

■ 특 강

# 만성 B형 간염의 항바이러스 치료지침

## 정 영 화

울산의대, 서울중앙병원 소화기 내과

### 1. 서 론

B형 간염의 치료는, (1) 바이러스 감염의 예방, (2) 바이러스 감염시 만성화의 방지 (3) 만성 간염의 경우 간경변증 혹은 간세포암으로의 진행을 지체시키기 위한 치료, (4) 기타 합병증들에 대한 치료 등을 포함한다. 일반적으로 만성 간염 환자들이 많이 사용되는 간장약 들은 단지 보조적인 역할만을 할 뿐으로 간염의 진행을 막는 역할을 하지는 못한다. B형 만성 간염 환자들의 경우, 간염의 정도를 완화하고 간경변증으로의 진행과 간세포암의 발생을 중일 수 있는 것으로 알려진 방법은 바이러스의 증식을 억제하는 항바이러스 요법이다.

### 2. B형 바이러스성 간염에 대한 항 바이러스 요법

HBV의 증식을 억제하는 치료법으로 현재 사용 중이거나 향후 연구 개발되리라고 여겨지는 방법들을 열거하면 다음과 같다.

#### 1) 인터페론

- (1) 인터페론 알파
- (2) 인터페론 베타
- (3) 인터페론 감마
- (4) Consensus Interferon
- (5) Pegylated (PEG) Interferon

#### 2) Nucleoside analogues

- (1) Lamivudine
- (2) Ganciclovir
- (3) Famciclovir

- (4) Adefovir
- (5) Lobucavir
- (6) Entecavir
- (7) Clevudine (L-FMAU)
- (8) Others

#### 3) 면역조절 요법

- (1) 백신요법
- (2) Cytokine (rHu IL-12, etc.)
- (3) Autologous lymphocyte activation
- (4) Adoptive immunity transfer
- (5) Monoclonal antibody to HbsAg

#### 4) 분자 생물학적 방법

- (1) antisense nucleotide
- (2) Ribozyme to HBV-RNA

### 3. 인터페론 요법

현재까지 알려진 치료법들 중 B형 간염 환자들에게 가장 널리 이용된 방법은 인터페론에 의한 항 바이러스 요법이다. 5백만 단위의 인터페론을 주 3회, 6개월간 투여함으로써 평균 30-40%의 환자들에서 정상 혈청 ALT치를 나타내는 반응을 얻을 수 있다. (반면 대조군의 경우 평균 5% 미만에서 혈청 ALT치가 정상화됨) 이렇게 혈청 ALT치가 정상화된 환자들의 경우에는 대부분 혈청내 HBV-DNA치가 빠르게 감소하여 대부분 4-12주에 음전하는 것이 관찰되며 조직학적인 향상도 동반된다. 더욱이 이들은 대부분 간세포 기능이 향상됨과 동시에 TGF/β1 mRNA, procollagen type III mRNA 및 procollagen type III등 섬유화 표

지자들의 정상화도 관찰된다.

그러나 이와 같이 양호한 치료성과는 인터페론 투여를 중단한 후 일부에서만 지속되는 문제점을 가지고 있다. 즉 50 내지 70%의 환자들은 재발하여 혈청 ALT치가 재상승하고 혈청내 HBV-DNA가 다시 출현하게 된다. 특히 간조직 생검상 섬유화의 정도가 심하거나, 치료전 혈중 바이러스의 양이 많은 경우 재발의 확률이 높은 것으로 알려져 있다. 또한 비만증이 있거나 연령이 높고 남성인 경우, 혈청내 Ferritin 혹은 간내 철 함유량이 많은 환자들의 경우도 치료 성도가 불량한 것으로 알려져 있으나 이들 중 어느 인자들도 반응예들을 치료전에 정확히 예측할 수는 없는 실정이다. 이렇게 재발한 환자들에게 인터페론을 재투여하면 대부분 다시 반응하지만 과연 어떤 방법을 적용하는 것이 최선인지에 대해서는 아직까지 이론의 여지가 많다. 따라서 향후 반응을 향상시키기 위해 그리고 재발을 줄이기 위해 여러 가지의 시도들이 검토되어야 할 것으로 보인다.

약 반 수의 만성 B형 간염 환자들은 인터페론 투여에 의해 양호한 반응을 나타내지 않는다. 이들은 일반적으로 치료 개시 후 12주까지 혈청 ALT치가 정상화하지 않으며 이 경우는 인터페론을 계속 투여하더라도 좋은 성과를 기대하기 힘들다. 더욱이 인터페론의 양을 늘여 투여한 경우에도 반응을 향상시키지 못하는 것으로 알려져 있다. 따라서 12주간 인터페론을 투여한 후에도 혈청 ALT치가 정상화하지 못하는 환자들은 인터페론 투여를 중단하는 것이 좋겠다는 의견들이 많다.

인터페론 투여시 종종 관찰되는 문제 중의 하나는 Breakthrough 현상이다. 즉 인터페론 투여 후 일단 혈청 ALT치가 정상화하였다가, 인터페론을 계속 투여함에도 불구하고 혈청 ALT치가 재차 상승하는 경우이다. 현재까지 그 기전이 명확히 밝혀져 있지는 않으나 인터페론 투여에 의해 내성을 가진 바이러스만이 남아 선택적으로 증식하기 때문이 아닌가 생각되고 있다. 그 외에 항 인터페론 항체의 출현이나 인터페론 투여 후 발생하는 자가면역성 간염의 가능성도 고려될 수 있다. 이 경우도 지속적인 인터페론 투여에 의해 효과를 기대할 수 없기 때문에 치료를 중단하는 것이 현명하다.

인터페론에 의한 항 바이러스 요법이 일부 환자에

서는 지속적으로 양호한 반응을 보임에도 불구하고 아직까지 회의적으로 생각하는 임상들이 있는 것은 낮은 반응율과 높은 재발을 때문이다. 따라서 이를 극복하기 위한 여러 시도들이 현재 행해지고 있다. 즉 인터페론의 용량을 증가시키거나 치료 기간을 늘이는 노력을 하고 있고, 다른 유형의 인터페론을 사용하거나 (예를 들어 consensus 인터페론, pegylated 인터페론, 등) 여타 항바이러스제와의 병용 요법들이 시도되고 있다. 현재까지 알려진 바에 의하면 인터페론의 용량을 늘이는 방법은 반응율을 높이거나 재발율을 감소시키는 데 효과적이지 못한다. 그러나 인터페론을 장기간 (12 내지 24개월) 투여한 경우는 반응율을 향상시키지는 못해도 재발율을 감소시킬 수 있었다는 보고들이 있다. 그러므로 환자에 따라 치료 기간을 개별화함으로써 전체적으로 치료에 대한 반응율을 높이거나 재발율을 줄일 수도 있을 것으로 여겨진다. 인터페론 요법의 또다른 문제는 약가가 비싸고, 주사를 맞아야 하며, 약물의 투여에 따른 부작용이 흔하다는 점이다. 또한 간기능 부전증이 있는 환자, 혈청 ALT치가 높지 않은 환자 및 면역 결핍이 있는 환자 등에서는 사용할 수 없다는 점도 단점이다.

#### 4. 라미뷰딘과 기타 nucleoside analogues

Nucleoside Analogues 는 바이러스 DNA에 직접 결합하거나 (ganciclovir, famciclovir) 역전사 효소에 작용하여 (lamivudine) 바이러스 DNA의 복제를 억제함으로써 항바이러스 효과를 나타낸다. 이들 중 lamivudine 과 famciclovir는 경구제로서 최근에 크게 각광을 받아 그 효과와 안전성에 대한 많은 연구들이 진행되어 왔다. 그 결과, famciclovir는 lamivudine에 비해 상대적으로 그 치료효과가 우월하지 못하고, 두 약물을 동시에 투여할 경우에도 치료율의 상승 등의 효과가 입증되지 못했으며 동시에 가격이 비싸기 때문에, 요즘은 주로 lamivudine에 대한 연구로 그 초점이 모아지고 있다.

Lamivudine (2' 3' -dideoxy 3' -thiacytidine; 3TC) 은 핵산 유도체로서 바이러스의 역전사 효소를 억제함으로써 복제 증식 과정을 차단하여 HBV의 활동성을 줄이는 효과를 나타낸다. 원래는 HIV감염증, 즉 AIDS환자들의 치료에 이용되었으나, 1991년 배양

된 세포내에 있는 B형 간염 바이러스를 억제시키는 것이 보고되면서 B형 간염 바이러스를 억제할 목적으로 연구가 계속 진행되어 왔다. 1993년에는 침팬지와 오리에 감염된 B형 간염 바이러스와 유사한 바이러스들의 증식을 억제함이 보고되었고, 아울러 동년에 B형 간염 환자들에 대한 제2상 임상 연구의 결과가 긍정적으로 보고되었다. 그 이후 1994년부터는 다양한 B형 만성 간염 환자들을 대상으로 미국과 유럽 각국에서 Lamivudine의 양호한 항 바이러스 효과 및 간기능 개선 효과들이 보고되면서, 세계 각국의 간전문자들이 관심을 갖게 되었다. 더욱이 이 약제는 경구용으로 사용할 수 있어 편리하고, 이전에 보고되었던 유사 약제들과는 다르게 일일 300 mg까지의 용량으로는 부작용이 거의 없었으며, 간기능이 많이 감소된 간경변증 환자들에서도 대체적으로 안전하다는 사실이 큰 장점으로 부각되었다.

Lamivudine의 투여에 의해 90% 이상의 혈청 HBV-DNA 감소가 관찰되며, 약 30% 정도의 환자에서는 이 약의 장기 투여에 의해 혈청 HBeAg의 음전이 관찰되었음이 보고되었다. 또한 홍콩의 보고에 의하면, lamivudine을 12개월간 투여한 환자들의 약 3분의 2에서 간조직 검사상 향상을 보였다. (대조군의 경우 약 22%) 이 보고에서 HBeAg의 음전은 평균 36주에 16%에서 관찰되었으며 약제저항성 돌연변이는 약 14%에서 출현하였다.

lamivudine은 인터페론 요법에 효과를 보이지 않거나 재발한 예들에서도 유사한 효과를 나타내는 것으로 보인다. 또한 간기능 부전증이 있는 간경변증 환자들에서도 비교적 안전하며, 항 바이러스 효과 역시 만성 간염 예들에 비해 우수한 것으로 보인다. 그러나 이와 같이 특수한 경우에 있어서 lamivudine의 효과 및 안전성에 대한 연구는 향후 좀더 지속되어야 할 것으로 보인다.

만성 B형 간염 환자에서 lamivudine을 장기간 투여할 경우, 일부 환자들에서(약 30-40%/ 2yrs) 혈청 ALT의 상승이 관찰된다. 또한 약 5% 미만의 환자들의 경우 혈청 빌리루빈치가 정상치의 2배 이상 상승하는 심한 악화를 보인다. 지금까지, 이러한 환자들의 혈청내 HBV-DNA치가 재상승하고 YMDD motif의 돌연변이가 흔히(재발예의 약 40-50%) 관찰됨이 보고되었으나, 정확히 어떤 원인과 기전에 의해 이러한

현상이 나타나는지에 대해서는 앞으로 좀더 규명되어야 할 것으로 보인다.

한편, 아직까지 그 효과와 안전성에 대한 검토가 더 필요한 단계이지만, Adefovir가 lamivudine 투여후 발생한 YMDD 돌연변이형 HBV에 대하여 항바이러스 효과가 있다는 보고도 있어 이에 대해서도 관심을 둘 필요가 있다. 지금까지 사용된 항바이러스 요법제의 단독 요법에 대부분 한계가 있음이 알려져 있는바, 이를 상호 보완할 수 있는 방법의 개발이 필요하기 때문이다. 현재 인터페론과 라미부딘의 병합 요법의 효과가 연구되고 있고, 향후 lamivudine과 adefovir 혹은 여타 항바이러스제, nucleoside analogue와 면역 조절제 등의 병합요법들이 시도될 수 있을 것으로 생각된다.

## 5. 결 론

현재까지 사용되고 있는 B형 간염에 대한 항 바이러스 요법은, 환자들이 가지고 있는 모든 바이러스를 제거하는 방법이 되지 못한다. 단지 바이러스의 증식을 억제하는 치료일 뿐이다. 또한 항바이러스제들이 가지고 있는 단점들 다시 말해 부작용, 비용, 돌연변이의 출현 등을 간과해서는 안 된다. 그러므로 B형 간염 환자들에게 항바이러스 요법을 시도하려 할 때에는 과연 이 치료가 필요한지를 우선적으로 검토하고 cost-effective한지를 판단하여 신중하게 시행 여부를 결정하는 노력이 필요하다.

## 참 고 문 헌

1. 김정룡, 김진욱, 이효석, 윤용범, 송인성. 만성 간염 및 간경변증 환자의 자연경과와 생존율에 관한 연구. 대한내과학회지 1994;46:168-80.
2. 주광로, 방성조, 송병철 등. 1990년대 후반 한국 성인의 B형 간염 바이러스 포지자의 보유양상. 대한소화기학회지 1999;33:642-65.
3. 명승재, 이영상, 김형건, 이근찬, 박능화, 정영화, 서동진. 급성 B형 간염의 회복후 말초혈액 단핵구에서의 HBV DNA 검출. 대한소화기학회지 1997; 29:74-84.
4. 김진일, 나중순, 범춘상, 박수현, 한준열, 서정민.

- 김재광, 이영석, 정규원, 선희식. 만성 바이러스 간염에서 인터페론 치료의 효과에 대한 장기 추적 관찰. 대한간학회지 1997;3:241-51.
5. 연중은, 서연석, 김형운 등 만성B형 간염 환자에서 인터페론 치료 후 장기적 관찰. 대한 간학회지 1999;5:12-21.
  6. 양수현, 정영화, 정성애, 정석원, 송병철, 장우영, 이상수, 이한주, 이영상, 서동진. 만성 B형 간염을 동반한 간경변증 환자에서 라미부딘 요법의 효과 및 안전성. 대한내과학회지 2001;60:131-8.
  7. 유혜승, 이한주, 정영화, 이영상, 서동진. HBeAg 음성, HBV DNA 양성인 만성 B형 간질환 환자에서 Lamivudine의 치료 효과. 대한간학회지 제6권 제4호:488-94, 2000.
  8. 송병철, 서동진, 이한주, 정영화, 이영상. 만성 B형 간염에서 라미부딘의 치료:효과, 반응 예측 인자 및 치료후 재발률. 대한내과학회지 2000;58:336-91.
  9. 주광로, 송병철, 박무인, 정영화, 이영상, 서동진. 만성 B형 간염 경과 중 급성 악화기에서의 Lamivudine 치료 효과. 대한소화기학회지 2000;35:806-14.
  10. 서동진, 정영화, 이영상, 이민호, 한광협. 만성 B형 간염 환자에서 lamivudine 12주 치료의 효과와 안정성. 대한간학회지 제5권 제2호:89-96, 1999.
  11. Marques AR, Straus SE. Advances in the treatment of chronic hepatitis B infection. Rev Med Virol 1998;8:223-34.
  12. Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of  $\alpha$ -interferon treatment in patients with hepatitis BE antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. Ann Intern Med 1993;15:312-23.
  13. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis:a prospective study. Hepatology 1988;8:493-6.
  14. Doo Ryun Chung, Won Seok Yang, Soon Bae Kim, Eunsil Yu, Young-Hwa Chung, Yung Sang Lee, Jung Sik Park. Treatment of Hepatitis B Virus Associated Glomerulonephritis with Recombinant Human Alpha Interferon. Am J Nephrol 1997;17:112-7.
  15. Alessandra Mangia, Young-Hwa Chung, Jay H. Hoofnagle, Larry Birkenmeyer, Isa Mushahwar, Adrian M. Di Bisceglie. Pathogenesis of Chronic Liver disease in Patients with Chronic Hepatitis B virus Infection Without Serum HBeAg. Dig Dis Sci 1996;41:2447-52.
  16. Doong SL, Tsai CH, Schinazi RF, Liotta DC, Cheung YC. Inhibition of replication of hepatitis B virus in vivo by 2', 3'- dideoxy-3'-thiacytidine and related analogue. Proc Natl Sci USA 1991;88:8495-9.
  17. Chang CN, Doong SL, Zhou JH et al. Deoxy deaminase-resistant stereoisomer is the active form of (+/-)-2', 3'- dideoxy-3'- thiacytidine in the inhibition of hepatitis B virus replication. J Biol Chem 1992;12267:13938-42.
  18. Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, Barthomew M, Vicary C, Rubin M, A Preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. N Eng J Med 1995;21:333:1657-61.
  19. Byung-Cheol Song, Dong Jin Suh, Han Chu Lee, Young-Hwa Chung, Yung Sang Lee. Hepatitis B e Antigen Seroconversion After Lamivudine Therapy Is Not Durable in Patients With Chronic Hepatitis B in Korea. Hepatology 2000;32:803-6.
  20. Nevens F, Main J, Hankoop P, et al. Lamivudine therapy for chronic hepatitis B:a six month randomised dose-ranging study. Gastroenterology 1997;113:1258-63.
  21. Lai CL, Chien RN, Leung LW, et al. A one-year trail of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia hepatitis lamivudine study group. N Eng J Med 1998;9:339:61-8.
  22. Johnson MA, Moore KH, Yeun GJ, Bye A, Pakes GE. Clinical pharmacokinetics of lamivudine. Clin Phamacokinet 1999;36:41-66.
  23. Johnson MA, Horak J, Brenel P. The pharmacokinetics of lamivudine in patients with impaired

- hepatic function. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; 54:363-6.
24. Zeusem S, deMan RA, Hankoop P, Roth WK, Schalm SW, Schmidt JM. Dynamics of hepatitis B virus infection in vivo. *J Hepatol* 1997;27:431-6.
  25. Perrillo R, Rakela J, Dienstag J, et al. Multicenter study of lamivudine therapy for hepatitis B after liver transplantation. Lamivudine transplant group. *Hepatology* 1999;29:1581-6.
  26. Weissberg JI, Andress LL, Smith CI, et al. Survival in chronic hepatitis B: an analysis of 379 patients. *Ann Intern Med* 1984;101:613-6.
  27. Wu PC, Lai CL, Lan KC, Ho J. Prednisone in HBsAg-positive chronic active hepatitis: Histologic evaluation in a controlled prospective study. *Hepatology* 1982;2:777-83.
  28. Perrillo RP. Interferon therapy for chronic type B hepatitis: The promise comes of ages. *Gastroenterology*. 1986;96:532-8.
  29. Dienstag J, Schiff E, Wright T, Perrillo RP, Hann HW, Crowther L, Woessner M, Robin M, Broun N and lamivudine study group. Lamivudine treatment for one year in previously untreated U.S. hepatitis B patients: histologic improvement and hepatitis BE-antigen (HBeAg) seroconversion.
  30. Suzuki Y, Kumada H, Ikeda K, Chayama K, Arase Y, Saitosh S, Tanbota A, Kobayashi M, Koike M, Ogawa N, Tanikawa K. Histological changes in liver biopsies after one year of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis infection. *J Hepatol* 1999;30:743-8.
  31. Liaw YF, Lai CL, Leung NWY, Chang TT, Guan R, Tai DI, Wu PC, Roman LC, Dent JC, Chang DF. Two year lamivudine therapy in chronic hepatitis B infection: results of a placebo controlled multicentre study in ASIA. 1998:A1289.
  32. Hoofnagle JH, Peters M, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie AM, Hallahan C, Park Yoon et al. Randomized controlled trials of recombinant human  $\alpha$ -interferon in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1988;95: 1318-25.
  33. Brook MG, Karayiannis P, Thomas HC. Which patients with chronic hepatitis B virus infection will respond to  $\alpha$ -interferon therapy? A statistical analysis of predictive factors. *Hepatology* 1989;10:761-3.
  34. Perrillo RP, Schiff ER, Davis GL, Bodenheimer HC, Lindsay K, Payne J, Dienstag JL, et al. A randomized controlled trial of interferon alfa-2b and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1990;323:295-301.
  35. Di Bisceglie AM, Fong TL, Fried MW, Swain MG, Baker B, Korenman J, Bergasa NV, et al. A randomized, controlled trial of recombinant  $\alpha$ -interferon therapy for chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;88:1887-92.
  36. Korenman J, Baker B, Waggoner J, Everhart JE, Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Long-term remission of chronic hepatitis B after  $\alpha$ -interferon therapy. *Ann Int Med* 1991;114:629-34.
  37. Wong DKH, Cheung AM, O' Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of  $\alpha$ -interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B: meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993;119:312-23.
  38. Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, H ussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients with interferon  $\alpha$  for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996;334:1422-7.
  39. Lau DTY, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, Hoofnagle JH. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon  $\alpha$ . *Gastroenterology* 1997;113:1660-7.
  40. Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effects of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B

- virus infection. *Hepatology* 1999;29:971-5.
41. Lok ASF. Hepatitis B infection: pathogenesis and management. *J Hepatol* 2000;32:89-97.
  42. Torresi J, Locarnini S. Antiviral chemotherapy for the treatment of hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;118:S83-103.
  43. Lok ASF, Lai C-L, Wu P-C, Leung EKY. Long-term follow-up in a randomized controlled trial of recombinant  $\alpha 2$ -interferon in Chinese patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1988;298-302.
  44. Lok ASF, Chung HT, Liu VWS, Ma OCK. Long-term follow-up of chronic hepatitis B patients treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1993;105:1833-8.
  45. Lok ASF. Antiviral therapy of the Asian patients with chronic hepatitis B. *Sem Liver Dis* 1993;13:360-6.
  46. Chisari FV, Ferrari. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol* 1995;13:29-60.
  47. Janssen HL, Berk L, Schalm SW, Heijtkink RA, Hess G, Rossol S, Meyer zum Buschenfelde KH, et al. Antiviral effect of prolonged intermittent lymphoblastoid alpha interferon treatment in chronic hepatitis B. *Gut* 1992;33:1094-8.
  48. Janssen HL, Gerken G, Carrero V, Marcellin P, Naoumov NV, Craxi A, Ring-Larsen H, et al. Interferon alfa for chronic hepatitis B infection: increased efficacy of prolonged treatment. *Hepatology* 1999;30:238-43.
  49. Wu T-T, Coates L, Aldrich CE, Summers J, Mason WS. In hepatocyte infected with duck hepatitis B virus, the template for viral RNA synthesis is amplified by an intracellular pathway. *Virology* 1990;175:255-61.
  50. Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Hoofnagle JH. Hepatitis B virus deoxynucleic acid in liver of chronic carrier. *Gastroenterology* 1987;93:1236-41.
  51. Lok ASF, Ma OCK, Lau JYN. Interferon alpha therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection: effect on hepatitis B virus DNA in the liver. *Gastroenterology* 1991;100:756-61.
  52. Lioriot M-A, Marcellin P, Bismuth E, Martinot-Peignoux M, Boyer N, Degott C, Erlinger S, et al. Demonstration of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in the serum and the liver after spontaneous or therapeutically induced HBeAg to anti-HBe or anti-HBs seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992;15:32-6.
  53. Bonino F, Hoyer B, Nelson J, Engle R, Verme G, Gerin J. Hepatitis B virus DNA in the sera of HBsAg carrier: a marker of active hepatitis B virus replication in the liver. *Hepatology* 1981;1:386-91.
  54. Hu KQ, Vierking JM. Molecular diagnostic techniques for viral hepatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1994;23:479-98.
  55. Chan HL, Ghany MG, Lok ASF: Hepatitis B. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. *Schiff's disease of the liver*. Volume 1. 8th ed. Philadelphia: Lippincott-Ravens, 1999;757-91.
  56. Davis GL, Hoofnagle JH, Waggoner JG. Spontaneous reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1984;86:230-5.