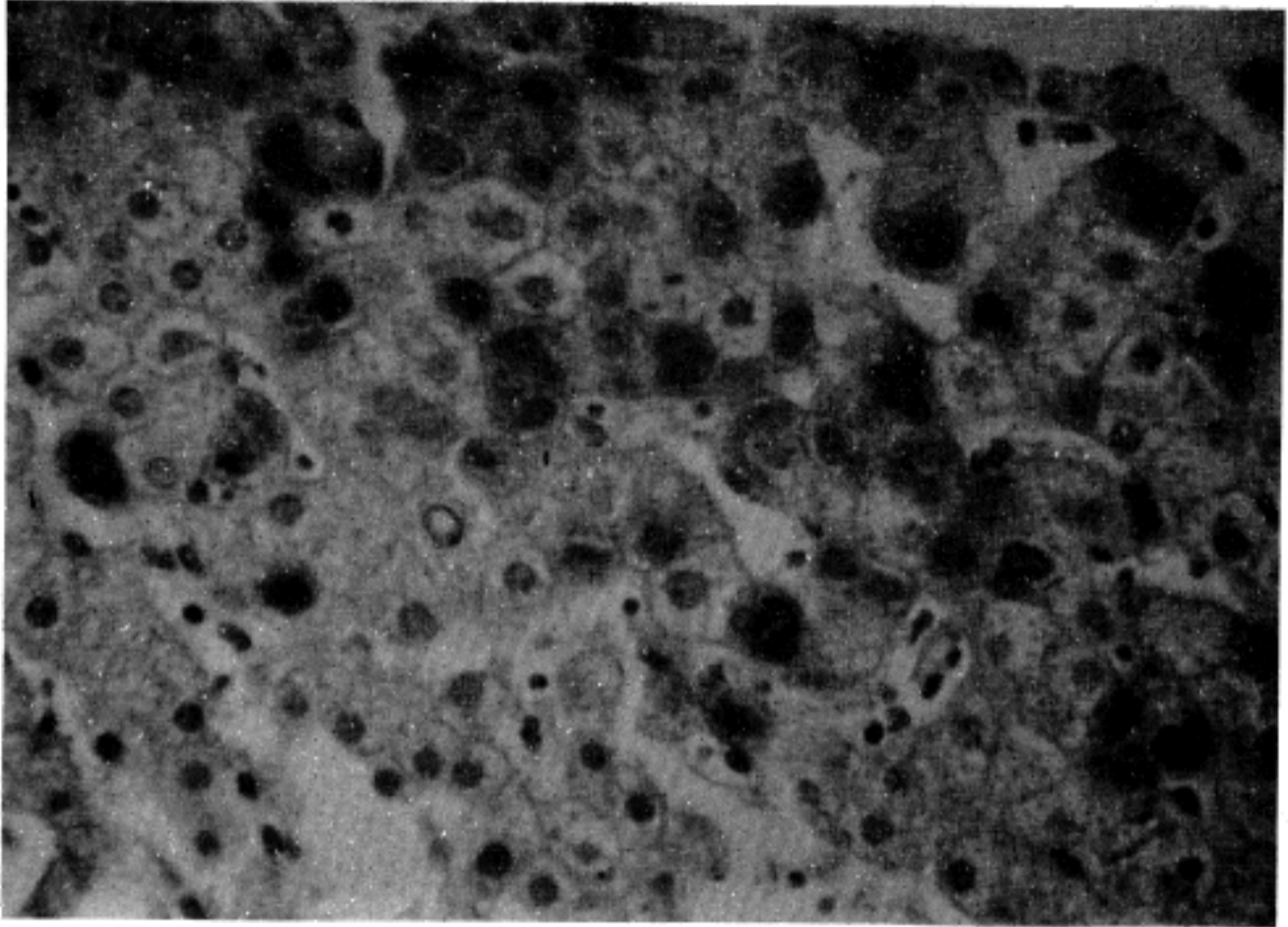


Fig. 1. Immunoperoxidase for HBsAg showing typical ground glass cells that are strongly stained in the form of cytoplasmic inclusion. A large part of the liver lobule is involved, although not uniformly (x200).

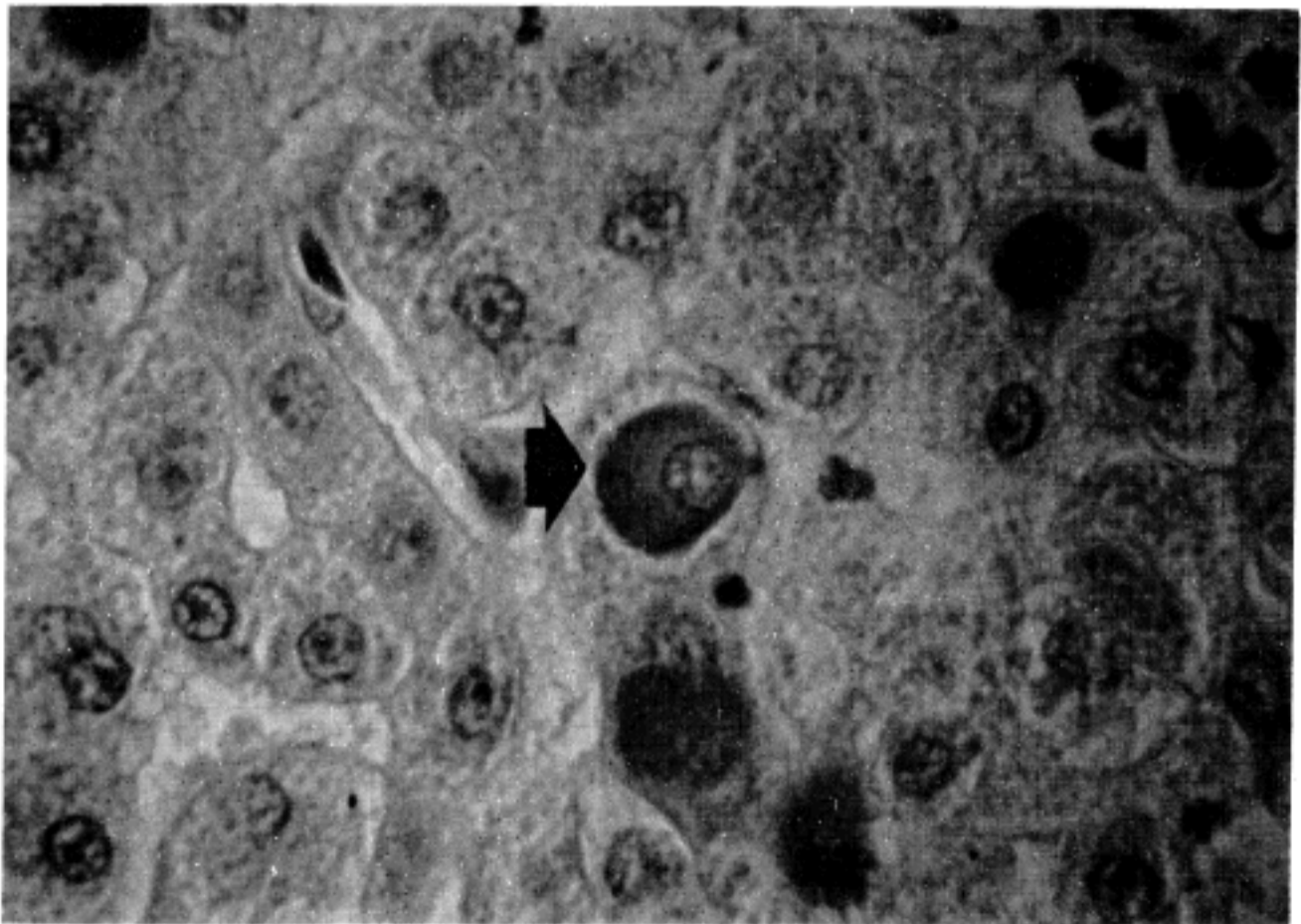


Fig. 2. Spotty distribution of positively stained cells for HBsAg with mixed cytomorphologic expressions such as perinuclear (arrow) and homogeneous (cytoplasmic inclusion) features (x400).

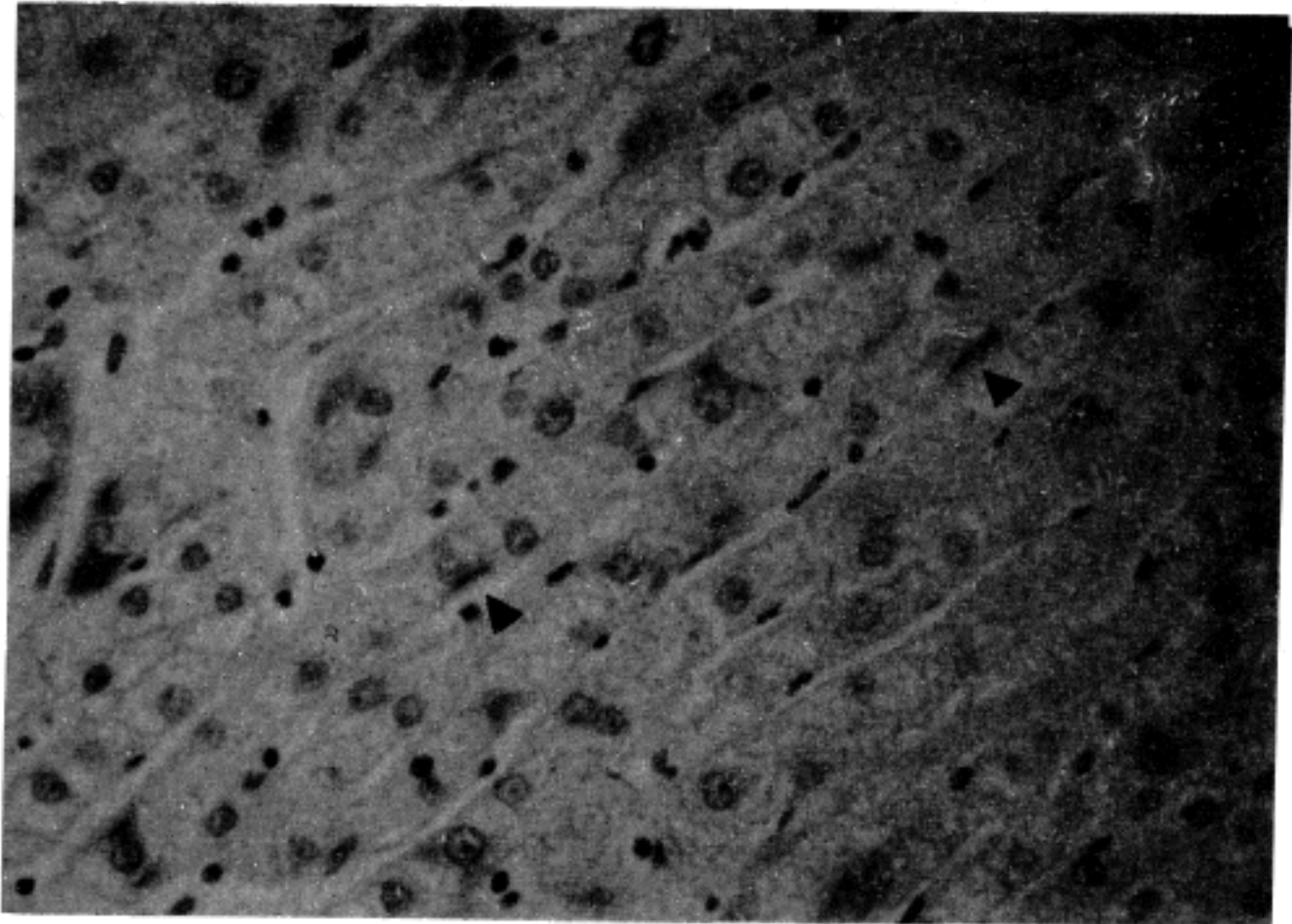


Fig. 3. Flocculent cytoplasmic immunoperoxidase staining with peripheral or membranous accentuation for HBsAg (arrowheads) (x200).

Table 1. HBV Ags in liver correlated to chief histologic diagnosis

Diagnosis	Total no. of cases	No. of subjects (%)	
		Positive HBsAg staining	Positive HBcAg staining
Acute viral hepatitis	16	3 (18.8)	10 (62.5)
Chronic active hepatitis	59	17 (28.8)	41 (69.5)
Chronic persistent hepatitis	13	3 (23.1)	10 (76.9)
Cirrhosis	6	3 (50.0)	3 (50.0)
Hepatocellular carcinoma	11	4 (36.4)	5 (45.5)
Non-specific changes	2	1 (50.0)	2 (100.0)
Normal liver	5	4 (80.0)	0 (0.0)
Total	112	35 (31.3)	71 (63.4)

'++'가 31예, 반이상의 세포가 염색된 '+++가 40예였다. 각 질환별로 보면 정상간조직군에서 전혀 HBcAg이 발현되지 않았고 나머지 질환군에서는 45.5%에서 100%까지의 양성율을 보였다(Table 1). 각 질환의 유형에 따른 HBcAg의 양 및 출현분포에 대한 차이는 관찰할 수 없었다. 간암조직중 5예에서는 HBcAg이 발견되었는데 그중 4예에서는 종양세포의 세포질내에서, 나머지 1예에서는 종양주변의 간조직에서 발현되었다.

#### 간조직내 발현되는 HBsAg과 HBcAg의 유형에 따른 빈도 및 간질환의 관계

조직내 발현되는 양 HBV Ag의 발현유무에 따라 4유형으로 나누었다. 즉 1군은 양 Ag의 발현이 없을때, 2군은 HBsAg은 없고 HBcAg은 발현될때, 3군은 HBsAg은 발현되나 HBcAg은 없을때, 4군은 양 Ag이 다 존재하는 예로 구분하였다. 본 연구에서 HBcAg이

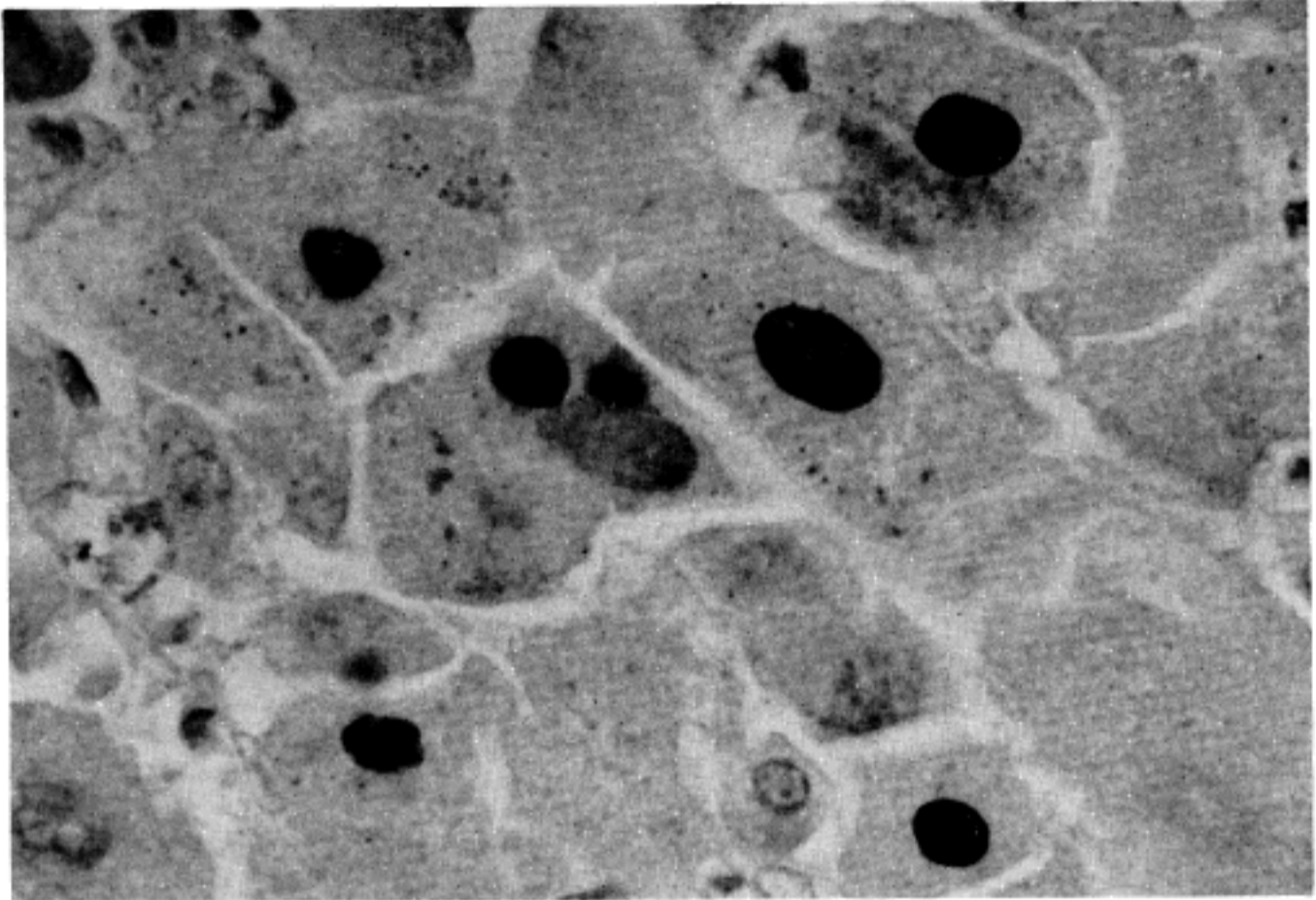


Fig. 4. Indirect immunoperoxidase for HBcAg demonstrating positive nuclear staining (x400).

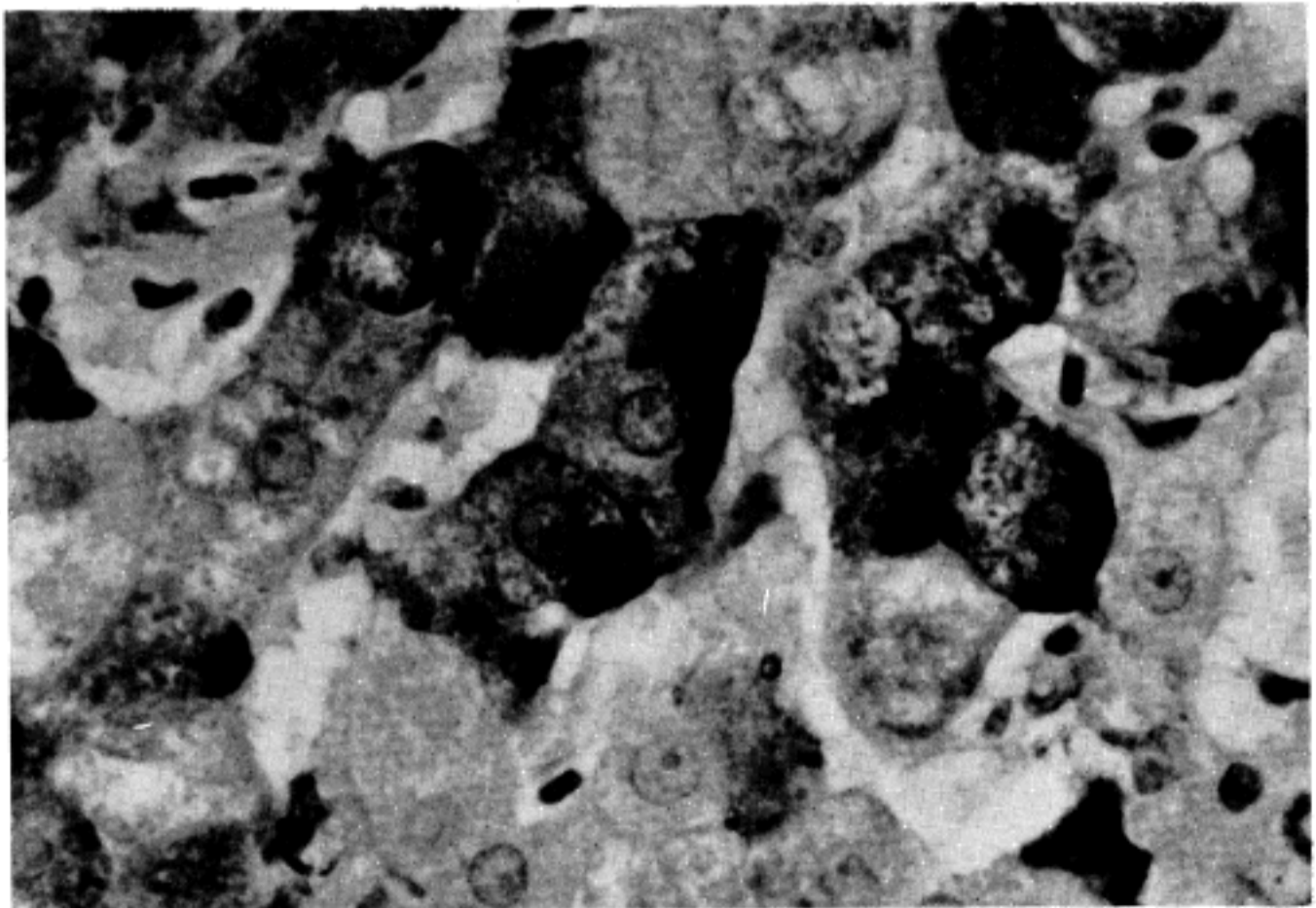


Fig. 5. Positive granular and flocculent cytoplasmic staining for HBcAg in some liver cells (x400).

주로 발현되는 2군이 47예(42.0%)로 가장 많았고 그 다음이 1군이 29예(25.6%), 4군이 24예(21.4%)의 순이었다. HBsAg이 주로 발현되는 3군은 11예(9.8%)로 가장 낮았으나 정상간조직군에는 80%가 3군에 속하였다. 정

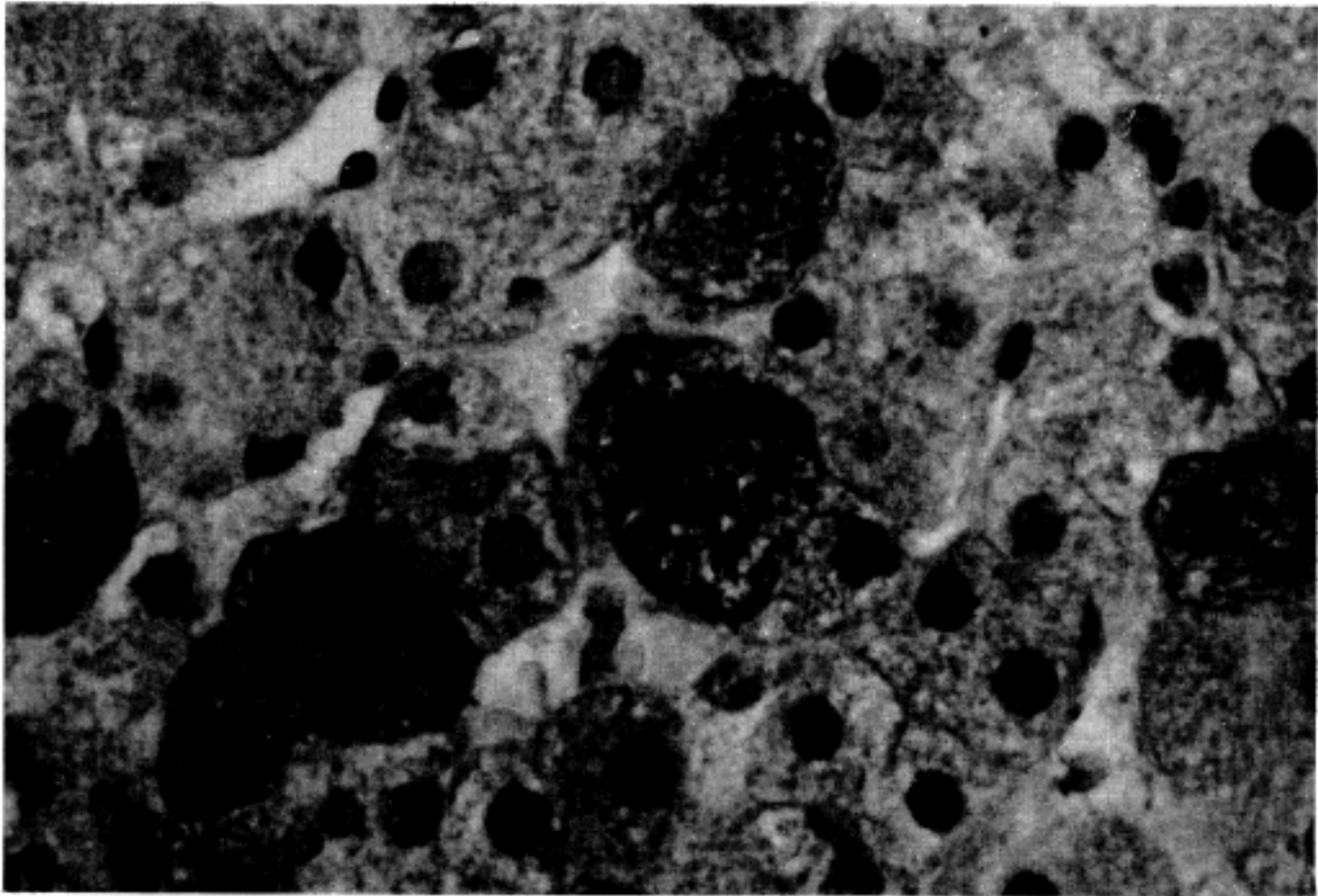


Fig. 6. Prominent degree of mixed nuclear and cytoplasmic expression of HBcAg in many liver cells (x400).

Table 2. Pattern of HBV Ags in liver and chief histologic diagnosis

Liver		No. of cases (%)	Diagnosis							
HBs Ag	HBc Ag		AVH*	CAH	CPH	CIR	HCC	NS	NM	
Group 1										
-	-	29 (25.6)	5	16	3	1	4	0	1	
Group 2										
-	+	47 (42.0)	8	26	7	2	3	1	0	
Group 3										
+	-	11 ( 9.8)	1	2	0	2	2	0	4	
Group 4										
+	+	24 (21.4)	2	15	3	1	2	1	0	
Total		112 (100)	16	59	13	6	11	2	5	

\* AVH : Acute viral hepatitis ; CAH chronic active hepatitis ; CPH, chronic persistent hepatitis ; CIR, cirrhosis ; HCC, hepatocellular carcinoma ; NS, nonspecific changes ; NM, normal liver.

상간조직군을 제외한 다른 간질환에 따른 군간의 차이는 관찰할 수 없었다(Table 2).

#### 혈청과 조직내 HBV 표지자와 간질환의 관계

간조직에서 HBcAg이 양성인 71예중 혈청내 anti-HBc가 52예(73.2%)에서 양성이었고 HBeAg은 41예(57.7%)에서 양성이었다.

HBcAg이 음성인 41예중 19예에서 anti-HBc가 양성 이었고 16예에서 HBcAg이 양성이었다. 그리고 혈청내 anti-HBc가 양성인 환자의 70.3%와 HBeAg 양성인 환자중 13예만이 혈청내 anti-HBe에 양성이었고 42예는 음성이었다(Table 3). 각 질환군에 따른 HBcAg, anti-HBc, HBeAg과 anti-HBe와의 빈도에서 큰 차이를 발견할 수 없었다(Table 4).

**Table 3.** Serum anti-HBc and HBeAg/anti-HBe status in relation of liver HBcAg

HBc Ag in liver	No. of cases	Anti-HBc		HBe Ag		Anti-HBe	
		+(n* = 78)	-	+(n = 82)	-	+(n = 77)	-
Positive	71	52	3	41	16	13	42
Negative	41	22	1	17	8	9	18

n\* : No. of cases tested

**Table 4.** Chief histological diagnosis and correlation between HBV Ag in liver and serum

Diagnosis	Total no. of cases	No. of subjects			
		HBc Ag liver+ (n*=112)	Anti-Hbc serum+ (n=78)	HBe Ag serum+ (n=82)	Anti-HBe serum+ (n=77)
Acute viral hepatitis	16	10	14	11	1
Chronic active hepatitis	59	41	34	27	11
Chronic persist. hepatitis	13	10	12	13	0
Cirrhosis	6	3	5	2	1
Hepatocellular carcinoma	11	5	5	3	2
Non-specific changes	2	2	1	2	0
Normal liver	5	0	3	0	1
Total	112	71	74	58	16

n\* : No. of cases tested

## 고 찰

B형 바이러스간염의 유행지역인 우리나라의 혈청내 HBsAg의 양성율은 유럽이나 미주지역의 0.1-0.5% 보다 월등히 높은 6-12%에 이르고 있다<sup>9,10</sup>. 본 연구에서 총 112예의 혈청내 HBsAg양성인 환자의 간생검조직중 HBsAg과 HBcAg은 immunoperoxidase방법에 의해 35예(31.3%)와 71예(63.4%)에서 각각 발현되었다. 이는 orcein방법에 의한 HBsAg의 발현율인 14.3%보다 높았다. 본 성적은 Lamothe<sup>11</sup>)에 의해 보고된 혈청내 HBsAg양성인 환자의 조직내의 HBsAg 양성율인 10.7%보다 높은 빈도이다. 본 연구에서와 같이 formalin에 고정되고 paraffin에 포매된 간조직블록을 이용한 HBV Ag의 검색은 Nayak등<sup>12</sup>)에 의해 immunoperoxidase방법이 추천되고 있는데 특히 HBcAg의 immunoperoxidase염색은 면역형광법보다 감수성이 높아 HBcAg의 아주 작은 양도 발현시켰다고 보고되었다. HBV의 항원성이 formalin 고정과 paraffin 포매에 영

향을 거의 받지 않아<sup>12</sup>) 사전의 효소에 의한 소화과정이 필요하지 않다고 알려져 있으나 Huang등<sup>8</sup>)에 의하면 비특이성 background 염색을 억제하기 위하여 protease 또는 trypsin에 의한 염색전 digestion 과정을 갖기를 추천하였다. 본 연구에서 HBsAg은 사전에 효소소화과정을 거치지 않고도 쉽게 조직내 발현되었으나 HBcAg의 경우는 거의 발현이 되지 않았다. 그러나 protease의 사전 처리를 한 후 비로소 HBcAg의 발현이 가능해졌으며 HBsAg에서도 2예가 더 양성으로 첨가되었다. 저자들은 이 protease의 사용이 'masked'항원을 노출하고 배경염색을 억제시켜 소량의 항원도 검출할 수 있으므로 조직내 HBV의 발현을 극대화시킬 수 있다고 생각된다.

본 연구에서 조직내 HBsAg은 대부분 갈색의 미만성 과립모양으로 세포질내에 국한되어 주로 세포질 봉입체 (cytoplasmic inclusion)의 형태로 존재하였고 이는 'H&E' 염색으로 'ground-glass' 양상을 보였다. 때로는 핵주위나 membranous pattern으로 존재하기도 하였다.

본 연구에서 조직내 HBcAg은 핵에 국한될 때는 진한

갈색 또는 검은 색으로 분명히 눈에 띄었으며 세포질에 분포할 때도 주변의 염색이 안된 세포질과 분명한 대조를 이루어 쉽게 인지할 수 있었다. HBcAg이 핵에만 국한된 경우가 5예뿐이고 나머지 대부분에는 세포질내, 또는 핵과 세포질에 함께 존재하였다. HBcAg은 H&E염색에서 모래(sanded)양상의 핵에서 뿐만 아니고 세포질이나 원형질막에서도 발견된다고 알려져 있으나 본 실험에서 보면 H&E염색으로 뚜렷한 특징을 발견할 수 없었다. 그리고 HBsAg과 HBcAg의 발현부위와 간질환의 유형간에는 아무런 차이도 발견할 수 없었다. 본 실험에서 HBcAg의 대부분이 세포질내에 존재하였는데 그 의의는 환자의 치료여부, 병경과의 추적관찰 및 형태학적 비교로서 가능할 것이라고 사료되어 앞으로의 연구과제가 되리라고 생각된다. 최근에 HBsAg이나 HBcAg이 원형질막에 발현되거나 HBsAg이 간세포의 핵에 존재하거나 HBcAg의 세포질내에 존재함은 감염의 activity를 반영하는 것이라고 제시되었다<sup>13)</sup>.

본 연구에서 조직내 HBsAg이 가장 높게 발견되는 간질환군은 정상간조직군(80%)이었고 그 다음이 만성간질환의 순이었다. 그러나 급성간염의 조직내 HBsAg의 발현율은 18.8%로 가장 낮았다. 이런 소견은 국내외 타연구들과 다소 차이가 있으나 대체로 일치하는 만성간질환의 HBsAg의 높은 빈도를 보여주고 있다<sup>14-16)</sup>. 그러나 HBcAg의 조직내 발현율은 HBsAg보다 3배이상 높은 치인 평균 63.4%였다. 정상간조직군에서 HBcAg의 발현은 볼 수 없었으나 이를 제외한 나머지 질환군에서 45.5%에서 100%까지 거의 비슷한 분포를 보였다. HBsAg 또는 HBcAg은 대부분 간조직내에서 focal로 random하게 분포하여 HBVAg의 발현율은 간조직의 크기와 긴밀한 관계가 있다고 생각된다. 그러나 HBcAg이 세포질내에서 발현될때는 비교적 미만성 분포를 보였다. 본 연구의 대상은 주로 수개의 침생검 또는 췌기생검 조직절편으로 조직의 크기가 불충분하여 본 실험의 한계가 여기에 있다고 사료된다.

본 연구에서 여러 간질환에서 조직내 HBV Ag의 발현되는 양과 pattern에 의하면 급성간염에서 HBsAg은 18.8%에서 발현되었으나 HBcAg은 62.5%에서 발견되어 HBcAg이 주된 양상을 보였다. 이는 급성간염과 전격성(fulminant) 간염에서의 거의 HBV가 발현되지 않는다는 서구의 보고와는 상반된 소견이다<sup>20)</sup>.

만성활동성간염에서 28.8%의 HBsAg과 69.5%의

HBcAg의 발현을 보였다. 반면, 간손상이 거의 없는 건강한 보균자들의 간조직내에서는 80%에서 많은 수의 HBsAg에 양성인 세포들을 가졌으나 HBcAg은 전혀 관찰되지 않았다. 이와 같이 많은 수의 HBsAg을 가지고 있음에도 정상적인 간의 형태를 보임은 HBV자체가 직접 간세포에 병변을 일으키지는 않는다고 설을 지지해주는 하나의 소견이 된다. 간암환자에서는 HBsAg과 HBcAg가 거의 동량 발견되었다. 이와같이 여러 유형의 간질환에서 HBV항원이 발현양과 pattern이 매우 차이가 있는데 이는 환자의 면역반응이 간조직내 HBsAg과 HBcAg의 발현양과 pattern, 감염의 유형, 심도 및 와 경과를 결정한다고 알려지고 있다<sup>6,13,17,18)</sup>.

한국처럼 HBV가 유행인 지역에서 흔히 HBV의 보균자인 엄마에 의해 어릴때 HBV에 감염되면 만성활동간염, 간경변증과 간암으로 발전된다. 이와 같이 HBV가 체내에 오래 지속하면 원발성간세포암의 발생에 분명히 중요한 역할을 한다고 인정되고 있다<sup>19)</sup>. 성인의 원발성간세포암은 대개 간경변이나 만성 활동성간염에 수반되어 생기나 약 10%미만에서 조직학적으로 정상간에서 생긴다<sup>20)</sup>. HBsAg은 간암환자에서 비종양성 간세포에 주로 국한되어 드물게는 종양세포에서도 발견되었다는 보고들이 있다<sup>21-24)</sup>. 본 연구에서 간암환자의 간조직에서 HBsAg은 간암주변의 간경변증이나 간암조직사이의 비종양성 간세포에 다량 발견되었다. 간암환자중 5예에서 HBcAg이 관찰되었는데 4예에서는 간암세포의 세포질내에서 발견되었고 1예는 간암주변의 비종양성간조직에서 발견되었다.

이와 같이 면역조직학적 검색은 HBV로 유발된 간질환의 병인을 아는데 중요하지만 이들이 감염의 진단에 결정적인 역할을 하지 않는 듯하다. 그러나 특히 아래 경우의 B형 간염의 완전한 평가를 위해서는 면역조직화학적 검사가 필수적이다<sup>2)</sup>.

첫째, 만성간염에서 특히 소엽내(intralobular)의 괴사성염증이 있을때 그 의의를 알기 위해 필요하고 둘째, 만성 HBV감염의 치료를 위한 임상적 시행에서 치료전후의 생검조직에서 반드시 모든 HBV 표지에 의해 검색되어야 한다. 셋째, HBV 감염의 혈청내 표지를 알 수 없는 경우 B형 간염의 진단에 필요하다. 급만성 B형 간염환자의 상당수는 전통적인 radio-immunoassay에 의해 HBsAg가 혈청내에 검출되지 않으므로 이런 경우 non-A, non-B 감염으로 오진될 수도 있다. 이런 경우



간조직내에서 HBV Ag의 면역조직화학적 검색에 의해 비로소 HBV의 존재를 알게 된다. 넷째, 일부에서 급성과 만성 B형 간염의 감별에 필요하다. 즉 오래 지속된 급성 B형간염 환자에서 HBV Ag이 간세포내에 보이면 만성으로 이행함을 의미한다. 급성 B형 간염은 만성 간염의 reactivation과 감별될 수 있는데 이는 만성간염에서 보이는 다수의 HBV에 양성인 간세포에 의한다.

HBV의 감염을 알 수 있는 일상적인 진단기법은 혈청내 HBsAg의 유무를 아는 것이다. 그러나 HBsAg는 단순히 바이러스의 과다한 capsular material로 자체가 감염성을 갖지 않는다고 알려져 있다. 그리고, 바이러스가 간세포내에서 증식하여도 비정상적인 과도한 capsular material을 생산하지 않으면 혈청내 HBsAg이 검출안 될 수 있다<sup>25)</sup>. 또한 HBsAg은 바이러스의 증식이 없어도 간세포내에서 생성이 가능하므로 바이러스의 증식을 나타내는 표지자로는 적합하지 않다. HBV의 증식상태를 가장 잘 반영하고 있는 것은 혈청이나 간조직내 HBV DNA로서 이는 간세포내 HBcAg 및 혈청 DNA polymerase, HBeAg등과 밀접한 상관 관계가 있음이 밝혀 지고 있다<sup>7)</sup>. HBcAg이 간세포내에 발현되면 활동성(active) 감염을 나타낸다고 알려져 있다<sup>8)</sup>. 그러나, HBcAg은 면역조직화학적 방법에 의해서만 조직내에서 발견될 수 있고 혈청내에서는 검출되지 않는다. 그리고 HBsAg과는 달리 파라핀 절편에서 HBcAg을 발현시키는 조직화학적 방법은 없다. 대부분의 환자에서 간내 HBcAg에 반응하여 anti-HBc가 혈청내에 생산되는데 최근의 HBV 감염을 아는데 믿을만한 표지자가 된다고 알려져 있다<sup>25)</sup>.

Nayak등<sup>12)</sup>은 혈청내 anti-HBc의 존재가 HBV에 의한 지속된 감염의 더 좋은 표지자임을 보고하였다. 그러므로 anti-HBc를 HBsAg과 함께 검사하는 것이 HBV의 감염을 진단하는데 더 큰 의의를 부여해 준다. 그러나 anti-HBc가 단순히 전에 감염을 받아 치유된 경우를 의미하는지, 진행되고 있는 바이러스의 증식을 반영하는지는 확실하지 않다. 혈청내 HBsAg 또는 anti-HBs가 검출되지 않을 때 anti-HBc가 양성이면 진행중인 HBV의 감염을 나타낸다고 한다<sup>25)</sup>. 한편 HBcAg이 대부분의 양성경과를 취하고 진행하지 않는 만성지속성간염에도 발견되었다고 보고되고 있다.

HBV의 병원성은 HBV에 감염되어 증식이 끝나고 HBV가 host genome으로 융합함에 따라 끝나게 된다.

증식 시기는 혈청중 HBeAg의 존재에 의해 인지된다. 혈청내 HBeAg이 소실되면 anti-HBe의 치가 증가되는데 즉 anti-HBe는 감염의 비활동기에 상승한다고 추측되어진다<sup>26)</sup>. 그러나 anti-HBe가 대다수의 HBsAg의 발병하지 않은 보균자에서 보이고, 또한 심한 간질환을 앓는 보균자에게도 생겨 비활동성 HBV 감염이 간에 손상을 초래하지 않는다는 가설에 분명히 반대되는 소견을 제시하기도 한다. HBV의 증식은 anti-HBe의 존재하에서도 지속될 수 있다는 또 다른 설명으로 anti-HBV 양성인 만성간염 환자의 혈청에서도 HBV genome 또는 gene산물이 발견된 사실에 근거하여 진다<sup>26)</sup>. 본 연구에서 간조직에서 HBcAg이 양성인 71예중 혈청내 anti-HBc가 52예(73.2%)에서 양성이었고 HBeAg은 41예(57.7%)에서 양성이었다. HBcAg이 음성인 41예중 19예에서 anti-HBc가 양성이었고 16예에서 HBeAg이 양성이었다. 그리고 혈청내 anti-HBc가 양성인 환자의 70.3%와 HBeAg이 양성인 환자의 70.7%에서 간조직내 HBcAg이 양성이었다. 또한 HBcAg 양성인 환자중 13예만이 혈청내 anti-HBe에 양성이었고 42예는 음성이었다. 각 질환군에 따른 HBcAg, anti-HBeAg과 anti-HBe와의 빈도에서 큰 차이를 발견 할 수 없었다.

본 연구의 결과와 같이 조직내 발현율이 HBsAg보다 HBcAg이 훨씬 더 높고 또한 HBcAg이 HBsAg보다 바이러스 증식상태를 잘 반영해 주고 있음이 알려진 지금 간조직내에서 HBV 표지자의 검색을 할 때 HBsAg 하나만 하는 것 보다는 HBcAg의 검색을 동시에 실시하는 것이 더욱 더 많은 정보를 제공하리라 사료된다. 또한 바이러스 증식을 알려 주는 표지자로서 HBcAg는 혈청내 anti-HBc와 HBeAg과 긴밀한 상관관계가 있음이 밝혀져 조직내의 HBcAg의 상태를 알 수 없는 경우 혈청내 anti-HBc와 HBeAg의 존재를 앎으로써 이를 대신할 수 있으리라 생각된다.

## 결 론

저자들은 혈청내 HBsAg양성인 112예의 간조직에서 HBsAg과 HBcAg를 immunoperoxidase법에 의해 검색하고 그 발현양상을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Immunoperoxidase법에 의한 HBsAg과 HBcAg

의 양성율은 31.3%와 63.4%로 조직내 HBVAg의 표지자로서 HBcAg이 HBsAg보다 발현율이 훨씬 더 높았다.

2) HBsAg은 간세포질내에 국한되었으며 가장 흔히 관찰되는 유형은 세포질봉입체형이었다. HBcAg은 핵보다는 주로 세포질에 미만성으로 존재하였다.

3) Immunoperoxidase법에 의한 조직내 HBsAg은 정상간조직군에서 80%의 가장 높은 양성율을 보였고 그 다음이 만성간질환군이었다. 급성간염은 18.8%로 낮은 양성율을 보였다. HBcAg은 정상간조직군에는 전예에서 발현되지 않았으나 다른간질환군에서는 빈도에서 유의한 차이를 볼 수 없었다.

4) 간조직내에 HBsAg과 HBcAg의 출현양상에 따라 분류해 보면 HBcAg만 존재하는 군이 47예(42%)로 가장 많았고 그 다음이 양 Ag이 모두없는 군이 29예(25.6%), 양 Ag이 다 존재하는 군이 24예(21.4%)였다. 조직내 HBs만 존재하는 군은 11예(9.8%)로 가장 수가 적었으나 정상간 조직군의 80%를 정하였다. 양 Ag의 출현양상과 각 간질환유형간의 상관관계는 찾아 볼 수 없었다.

5) 간조직에서 HBcAg이 양성인 71예중 혈청내 anti-HBc가 52예(73.2%)에서 양성이었고 HBeAg은 41예(57.7%)에서 양성이었다. 그리고 혈청내 anti-HBc 양성인 환자의 70.3%와 HBeAg이 양성인 환자의 70.7%에서 간조직내 HBcAg이 양성이었다. 또한 HBcAg 양성인 환자중 13예만 혈청내 anti-HBe에 양성이었고 42예는 음성이었다. 각 질환군에 따른 HBcAg, anti-HBc, HBeAg과 anti-HBe와의 빈도에서 큰 차이를 인지할 수 없었다. 간조직내 HBcAg과 혈청내 anti-HBc, HBeAg은 서로 밀접한 상관관계가 있어 HBV의 증식을 나타내는 표지자가 될 수 있으리라 사료되었다.

### 참 고 문 헌

- 1) Phillips MJ, Poucell S: *Modern aspects of the morphology of viral hepatitis. Hum Pathol* 12:1060-1084, 1981
- 2) Gerber MA, Thung SN: *The diagnostic value of immunohistochemical demonstration of hepatitis viral antigens in the liver. Hum Pathol* 18:771-774, 1987
- 3) Shikata T, Uzawa T, Yoshiwara N, et al: *Staining methods of Australia antigen in paraffin section.*

- Japan J Exp Med* 44:26-36, 1974
- 4) Huang SN, Neurath AR: *Immunohistologic demonstration of hepatitis B viral antigens in liver with reference to its significance in liver injury. Lab Invest* 40:1-17, 1979
- 5) Afroudakis AP, Liev CT, Peters RL: *An immunoperoxidase technique for the demonstration of the hepatitis B-surface antigen in human liver. Am J Clin Pathol* 65:533-539, 1976
- 6) Gerber MA, Thung SN: *Biology of disease molecular and cellular pathology of hepatitis B. Lab Invest* 52:572-590, 1985
- 7) 김경희, 김형중, 전재운 외 3인 : B형 만성 간질환에 있어서 viral replication marker와 병리조직학적 소견과의 비교관찰. 대한내과학회지 28:761-769, 1985
- 8) Huang SN: *Immunohistochemical demonstration of hepatitis B core and surface antigens in paraffin sections. Lab Invest* 33:88-95, 1975
- 9) 이호왕, 이용주, 이형우 외 3인 : 한국의 간염 B항원 분포에 관한 연구. 대한바이러스학회지 4(1):41-48, 1974
- 10) 안충욱, 김정룡, 이정빈 외 4인 : 한국헌혈자에서의 간염표면항원 발현 양태에 관한 역학적 연구. 대한의학협회지 26:425-437, 1983
- 11) Lamothe F, Laurencin-Piche J, Cote J, et al: *Detection of surface and core antigens of hepatitis B virus in the liver of 164 human subjects. Gastroenterology* 71:102-108, 1976
- 12) Nayak NC, Dhar A, Sachdeva R, et al: *Association of human hepatocellular carcinoma and cirrhosis with hepatitis B virus surface and core antigens in the liver. Int J Cancer* 20:643-654, 1977
- 13) Mondelli M, Tedder RS, Ferns B, et al: *Differential distribution of hepatitis B core and e antigens in hepatocytes: Analysis of monoclonal antibodies. Hepatology* 6:199, 1986
- 14) Thomsen P, Clausen PP: *Occurrence of hepatitis B-surface antigen in a consecutive material of 1539 liver biopsies. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect A* 91:71-75, 1983
- 15) Adnani MA, Ali S: *Patterns of chronic liver disease in Kuwait with special reference to localisation of hepatitis B surface antigen. J Clin Pathol* 37:549-554, 1984
- 16) 김순호 : Immunoperoxidase 염색에 의한 간조직의 HBsAg에 대한 연구. 부산의대잡지 19(2):17-25, 1979
- 17) Gudat F, Bianchi L, Sonnabend W, et al: *Pattern*

of core and surface expression in liver tissue reflects state of specific immune response in hepatitis B. *Lab Invest* 32:1-9, 1975

- 18) Ray MB, Desmet VJ, Bradburne AF, et al: Differential distribution of hepatitis B surface antigen and hepatitis B core antigen in the liver of hepatitis B patients. *Gastroenterology* 71:462-467, 1976
- 19) Hann HL, Kim CY, London WT, et al: Hepatitis B virus and primary hepatocellular carcinoma: Family studies in Korea. *Int J Cancer* 30:47-51, 1982
- 20) London WT: Primary hepatocellular carcinoma—etiology, pathogenesis, and prevention. *Hum Pathol* 12:1085-1097, 1981
- 21) Ilardi CF, Ying YY, Ackerman LV, Elias JM: Hepatitis B surface antigen and hepatocellular carcinoma in the people's republic of China. *Cancer* 46:1612-1616, 1980
- 22) Wu PC: Patterns of hepatitis B surface antigen. Localization in cells of hepatocellular carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 103:165-168, 1979
- 23) Hsu H, Lin W, Tsai M: Hepatitis-B surface antigen and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer* 52:1825-1832, 1983
- 24) Nazarewicz T, Krawczynski K, Slusarczyk J, Nowoslawski A: Cellular localization of hepatitis B virus antigens in patients with hepatocellular carcinoma coexisting with liver cirrhosis. *J Infect Dis* 35:298-302, 1977
- 25) Omata M, Afroudakis A, Liew CT, et al: Comparison of serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) and serum anticore with tissue HBsAg and hepatitis B core antigen (HBcAg). *Gastroenterology* 75:1003-1009, 1978
- 26) Borino F, Rosina F, Rizzetto M, et al: Chronic hepatitis in HBsAg carriers with serum HBV-DNA and anti-HBe. *Gastroenterology* 90:1268-1273, 1986

— Abstract —

### Occurrence of Hepatitis B-Virus Antigens in a Consecutive Material of 112 Liver Biopsies

S.P. Kim, M.D., C.H. Kim, M.D.,  
S.S. Lee, M.D. and C.H. Chung, M.D.  
Department of Pathology,  
Keimyung University School of Medicine

The frequency and occurrence of HBsAg and HBcAg

in 112 consecutive, HBsAg sero-positive, liver biopsies were determined using immunoperoxidase staining. HBsAg and HBcAg were demonstrated in 35 (31.3%) and 71 (63.4%) biopsies, respectively. HBsAg in liver was found in the cytoplasm as diffuse granules, mostly in the form of cytoplasmic inclusions. There was also perinuclear and membranous patterns. HBcAg in liver was found mostly in the cytoplasm and occasionally confined to the nucleus.

The highest correspondence between HBsAg positivity in serum and liver was found in cases with normal histology morphology (80%). The frequency of HBs and HBcAg in liver in chronic liver disease was 23.1~50% and 36.4~69.2%. According to the variable expression pattern of HBs & c Ags in liver cells, 47 cases (42%) showed only HBcAg in liver. Twenty-nine cases (25.6%) failed to demonstrate any HBV Ags in liver and 24 cases showed both antigens in liver. No correlation was found between liver disease groups and HBV Ag expression patterns. However, 11 cases (9.8%) showed only HBsAg in liver; predominant HBsAg pattern was observed in 80% of "normal histology group".

73.2% of HBcAg positive patients had anti-HBc in serum and 57.7% of them had HBeAg. 70.3% of anti-HBc positive and 70.7% of HBeAg sero-positive patients had HBcAg in liver cells. These findings strongly suggest that the presence of HBcAg is closely associated with serum anti-HBc and HBeAg. Serum HBeAg and anti-HBc can be used as a reliable indicator of active viral replication.

The overall results further suggest an interplay of both hepatitis B virus and host immune response in the development and pathogenesis of hepatitis, including different degrees of accumulation of HBsAg and HBcAg in the liver and the various histological types of hepatitis.

---

**Key Words:** Hepatitis B virus antigens, Immunoperoxidase, HBsAg, HBcAg