

2009년 미국간학회 하이라이트

C형간염 병원 관련 분야

계명대학교 의과대학 내과학교실

정 우 진

Topics related to hepatitis C, virology and pathogenesis

Woo Jin Chung, M.D.

Department of Internal Medicine, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

2009년 제60차 미국간학회(보스턴, 미국)에서는 C형간염바이러스(HCV)에 관하여 치료 이외의 분야에서 170편 이상의 많은 연구들이 발표되었다. 치료 이외의 분야에서 발표된 내용을 살펴보면 기존에 사용되고 있는 유전자형 이외의 새로운 *in vitro* model에 관한 연구, HCV 핵단백질의 기능에 관한 분자생물학적 연구, 병태생리 분야에서 HCV 감염의 만성화에 있어 NK세포 관련 연구 및 간섬유화에 관한 연구가 있었다. 아울러 치료제로 사용 중인 인터페론에 대한 내성에 관한 연구와 함께 HCV에 의한 인슐린 내성에 관한 연구들이 발표되었다.

이 중에서 각 분야별로 흥미로운 보고들을 요약하면 다음과 같다.

1. 세포배양에서 유도된 유전자 1형 HCV

(H77S.2)의 침팬지 접종 후 발생한 만성 C형 간염¹

본 저자들은 이전에 세포배양을 통해 감염력을 가지는 것으로 보고된 기존의 JFH1 HCV에 돌연변이를 가진 H77C RNA를 전달감염시킨 모델을 보고한 바 있는데, 이 H77S RNA가 전달감염된 세포의 배양액을 통해 얻어진 HCV가 생체 내로 감

염이 되는지를 확인하고자 하였다.

저자들은 8C1세포에 전달감염시킨 H77S.2 모델을 통해 얻어진 vH77S.2 바이러스를 10^6 FFU 함유한 10 mL의 접종물을 침팬지에 주사하였다. 접종 1주일 후 항체를 확인하였고, 12개월 이상 혈중에서 바이러스를 확인하였으며 지속되는 정상치의 두 배 이상의 ALT 증가를 확인하였다.

결론: 이전 10^4 FFU 농도의 바이러스를 함유한 접종에서는 감염을 확인하지 못하였으나 이번 10^6 FFU 농도에서는 침팬지에서의 HCV 감염이 확인되었다. 이에 저자들은 세포배양 모델을 통하여 얻어진 HCV를 생체 내로 감염시킬 수 있음을 처음으로 보고하였다.

2. 배양된 세포에서 HCV RNA 증식과 바이러스 형성을 위한 특이 RNA 구조와 돌연변이²

JFH1 바이러스는 Huh7세포에서 자율적으로 증식하고 감염력을 가진 바이러스를 생성해내는데 동일한 유전자형의 성격을 가지는 J6CF 바이러스주의 RNA는 Huh7세포에서 증식을 하지 못한다. 저자들은 JFH1과 J6CF 사이에서 다양한 바이러스 키메라를 구성한 후 Huh7세포에 전달감염시켜 RNA 복제와 바이러스 형성의 효과를 비교하고자

하였다.

결론: 저자들은 JFH1 바이러스의 NS3 helicase와 NS5B-to-3'X 부위가 효과적인 RNA 복제와 바이러스 형성에 중요한 기능을 함을 확인하였고, NS5B 부위의 돌연변이가 중합효소반응을 증가시킴으로써 복제능을 증가시킴을 확인하였다.

3. 인터페론 내성과 간세포암종과 연관된 HCV 핵단백질의 돌연변이가 새로이 발견된 유전암호 해독의 시작 부위이다³

저자들은 최근 8~14 kDa 크기의 작은 핵단백질을 만들었는데 이러한 작은 핵단백질은 전형적인 p21 핵단백질의 N말단부가 부족하며, 8kDa 크기의 핵단백질은 codon 91 부위에서의 내부 기폭에 의하여 만들어지게 된다. 저자들은 codon 70과 91 부위의 돌연변이가 인터페론 내성 및 간세포암종 발생과 연관이 있는가를 조사하고자 하였다.

저자들은 유전자형 1b와 2a모형을 사용하였으며, 293T세포에 플라스미드를 감염전달시킨 후 핵단백질과 결손단백질을 유도한 후 이에 따른 변화를 확인하였다. 유전자형 1b와 2a 모두에서 codon 70, 91, 134에서 내부 기폭이 시작되었으며, 91 부위의 핵단백 발현이 유전자형 1b에서 2a에 비하여 유의하게 증가되어 있었다.

결론: 유전자형 1b에서 91 부위 핵단백의 증가가 관찰되며, 이는 유전자 1형에서 나타나는 보다 높은 인터페론 내성의 원인으로 작용할 가능성이 있다.

4. 인터페론 알파에 의한 NK세포의 자극은

TRAIL을 통해 HCV에 감염된 간세포암주 세포의 사멸에 관여할 수 있다⁴

NK세포는 초기에 HCV 감염의 조절에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 만성 간염의 발병기전에도 관여하는 것으로 알려지고 있다. 저자들은 NK세포에 의해 유발되는 HCV 감염 세포의 사멸에 TRAIL이 어떻게 관여하는지를 조사하고자 하였다.

저자들은 NK세포를 6시간 동안 인터페론 알파

로 자극한 후 인터페론을 씻어낸 후 목표 세포에 추가하였다. 신호전달경로를 확인하기 위한 방법으로 항TRAIL항체뿐 아니라 TRAIL-R2 또는 Fas-R 키메라 등을 사용하였으며, 인터페론 알파에 의해 자극된 NK세포와 JC1-Luc-RNA를 전달 감염시킨 Huh7.5세포를 같이 배양하였다.

결론: NK세포에서 인터페론에 의해 발현된 TRAIL은 HCV에 감염된 간세포의 직접적인 사멸에 관여함으로써 HCV 복제를 조절할 수 있음을 확인하였으며, 이는 인터페론 알파에 의한 HCV 제거의 한 기전으로 생각된다.

5. HCV는 JFH1 바이러스가 감염된 간세포에서 IRS1의 인산화를 억제함으로써 인슐린 내성을 유도한다⁵

정상인과 비교하여 만성 C형간염 환자에서 보다 높은 빈도로 인슐린 내성과 2형 당뇨병이 관찰된다. 이전의 보고에서는 주로 HCV 핵단백질을 전달감염시킨 모델이나 형질전환시킨 동물 모델에서의 결과가 보고되었으며, 저자들은 간세포에서 HCV의 전체 바이러스가 어떤 기전으로 인슐린 내성을 유도하는지를 확인하고자 하였다.

저자들은 Huh7.5.1세포에 유전자형 2a의 JFH1 바이러스를 감염시킨 후 인슐린 처치 후 인슐린 신호전달물질들의 단백질 발현을 확인하였다. 그 결과, 정상 간세포에서의 반응과는 달리 HCV 존재하에서는 인슐린 처치 후 insulin receptor substrate-1의 티로신 인산화가 억제되고, 이하 하부 신호전달물질들인 PI3K, Akt 등의 인산화가 억제됨을 확인하였다.

결론: HCV에 의한 인슐린 신호전달의 억제가 기존의 보고들과는 달리 IRS-1 단백질의 분해보다는 티로신 인산화의 억제에 의하여 이루어질 수 있다. 이러한 현상들은 추후 인슐린 내성을 가진 만성 C형간염 환자에서 인터페론에 대한 낮은 치료반응을 보이는 현상에 대한 기전을 밝히는 데 도움이 될 것으로 생각한다.

6. 만성 C형간염 환자의 NK세포에서 인터페론 알파 신호전달의 장애⁶

NK세포는 바이러스 감염 시 면역반응에 중요한 기능을 하는데, HCV 감염 시에 NK세포는 그 수의 감소뿐 아니라 그 기능의 장애도 확인되어 이러한 NK세포의 동요가 C형간염의 지속과 치료에 대한 저항에 관여할 수 있을 것으로 생각된다. 인터페론-알파는 C형간염의 치료에 중요한 기능을 할 뿐 아니라 NK세포의 기능 조절에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 만성 C형간염 환자의 NK세포에서 인터페론-알파의 신호전달이 어떻게 변화되는지를 확인하고자 하였다.

저자들은 정상인과 만성 C형간염 환자의 혈액을 추출한 후 NK세포를 분리하여 인터페론 알파 처리 후 STAT1과 pSTAT1 등의 반응을 확인하였다. 정상인에 비하여 만성 C형간염 환자의 NK세포에서 STAT1이 증가되어 있음을 확인하였고 인터페론 알파 처리 후 pSTAT1은 증가되나 pSTAT4는 증가하지 않음을 확인하였다.

결론: C형간염 환자의 NK세포에는 인터페론 알파의 신호전달에 장애가 있으며, 이는 C형간염의 지속과 치료에 대한 내성 발생의 원인이 될 수 있다. 또한 NK세포에서의 STAT1의 발현 정도는 인터페론에 대한 치료반응을 예측하는 데 유용할 수도 있을 것이다.

7. 만성 C형간염 환자에서 항바이러스 치료반응의 예측인자로서 B림프구에서의 HCV RNA의 조사⁷

저자들은 이전에 만성 C형간염 환자들의 64% 정도에서 B림프구 내에 HCV RNA가 발견됨을 보고하였다. 또한 림프구증식질환의 표지자들이 B림프구 내 HCV RNA의 존재 여부와 관련이 있음이 보고되었다. 이에 만성 C형간염과 B림프구의 기능 장애 간에 연관이 있을 가능성이 있어 저자들은 B림프구 내 HCV RNA의 존재와 림프구증식질환의 표지자들이 항바이러스 치료의 반응 예측인자로 작용할 수 있을 것인지에 대해 조사하고자 하였다.

인터페론 치료를 받은 71명의 환자의 말초 혈액에서 B림프구를 분리한 후 RT-PCR로 HCV RNA

의 정량 분석을 하였다. 57.7%의 환자에서 B림프구 내에 HCV RNA가 확인되었으며, B림프구 내 HCV RNA의 존재는 치료 비반응의 독립인자로 작용하였다.

결론: B림프구 내 HCV RNA의 존재는 인터페론에 대한 치료반응의 예측인자가 될 수 있다.

8. HIV 감염은 HCV에 의한 간세포의 세포자멸사를 증가시킨다⁸

HIV에 감염된 환자들에서 주요 합병증 중 하나가 HCV 감염에 의한 간질환으로 보고되어 있으며, 두 바이러스에 동시 감염된 환자에서는 간섬유화가 더욱 가속화되는 경향이 관찰된다. 그리고 HIV와 HCV에 의한 간손상에는 TRAIL과 이의 수용체가 관여함이 보고되고 있다. 이에 저자들은 HIV와의 동시 감염이 HCV에 감염된 간세포의 세포자멸사를 증가시키는지와 이러한 현상이 간세포에서의 TRAIL 신호전달과 연관되어 있는지를 알아보하고자 하였다.

저자들은 Huh7.5.1세포에 JFH1 바이러스와 불활성 HIV(CXCR4 and CCR5)를 감염시킨 후 세포자멸사 표지자들을 측정하였다. HCV에 감염된 간세포에서 PPAR의 발현과 annexin V, caspase 염색이 증가됨이 확인되었으며, 이러한 현상은 HIV 감염에서도 확인이 되었다. HCV-HIV 동시 감염 시에는 HCV 단독 감염에 비하여 DR5 단백질의 발현이 증가되어 있었으며, TRAIL과 DR4의 발현은 증가되지 않았음을 확인하였다.

결론: HCV 단독 감염에 비하여 HCV-HIV 동시 감염은 간세포의 세포자멸사를 증가시키며, 이러한 증가는 DR5의 증가에 의하여 이루어진다. 이러한 현상은 HCV-HIV 동시 감염에서 증가된 DR5에 의하여 질환의 진행이 가속화될 수 있음을 시사한다.

맺음말

이번 제60차 미국간학회에서도 C형간염의 자연 경과와 발병기전을 규명하기 위한 다양한 분자생

물학적, 면역학적인 연구들이 시도되고 있음을 알 수 있었으며, 또한 이러한 연구를 위해 다양한 실험 모델을 만들기 위한 노력들이 이루어지고 있음을 알 수 있었다. 특히 C형간염에 의한 섬유화에 관한 많은 보고들과 인터페론을 기반으로 하는 현재 치료체계에서 인터페론의 내성에 관한 많은 보고들, 인슐린 저항에 관한 기전을 밝히기 위한 시도들을 보면서 조만간 C형간염을 이해하고 치료에 적응할 수 있을 것이라는 희망을 가지게 된다. 그리고 미국과 일본 등에서 다양하게 만들어지고 있는 실험 모델들도 가능한 빨리 국내에 도입이 되어 우리나라에서도 C형간염의 기전과 치료 등에 관한 많은 연구가 체계적으로 이루어져 많은 환자분들에게 도움이 될 수 있기를 희망한다.

참고문헌

1. Yi MK, Bourne N, Ma YH, Yates J, Veselenak R, Pyles RB, et al. Chronic hepatitis C infection in a chimpanzee inoculated with cell culture-derived genotype 1a (H77S.2) virus [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):316A.
2. Murayama A, Date T, Akazawa D, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Specific RNA structures and mutations implicated for HCV RNA replication and virus particle formation in culture cells [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):958A.
3. Eng FJ, Fishman S, Desai SM, Branch AD. HCV core gene mutations associated with interferon-resistance and liver cancer are newly-discovered sites of translation initiation [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):314A.
4. Stegmann KA, Ciesek S, Bjorkstrom NK, Cornberg M, Manns MP, Pietschmann T, et al. IFN-alpha stimulated NK cells are capable of killing HCV-infected hepatoma cells via TRAIL [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):933A.
5. Chung WJ, Sabharwal S, Tai AW, Lin W, Shao RX, Jang JY, et al. HCV induces insulin resistance by decreasing tyrosine IRS1 phosphorylation in JFH1 infected hepatocytes [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):938A.
6. Miyagi T, Takehara T, Shimizu S, Nishio K, Kohga K, Tatsumi T, et al. Interferon-alpha signaling in natural killer cells is impaired in chronic hepatitis C virus infection [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):937A.
7. Ito T, Inokuchi M, Uchikoshi M, Shimoizuma Y, Hiroshi K, Imawari M, et al. Evaluation of hepatitis C virus RNA in B cells as a predictive factor for response of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):934A.
8. Jang JY, Shao RX, Lin W, Chung WJ, Tsai WL, Zhao H, et al. HIV infection increases HCV-induced hepatocyte apoptosis [Abstract]. Hepatology 2009;50(Suppl 4):942A.