

Clinical Characterization of Hepatitis A Infection Complicated with Acute Kidney Injury and Sequence Analysis of the VP1 Region

Young Kyung Yoon^{1,2}, Hee Sun Sim², Jeong Yeon Kim¹, Dae Won Park^{1,2},
Jang Wook Sohn^{1,2}, Byung Chul Chun³, Min Ja Kim^{1,2}

¹Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, and ²Institute of Emerging Infectious Diseases,
³Department of Preventive Medicine, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Recently hepatitis A virus (HAV) infection has propagated among adults in Korea due to the epidemiologic shift in the age-specific HAV seroprevalence. There are apparently increase in symptomatic patients with severe diseases. This study aimed to investigate clinical and molecular characteristics related to acute kidney injury (AKI) occurrence in HAV infection.

Methods: A case-control study was conducted in a university hospital between February 2009 and July 2009. Clinical findings of non-fulminant HAV infection complicated with AKI (N=5) were compared to those without AKI (N=60). The complete sequence of the VP1 region (900 bp) was amplified from stool specimens by the RT-PCR to determine HAV genotypes and genetic variations between the two groups.

Results: Among 65 patients with non-fulminant HAV infections, 5 patients (7.7%) developed AKI. In multivariate analyses, higher level of C-reactive protein

was independently associated with AKI occurrence in non-fulminant HAV infections [odds ratios=1.094, 95% confidence interval=1.011–1.183]. HAV RNA was detected in 57 (86.4%) patients: 53 strains (93.0%) showed genotype IIIA and 4 strains presented genotype IA. All HAV isolates from the AKI patients belonged to the genotype IIIA and shared the identical sequences with those from the non-AKI patients.

Conclusion: This study indicates that higher level of C-reactive protein is associated with AKI occurrence in non-fulminant HAV infections. There were no specific nucleotide or amino acid substitutions in the VP1 region associated with AKI occurrence. (**Korean J Clin Microbiol 2010;13:7-13**)

Key Words: Hepatitis A, Acute kidney injury, C-reactive protein, Genotype

서 론

A형 간염바이러스(hepatitis A virus, HAV)는 세계적으로 급성 간염의 주요 원인이며, 최근 국내에서도 급성 간염의 가장 흔한 원인으로 알려지고 있다[1]. 한국 질병관리본부의 A형 간염 표본감시 결과에 의하면, 2004년 357명의 급성 A형 간염 환자가 집계된 이후로 2006년 환자수는 2,091명, 2008년 7,883명, 2009년은 14,959명으로 증가하였으며(<http://stat.cdc.go.kr>), 지역사회에서 지속적으로 유행하고 있다[2]. 이는 위생 수준의 향상으로 소아기 감염의 빈도가 줄면서 1980년대 90% 이상이었

던 청장년기의 HAV 항체 보유율의 감소에 따르는 역학적 변화의 결과로 알려지고 있으며, 2007년도 조사에 의하면 지역에서 20대의 HAV 항체 보유율은 10% 미만으로 보고되었다[3,4]. A형 간염은 발병 연령 증가에 따라 현성 감염자와 합병증 발생 비율이 증가하는 질병 특성 때문에 이러한 역학적 특성의 변화는 중요한 보건 문제가 된다[5].

A형 간염은 대부분 후유증 없이 자기 한정성 경과를 보이는 간질환으로 급성 신기능 손상은 전격성 간염의 경우를 제외하고 매우 드물게 합병되는 간외 증상의 하나로 알려져 있으며, 아직까지 발생 기전은 규명되지 않았다. 그럼에도 불구하고 최근 국내에서 A형 간염이 지역사회에 확산되면서 A형 간염 환자들의 2.7~7.2%에서 급성 신기능 손상 발생이 보고되고 있어서[6-9], 이에 대한 임상 및 기초 연구가 시급한 실정이다.

HAV 유전체는 7,500 bp로 구성된 positive strand RNA 바이러스로서, 5' 비해독부위(5' nontranslating region, NTR), 구조단백(P1), 비구조단백(P2 및 P3), 3' NTR로 구성되어 있다.

Received 21 February, 2010, Revised 28 February, 2010

Accepted 2 March, 2010

Correspondence: Min Ja Kim, Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, Korea University Anam Hospital, Korea University College of Medicine, 126-1, Anam-dong 5-ga, Seongbuk-gu, Seoul 136-705, Korea. (Tel) 82-2-920-5685, (Fax) 82-2-920-5616, (E-mail) macropha@korea.ac.kr

HAV는 단일 혈청형이나 유전자 염기서열 변이에 따라 7개의 유전자형(genotype)으로 분류되고, 유전자형 I, II, III, VII는 인체 감염을 유발하며, 특히, IA, IB, IIIA과 IIIB는 주요 원인 아형이다[10]. A형 간염의 임상 발병에서 나이와 같은 숙주 요인 뿐만 아니라, 바이러스 요인들도 중요할 것으로 여겨지고 있으나, 아직까지 임상적 특성과 관련된 바이러스 유전형이나 염기서열의 변이에 관한 연구는 매우 제한적이다.

본 연구는 비전격성 A형 간염 환자에서 발생하는 급성 신기능 손상의 병인기전을 규명하기 위한 기초 연구로서, 임상적 및 바이러스 요인에 관련된 특성을 조사하였다. 특히, HAV에 대한 숙주의 면역반응에서 주요 면역우성(immunodominant) 부위로서 중화 항체 반응을 유도하는 것으로 알려진[10] 구조 단백질 VP1 부위의 유전자 염기서열을 분석하여 HAV 유전자형 결정하였고, 염기서열의 변이를 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2009년 2월부터 2009년 7월까지 서울 북서부 지역에 위치한 일개 대학병원에서 A형 간염으로 진단받고 외래 및 입원 치료 받은 환자를 대상으로 하였다. A형 간염의 임상 진단은 급성 간염의 임상 양상과 생화학적 검사에서 간기능 검사의 이상을 동반하고 혈청 IgM anti-HAV 항체가 양성인 경우로 하였다. 전격성 간염은 간성 혼수의 동반 여부로 판단하였다.

2. 방법

1) 환자-대조군 연구: 연구 기간 동안 급성 신기능 손상이 발생한 환자를 환자군으로 하였고 급성 신기능 손상이 동반되지 않은 대조군으로 분류하였다. 전격성 간염을 동반한 환자는 환자-대조군 연구에서 제외하였다. 급성 신기능 손상은 입원 중 혈청 크레아티닌 치가 기저 혈청 크레아티닌 치보다 0.5 mg/dL 혹은 50% 이상 증가한 경우이거나 일회 측정된 혈청 크레아티닌 치가 2 mg/dL 이상으로 증가한 경우로 정의하였다[11]. 임상 자료는 의무기록을 후향 조사하여 수집하였다. 변수로는 나이, 성별, 기저 질환, 임상 증상 및 검사실 검사 소견들을 비교

하였으며, 재원 기간과 임상 경과 및 투석 치료 등을 포함하였다. 검사실 소견들은 환자군의 경우 명백한 급성 신기능 손상이 확인된 시점에서 가장 악화된 수치를 사용하였고, 대조군의 경우 치료 기간 중 가장 악화된 수치를 사용하였다.

2) 역전사 중합효소연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR): 대변 검체를 수집 후 5 mL의 phosphate buffered saline을 가하여 vortex하였고, 4,000 rpm에서 10 분 동안 원심 분리 후 상청액을 회수하여 -70°C 에 사용 전까지 보관하였다. 200 μL 의 대변 상청액을 취하여 QIAamp MinElute Virus Spin kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 사용하여 RNA를 추출하였고, VP1 유전자 특이적 시발체와 AccuPower RT/PCR Premix (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 cDNA를 합성하였으며, 단일 단계 RT-PCR (single-step RT PCR)을 실시하였고, 필요에 따라 이중 PCR (nested-PCR)을 추가하였다. VP1 유전자 특이적 시발체는 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에 기존에 발표된 HAV의 유전자 염기서열을 근거로 3쌍을 제작하여 사용하였고, 특히 900 bp의 전체 VP1 부위를 증폭할 수 있도록 VP1 전부 및 후부의 염기서열을 포함하도록 디자인하였다(Table 1). 단일 단계 RT-PCR은 VP1-1N-F와 VP-2-R 시발체 쌍을 사용하여 실시하였고, 2% agarose gel에서 증폭 산물을 확인하였다. 증폭 산물이 확인되지 않은 검체들은 VP1-A-F와 VP1-A-R쌍을 사용하여 다시 RT-PCR을 실시하였고, 증폭 산물이 확인되지 않는 검체들은 VP1-AN-F와 VP1-AN-R 시발체 쌍을 사용하여 이중 PCR을 실시하였다. PCR은 42°C 60분, 94°C 5분 후에 94°C 1분, 50°C 1분, 72°C 1분의 반응을 40회 반복 실시하였고, 최종 단계는 72°C 7분간 연장 반응시켰다.

3) 유전자형 결정과 계통도 구축: 검체로부터 얻어진 증폭 산물은 PCRquick-spin PCR product Purification Kit (iNtRON Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 정제하였고, 염기서열 분석은 BigDye[®] Terminators v3.1 Kit (Applied Biosystems, CA, USA)와 Capillary electrophoresis system의 ABI 3730xl Genetic Analyzer를 사용하였다.

각 증폭 산물의 염기서열 분석 결과에서 시발체의 염기서열을 제외한 전체 VP1 절편(900 bp)의 염기서열만을 유전자형 결정

Table 1. The primer sequences used for amplification of the VP1 region of the hepatitis A virus genome by reverse transcriptase-polymerase chain reaction

Primers	Position*	Nucleotide sequences	The predicted size (bp)
VP1-1N-F	2184-2203	5' CATGC(T/C)ATGGATGT(C/T)AC(A/C/T)AC 3'	1,010
VP1-2-R	3174-3193	5' GACARYTCTTCYTGAGCATA 3'	
VP1-A-F	2122-2145	5' CTCATGTTAGAGTTAATGTTTATC 3'	1,063
VP1-A-R	3164-3184	5' TCCTGAGCATATTTGAGTCTT 3'	
VP1-AN-F	2133-2155	5' GTTAATGTTTATCTTTTCAGCAAT 3'	987
VP1-AN-R	3098-3119	5' TTCTATATGACTCTCAAATCTT 3'	

*Position relative the the genome of HAV strain HM175 (Accession no. M14707).

과 염기서열 변이 분석에 사용하였으며, GenBank에 등재된 HAV 유전자 염기서열들과 비교하여 상동성을 분석하였다. 분석에 사용한 HAV 주(accession number, 국가)들은 유전자형 IIIA에 속하는 NOR-21 (AJ299464, Norway), KNIH-ISJ (EU849137, Korea), HA-JNG04-90 (AB279732, Japan), PN-IND (EU011791, India)와 유전자형 IA에 속하는 KNIH-KEO (EU849135, Korea), Par05.02/B (DQ504426, Spain), KNIH-KSJ (EU849136, Korea)를 사용하였다. 그 외에 유전자형 IB는 HM-175 (M14707, Australia), HAF-203 (AF268396, Brazil)과 MBB (M20273, German), 유전자형 IIB는 SLF88 (AY644670, USA), 유전자형 IIIB는 HA-JNG06-90F (AB258387, Japan)과 HAJ85-1 (AB279735, Japan)를 각각 사용하였다.

Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA 3, <http://www.megasoftware.net>) 프로그램 내에서 Clustal W2 software (<http://www.Wbi.ac.uk/clustalw>)을 이용하여 염기서열을 정렬하고, 계통분석(neighbor joining method, kimura 2, unrooted phylogram)을 시행하였으며, 계통도의 신뢰도는 bootstrap resampling 방법을 1,000회 시행하여 평가(replication)하였다.

4) 통계: 통계 분석은 SPSS version 12.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 두 군의 연속형 변수의 비교는 Student

t-test를 이용하였으며, 범주형 변수는 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 분석하였다. 다변량 분석을 이용하여 급성 신기능 손상이 동반된 비전격성 A형 간염의 독립적인 위험 인자를 확인하였다. *P*값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. A형 간염 환자의 인구학적 및 임상적 특성

6개월간의 연구 기간 동안 총 66명의 급성 A형 간염 환자가 진단되었고, 남자는 39명(59.1%), 여자는 27명(40.9%)이었고, 평균 연령은 33.6±6.7세(17~49세, 중앙값 33세)였다. 기저질환 조사에서 간부전이나 신장질환의 위험인자인 당뇨, 고혈압, 말기 신부전, 간경변, 간신증후군 등을 진단받은 환자는 없었으며, 대조군에 위암 환자가 1명과 B형 간염 보균자 1명이 포함되었다. 환자들이 호소하는 임상 증상은 발열(80.3%), 오심 또는 구토(78.8%), 피로감(65.2%), 복부 불편감(40.9%), 근육통(27.3%), 황달(13.6%), 설사(12.1%) 순이었다. 전격성 간염을 보인 환자는 1명(1.5%)이었다.

Table 2. Comparative analyses of demographic and clinical features between the non-fulminant HAV infections with or without acute kidney injury

Variables	Cases (N=5)	Controls (N=60)	Univariate <i>P</i>	Multivariate OR* (95% CI [†])
Male, n (%)	5 (100)	34 (56.7)	0.078	
Age, years	39.0±2.9	33.3±0.85	0.066	1.046 (0.806–1.357)
Malignancy	0	1 (1.7)	1.000	
History of hepatitis B carrier	0	1 (1.7)	1.000	
Genotype, IIIA	5 (100)	47 (92.2)	1.000	
Symptom/sign				
Fever	4 (80.0)	48 (80.0)	1.000	
Fatigue	3 (60.0)	39 (65.0)	1.000	
Myalgia	1 (20.0)	17 (28.3)	1.000	
Nausea/vomiting	4 (80.0)	47 (78.3)	1.000	
Abdominal discomfort	2 (40.0)	25 (41.7)	1.000	
Headache	0	10 (16.7)	1.000	
Jaundice	3 (60.0)	6 (10.0)	0.017	
Diarrhea	1 (20.0)	7 (11.7)	0.493	
Laboratory finding (peak)				
WBC, *10 ⁹ /L	6.0±2.1	4.6±2.1	0.168	
Platelets, *10 ⁹ /L	185.2±48.1	160.2±69.8	0.436	
PT, INR	1.3±0.5	1.3±0.3	0.787	
ALT, U/L	2,965±1,586	4,077±2,739	0.161	
AST, U/L	3,833±3,217	2,477±1,925	0.157	
TB, mg/dL	15.6±3.6	7.4±5.9	0.004	1.058 (0.810–1.382)
Albumin, g/dL	3.2±0.4	3.6±0.4	0.035	1.413 (0.190–104.317)
Cr, mg/dL	11.14±4.9	0.9±0.2	0.000	
CRP, mg/dL	70.3±30.2	18.5±17.3	0.000	1.094 (1.011–1.183)

*OR, odds ratio; Age adjusted; [†]CI, confidence interval.

Abbreviations: WBC, white blood cells; PT, prothrombin time; INR, international normalized ratio; ALT, alanine transaminase; AST, aspartate dehydrogenase; Cr, creatinine; CRP, C-reactive protein.

2. A형 간염 환자들에서 급성 신기능 손상 발생과 관련된 위험 인자 분석

전체 66명의 환자 중 6명(9.1%)이 급성 신기능 손상을 동반하였고, 이 중 3명이 췌노로 혈액 투석을 받았다. 급성 신기능 손상을 동반한 A형 간염 환자의 임상 특성은 Table 2에 정리하였다. 특히, 급성 신기능 손상을 동반한 A형 간염 환자들은 입원 당시 최고치의 크레아티닌 값과 C-reactive protein (CRP) 값을 보였고, 그 값은 17.5~91.6 mg/dL로 중앙값은 77.8 mg/dL이었다.

환자-대조군 분석을 위하여 급성 신기능 손상을 동반한 A형 간염 환자군과 급성 신기능 손상을 동반하지 않은 대조군의 인구학적 및 임상 특성과 관련된 위험인자 분석을 비교하였다 (Table 2). 급성 신기능 손상을 보인 환자 6명 중 한 명은 전격성 간염과 급성 신부전을 동시에 보여 위험인자 분석에서 제외하였다. 단변량 분석에서 두 군 사이에 나이와 성별 및 기저질환은 유의한 차이를 보이지 않았다. 임상 증상은 환자군에서 황달 증상의 빈도가 유의하게 높았다. 검사실 소견에서 환자군의 경우 알부민의 수치가 유의하게 낮았으며, 총 빌리루빈 수치와 CRP 값이 대조군에 비하여 유의하게 높았다. 다변량 분석에서 나이, 성별, 알부민, 빌리루빈 및 CRP 값을 대상으로 분석하였을 때, 보다 높은 CRP 치의 상승[Odds ratio, 1.094; 95% Confidence Interval, 1.011-1.183]이 급성 신기능 손상과 관련된 유의한 위험인자로 확인되었다.

63명의 환자들은 보존적인 치료 후 지속적인 합병증 없이 회복되었고, 환자군과 대조군에서 각각 1명씩 임상 경과 중에 세균성 감염증의 합병증으로 사망하였다. 대조군의 다른 한 명은 일시적인 심근염을 동반하였다. 입원 기간은 환자군 22.0±8.2일과 대조군 19.6±3.5일로 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P=0.552$).

3. HAV 분리주들의 VP1 부위 염기서열 분석과 유전자형 결정

66명 환자들의 대변 검체 중 57개(86.4%) 검체에서 HAV RNA를 검출하였다. 대조군의 경우 47명(92.2%)은 IIIA 유전자형, 4명(7.8%)은 IA 유전자형에 각각 속하였으며, 전격성 간염 환자를 포함한 급성 신기능 손상을 보인 6명의 HAV 분리주들은 모두 IIIA 유전자형에 속하였다. 염기서열 변이를 분석하였을 때, IIIA 유전자형으로 확인된 53개의 환자 분리주들은 서로 94~100%의 상동성을 보였으며, NOR-21, KNIH-ISJ, HA-JNG04-90 및 PN-IND주들과 비교하였을 때, 각각 97~99%, 95~98%, 94~97%, 94~97%의 상동성을 보였다(Fig. 1). 또한, IA 유전자형으로 확인된 4개의 환자 분리주는 서로 98~100%의 상동성을 보였고, KNIH-KEO, KNIH-KSJ, Par05.02/B주들과 비교하였을 때 각각 99%, 98%, 97~98%의 상동성을 보였다. 아미노산 서열 변이를 비교하였을 때, IIIA 유전자형에 속

하는 53개의 환자 분리주들은 총 21개의 변이주(variant)로 구분되었고, 98~100%의 상동성을 보였다.

급성 신기능 손상이 발생된 5개의 환자 분리주 중에서 4주는 VP1 부위의 염기 서열이 모두 동일하였으며, 급성 신기능 손상을 동반하지 않은 환자 분리주와도 동일하였다. 나머지 1주는 아미노산 1개의 치환을 보였다. 전격성 간염 환자 분리주는 급성 신기능 손상을 동반한 환자 분리주들과 비교하였을 때, 26개 부위에서 염기서열 변이가 관찰되었으나 아미노산 서열이 100% 상동성을 보였다. 위의 결과들을 종합할 때, A형 간염 환자들에서 급성 신기능 손상 발생과 연관시킬 수 있는 HAV의 VP1 부위의 유전적 변이가 없음을 제시하였다.

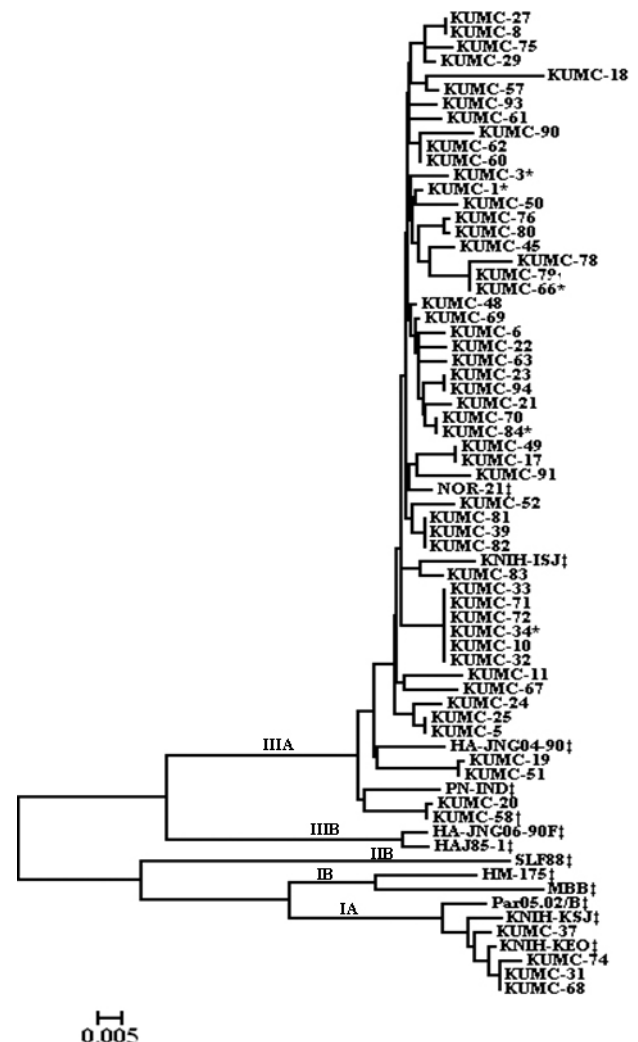


Fig. 1. The phylogenetic tree constructed for the nucleotide sequences of VP1 region of hepatitis A virus genome. The tree includes 66 strains isolated from this study and the reference strains. *The strains isolated from the non-fulminant hepatitis with acute kidney injury. †The strains isolated from the fulminant hepatitis. ‡The reference strains.

고 찰

본 연구는 환자 대조군 연구를 통하여 급성 신기능 손상이 동반된 비전격성 A형 간염 환자들에서 높은 CRP 수치 상승이 급성 신기능 손상 발생과 관련된 유의한 임상적 인자임을 확인하였고, HAV 분리주들의 VP1 부위의 염기서열 분석을 통하여 유전자형 결정과 유전적 변이를 조사하여, 급성 신기능 손상과 관련된 HAV의 분자학적 특성을 조사하였다.

비전격성 A형 간염에서 급성 신기능 손상의 발생은 1978년 Wilkinson 등이 처음으로 보고한 이후[12], 산발적으로 증례들이 발표되었으며, 비교적 최근까지 드물게 합병되는 간의 증상으로 알려져 왔다[13]. 그러나, 최근 발표된 국내에서 발생한 비전격성 A형 간염 환자에서 급성 신기능 손상의 발생은 4.7~5.8%로 보고되고 있다[7-9]. 본 연구에서 A형 간염 환자의 9.1% (6/66명)에서 급성 신기능 손상이 발생하였는데, 비전격성 A형 간염 환자만 대상으로 하면 7.7% (5/65명)로서 기존의 연구들에 비하여 약간 높았다.

A형 간염에서 급성 신기능 손상의 발생기전은 아직까지 규명되지 않았으나, 고빌리루빈혈증에 의한 말초혈관 저항 감소, 신혈관 수축, 유효 혈액량 감소에 따르는 허혈성 손상[14] 또는 담즙산염의 신세관에 대한 독성 효과[15], 구토나 설사 등 신전요인(prerenal factor)에 의한 신혈류 감소[16,17], 면역 복합체에 의한 증식사구체신염 등이[18] 가능한 기전으로 제시되고 있다.

본 연구에서는 비전격성 A형 간염에서 급성 신기능 손상 발생과 관련하여 보다 높은 CRP 수치의 상승이 유일하게 유의한 인자로 확인되었다. 최근에 국내의 비전격성 A형 간염 환자들을 대상으로 급성 신기능 손상의 발생을 예측할 수 있는 위험인자들에 대한 2개의 연구가 보고되었다. Kim 등은 입원 시점에서 낮은 헤마토크릿, 응고장애, 높은 CRP 농도와 임상 경과 중 최고 빌리루빈 수치가 높은 경우 급성 신기능 손상을 일으키는 유의한 인자로 확인하였다[7]. 특히, 범주형 변수인 높은 CRP 농도(CRP>2.5 mg/dL)의 경우 OR값은 5.03 (95% CI, 1.52-16.2)를 보였다. 또 다른 연구에서는 고령, 입원 시의 높은 AST 최고치와 당뇨를 유의한 인자로 확인하였으며, CRP는 분석에 포함되지 않았다[9]. 전격성 간염을 포함하여 A형 간염 환자에서 급성 신기능 손상 발생에 관련된 위험인자를 분석한 또 다른 연구에서는 낮은 혈소판 수치, 프로트롬빈 시간 연장, ALT 최고치를 위험 인자로 제시하였으며, CRP는 분석에 포함되지 않았다[8]. 비록 CRP는 바이러스 감염보다 세균감염에서 주로 유의하게 상승하는 것으로 알려져 있지만[19], 한 연구에서는 A형 간염 환자에서는 B형 간염이나 그 밖의 간염 환자보다 CRP가 유의하게 상승한다는 보고가 있다[20]. 한편, CRP 상승이 요독증과 관계될 수 있으며, 염증과 관계되는 사이토카인의 전구체나 CRP가 신기능의 저하로 잘 배출되지 않는 결과

로 제시된 바 있으나[21], 논란의 여지가 있다[22,23]. 본 연구 결과 보다 높은 CRP의 혈중 농도가 A형 간염에서 급성 신기능 손상의 위험인자임을 제시하였으나, CRP 상승 기전에 대한 심화된 연구가 요구되며, 다른 위험 혹은 예측 인자들과 함께 향후 연구에서 재평가가 필요할 것으로 생각한다.

본 연구에서 급성 신기능 손상이 발생한 비전격성 A형 간염 환자의 40%에서 혈액 투석이 요구되었고, 나머지 예들은 보존적인 치료로 호전되었다. 다른 연구들에서도 급성 신기능 손상 환자들의 일부에서 투석 치료가 필요하였으며, 대부분 좋은 예후를 보이고 있다[6-9]. 또한, 본 연구에서 환자군과 대조군에서 사망률이나 입원 기간에서 유의한 차이를 보이지 않았으나, 각 1명씩 병의 회복기에 혈류 감염으로 사망하였다.

아직까지 급성 신기능 손상이 동반된 A형 간염 환자에서 HAV 유전자형이나 바이러스 특성에 대한 연구보고는 거의 없다. HAV의 유전자형은 Robertson 등의 방법에 의해 VP1/2A 연결 부위의 약 168 bp의 짧은 절편의 염기 서열을 근거로 주로 분류되어 왔으며[24], 유전자형 사이에 11~42%의 염기 서열의 차이를 보인다. 그러나, 다양한 지리적 기원의 HAV 유전자형들을 대상으로 900 bp의 전체 VP1 부위를 분석하였을 때, 분리주들 사이에 23.5%의 염기 서열 변이와 10.5%의 아미노산 서열의 변이를 나타내었고, VP1 부위의 특정 아미노산 서열의 결손과 함께 항원변이를 보이는 변이주의 출현하면서, VP1 부위가 더 유용한 유전학적 정보를 제공할 것으로 제시되고 있다[25].

본 연구에서 HAV의 전체 VP1 부위 염기서열분석으로 HAV 유전자형을 결정하였을 때, 2009년 국내에서 발생한 급성 신기능 손상이 동반된 A형 간염 환자의 6예에서 모두 IIIA 유전형임을 확인하였다. 그러나, 급성 신기능 손상이 동반되지 않은 A형 간염 환자들도 대부분 IIIA 유전형으로 확인되었다. 비록 국내에서 HAV 유전자형에 관한 연구는 제한적이기는 하나 2006년도 이전에는 주로 IA 유전형이 분리되었고[26,27], IA 유전형의 A형 간염 환자에서도 전격성 간염이나 급성 신기능 손상을 보인 A형 간염 환자들도 보고된 점을 감안할 때, 최근 국내 HAV 분리주들의 유전형의 변화는 있지만[2,22], A형 간염에서 급성 신기능 손상의 발생이 유전형과 직접적인 연관성이 있을 가능성은 높지 않다.

Fujiwara 등은 전격성 간염을 포함한 다양한 임상 중증도 보이는 A형 간염 환자들에서 VP1/2A 연결부위의 염기 서열 변이의 차이를 발견하지 못하였으나[28], 전격성 간염 분리주에서 5'-NTR 부위의 염기서열 변이 및 2B 부위의 아미노산 치환이 관련되었을 가능성을 보고하였다[29]. 본 연구 결과에서 급성 신기능 손상을 동반한 비전격성 A형 간염 환자 분리주들의 VP1 부위 염기서열이 합병증을 동반하지 않은 A형 간염 환자의 일부 HAV 분리주와 100% 동일함을 확인함으로써, 적어도 급성 신기능 손상의 합병증과 VP1 부위의 염기서열이나 아미노산 서열의 변이 사이의 연관성은 없음을 확인하였다. 그러나,

향후 HAV 유전체의 VP1 부위 이외의 다른 부위에 대한 염기 서열의 분석을 포함하는 연구가 필요할 것으로 생각한다.

본 연구의 제한점으로는 비교적 짧은 기간 동안에 단일 기관에서 수행된 연구로서 급성 신기능 손상이 발생한 A형 간염 환자 수가 적었으며, 이로 인하여 기존에 발표된 유사한 연구 결과들과 일부 차이를 보일 수 있다.

결론적으로, 본 연구는 최근 비전격성 A형 간염에서 급성 신기능 손상의 동반이 드물지 않게 발생하는 것을 확인하였고, 특히 보다 높은 CRP 상승이 A형 간염 환자에서 급성 신기능 손상과 관련된 유의한 위험 인자임을 확인하였다. 뿐만 아니라, 본 연구에서 최근 국내 HAV 분리주의 주요 유전형이 IIIA임을 확인하였으며, 비전격성 A형 간염에서 급성 신기능 손상의 발생 유무가 HAV 분리주의 유전자형이나 또는 VP1 부위의 염기 서열과 아미노산 서열의 변이와 연관성이 없음을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 보건 의료 연구 개발 사업 임상 의학 과학 양 사업 지원으로 이루어진 것임(과제번호 A090756).

참 고 문 헌

- Song MH, Lim YS, Song TJ, Choi JM, Kim JI, Jun JB, et al. The etiology of acute viral hepatitis for the last 3 years. *Korean J Med* 2005;68:256-60.
- Yoon YK, Chun BC, Lee HK, Seo YS, Shin JH, Hong YS, et al. Epidemiological and genetic analysis of a sustained community-wide outbreak of hepatitis A in the Republic of Korea, 2008: a hospital-based case-control study. *J Clin Virol* 2009;46:184-8.
- Park CH, Cho YK, Park JH, Jun JS, Park ES, Seo JH, et al. Changes in the age-specific prevalence of hepatitis A virus antibodies: a 10-year cohort study in Jinju, South Korea. *Clin Infect Dis* 2006;42:1148-50.
- Kang CI, Choi CM, Park TS, Lee DJ, Oh MD, Choe KW. Incidence and seroprevalence of hepatitis A virus infections among young Korean soldiers. *J Korean Med Sci* 2007;22:546-8.
- Willner IR, Uhl MD, Howard SC, Williams EQ, Riely CA, Waters B. Serious hepatitis A: an analysis of patients hospitalized during an urban epidemic in the United States. *Ann Intern Med* 1998;128:111-4.
- Kim KH, Lee TH, Yang JK, Kim SM, Im EH, Huh KC, et al. Two cases of acute renal failure associated with nonfulminant acute hepatitis A. *Korean J Gastroenterol* 2007;50:116-20.
- Kim HW, Yu MH, Lee JH, Chang JW, Yang WS, Kim SB, et al. Experiences with acute kidney injury complicating non-fulminant hepatitis A. *Nephrology (Carlton)* 2008;13:451-8.
- Jung YJ, Kim W, Jeong JB, Kim BG, Lee KL, Oh KH, et al. Clinical features of acute renal failure associated with hepatitis A virus infection. *J Viral Hepat* 2009. [Epub ahead of print]
- Kim SH, Yoon HE, Kim YK, Kim JY, Choi BS, Choi YJ, et al. Acute hepatitis A-associated acute renal failure in adults. *Nephron Clin Pract* 2008;109:127-32.
- Nainan OV, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis A virus infection: a molecular approach. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:63-79.
- Brenner. *The Kidney*. 5th ed. Philadelphia; W.B. Saunders Company, 1996:1200-52.
- Wilkinson SP, Davies MH, Portmann B, Williams R. Renal failure in otherwise uncomplicated acute viral hepatitis. *Br Med J* 1978;2:338-41.
- Cuthbert JA. Hepatitis A: old and new. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:38-58.
- Green J, Beyar R, Bomzon L, Finberg JP, Better OS. Jaundice, the circulation and the kidney. *Nephron* 1984;37:145-52.
- Green J, Better OS. Systemic hypotension and renal failure in obstructive jaundice-mechanistic and therapeutic aspects. *J Am Soc Nephrol* 1995;5:1853-71.
- Fan PC, Chen YC, Tian YC, Chang CH, Fang JT, Yang CW. Acute renal failure associated with acute non-fulminant hepatitis A: a case report and review of literature. *Ren Fail* 2009;31:756-64.
- Lin CC, Chang CH, Lee SH, Chiang SS, Yang AH. Acute renal failure in non-fulminant hepatitis A. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:2061-6.
- Morita M, Kitajima K, Yoshizawa H, Itoh Y, Iwakiri S, Shibata C, et al. Glomerulonephritis associated with arteritis in marmosets infected with hepatitis A virus. *Br J Exp Pathol* 1981;62:103-13.
- Sasaki K, Fujita I, Hamasaki Y, Miyazaki S. Differentiating between bacterial and viral infection by measuring both C-reactive protein and 2'-5'-oligoadenylate synthetase as inflammatory markers. *J Infect Chemother* 2002;8:76-80.
- Atono Y, Sata M, Tanikawa K. Kinetics of C-reactive protein in acute viral hepatitis. *Gastroenterol Jpn* 1989;24:655-62.
- Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Bárány P, Suliman M, Fehrman-Ekholm I, Lindholm B, et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41:1212-8.
- Ortega O, Rodriguez I, Gallar P, Carreño A, Ortiz M, Espejo B, et al. Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1105-9.
- Harrison NA, Masterton RG, Bateman JM, Rainford DJ. C-reactive protein in acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1989;4:864-9.
- Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan OV, Siegl G, et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol* 1992;73:1365-77.
- Cameron JM. A method for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous substitutions per site. *J Mol Evol* 1995;41:1152-9.
- Byun KS, Kim JH, Song KJ, Baek LJ, Song JW, Park SH, et al. Molecular epidemiology of hepatitis A virus in Korea. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:519-24.
- Yun H, Kim S, Lee H, Byun KS, Kwon SY, Yim HJ, et al. Genetic analysis of HAV strains isolated from patients with acute hepatitis in Korea, 2005-2006. *J Med Virol* 2008;80:777-84.
- Fujiwara K, Yokosuka O, Imazeki F, Saisho H, Saotome N, Suzuki K, et al. Analysis of the genotype-determining region of hepatitis A viral RNA in relation to disease severity. *Hepatology Res* 2003;25:124-34.
- Fujiwara K, Yokosuka O, Ehata T, Saisho H, Saotome N, Suzuki K, et al. Association between severity of type A hepatitis and nucleotide variations in the 5' non-translated region of hepatitis A virus RNA: strains from fulminant hepatitis have fewer nucleotide substitutions. *Gut* 2002;51:82-8.

=국문초록=

급성 신기능 손상이 합병된 A형 간염의 임상적 특성과 VP1 부위 염기서열 분석

¹고려대학교 의과대학 내과학교실, ²고려대학교 신종전염병 연구소, ³고려대학교 의과대학 예방의학교실

윤영경^{1,2}, 심희선², 김정연¹, 박대원^{1,2}, 손장욱^{1,2}, 천병철³, 김민자^{1,2}

배경: 국내에서 최근 청장년 연령층에서 A형 간염 바이러스(HAV) 항체 보유율의 현저한 감소에 의하여 현증 A형 간염 발생과 합병증이 증가하고 있다. 본 연구는 비전격성 A형 간염 환자들에서 합병되는 급성 신기능 손상과 관련된 위험인자를 확인하고, A형 간염 바이러스의 VP1 절편의 염기서열 특성의 관련성을 조사하였다.

방법: 2009년 2월부터 2009년 7월까지 일개 대학병원에 내원한 급성 A형 간염 환자를 대상으로 환자-대조군 연구를 시행하였다. 전격성 간염을 제외하고, 급성 신기능 손상이 합병된 경우를 환자군(N=5), 급성 신기능 손상이 동반되지 않은 환자를 대조군(N=60)으로 정의하였다. 환자들의 대변 검체를 수집하여 HAV 유전체의 VP1 절편을 역전사중합효소연쇄 반응으로 증폭한 후, 염기서열 분석을 통하여 유전자형과 염기서열의 변이를 분석하였다.

결과: 비전격성 A형 간염 환자 65명 중 5명(7.7%)이 급성 신기능 손상을 동반하였다. 다변량 분석에서 비전격성 A형 간염에서 급성 신기능 손상 발생과 관련된 독립적 위험 인자는 C-reactive protein 상승을 확인하였다(Odds ratio, 1.094; 95% Confidence Interval, 1.011-1.183). HAV RNA는 66명의 환자 중 57명(86.4%)에서 확인되었고, 53개의 분리주(93.0%)는 유전형 IIIA였고, 4개의 분리주는 유전형 IA로 확인되었다. 급성 신기능 손상과 관련된 분리주는 모두 유전형 IIIA이었고, 급성 신기능 손상이 발생한 환자들의 VP1 절편의 염기서열은 신기능 손상이 없었던 급성 신기능 손상이 동반되지 않았던 환자들과의 것과 동일하였다.

결론: 비전격성 A형 간염에 동반된 급성 신기능 손상을 보인 환자에서 C-reactive protein 상승을 확인하였으며, HAV 유전체의 VP1 절편의 염기서열의 변이는 관찰되지 않았다. [대한임상미생물학회지 2010;13:7-13]

교신저자 : 김민자, 136-705, 서울시 성북구 안암동 5가 126-1
고려대학교 의과대학 내과학교실
Tel: 02-920-5685, Fax: 02-920-5616
E-mail: macropha@korea.ac.kr