

2007년 유럽간학회 토픽

비알코올지방간질환 관련 분야

연세대학교 의과대학 내과학교실 영동세브란스병원 소화기내과

백 용 한

Topics Related to NAFLD

Yong Han Paik, M.D., Ph.D.

Department of Internal Medicine, Institute of Gastroenterology,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

2007년 스페인 바르셀로나에서 열린 제42회 유럽간학회에서는 NAFLD 분야에서 8개의 구연과, 51개의 포스터 연제가 발표되었다. NAFLD의 발생기전에서 인슐린 저항성과 관련된 연구들이 많았으며 NAFLD의 치료와 관련한 새로운 약제들의 동물실험 및 임상 결과들도 발표되었다. NAFLD 관련분야 중 임상 및 기초연구에서 관심을 끄는 내용들을 아래에 요약하였다.

1. NAFLD 환자에서 주당 알코올 섭취량 및 간헐적인 과음(episodic heavy drinking)과 간섬유화 진행과의 관련성. (Abstract 19)¹

인슐린 저항성과 알코올 섭취는 지방간을 유발하는 두 가지 중요한 요인들이다. 본 연구에서 NAFLD 환자에서 알코올의 섭취량과 음주 행태가 간섬유화 진행에 영향을 주는지 알아보고자 하였다. 1988~1993년 사이에 총 129명의 NAFLD 환자가 등록되었고 모든 환자는 임상, 생화학 검사 및 간조직검사를 받았다. 그 중 본 연구에 동의한 환자들은 추적 검사 및 간조직검사를 받았다. 알코올 섭취량 및 간헐적 과음(episodic heavy drinking) 여부는 설문지를 이용하여 조사하였으며 간헐적인 과음은 남자는 일회 60 g 이상, 여자는 48 g 이상

의 알코올을 섭취한 경우로 정의하였다. 추적관찰 동안 25명의 NAFLD 환자가 사망하였다. 나머지 104명의 환자 중 68명이 추적관찰에 동의하였고 추적 간조직검사를 시행받았다. 평균 추적관찰기간은 13.8년이였다. 첫 번째와 두 번째 간조직검사 사이에 간섬유화 정도는 27명(40%)에서 진행되었다. 간섬유화가 진행된 군이 그렇지 않은 군보다 주당 알코올 섭취량이 많았으며(47.3 ± 45.2 g vs. 29.3 ± 36.5 g, $P=0.04$), 최소 한 달에 1회 이상 간헐적 과음을 하는 경우가 많았다(33% vs. 9.8% , $P=0.026$).

결론: NAFLD 환자에서 알코올의 섭취량이 많거나 간헐적인 과음을 하는 음주 행태는 간섬유화 진행과 관련이 있다.

2. 만성 C형간염 환자에서 바이러스 증식과 인슐린 저항성과의 관계 (Abstract 21)²

본 연구에서는 대규모의 만성 C형간염 환자 코호트에서 C형간염바이러스 및 대사 요인들이 인슐린 저항성에 미치는 영향을 조사하였다. 466명의 만성 C형간염 환자와 42명의 만성 B형간염 환자에서 간조직검사를 시행하였다. 대상 환자들에서 대사증후군의 유무를 조사하였으며 과체중은 BMI

>25 kg/m²로 정의하였고 인슐린 저항성은 HOMA>3으로 정의하였다. HCV RNA 정량은 Bayer's VERSANT[®] HCV RNA 3.0 assay를 이용하였으며 간조직의 병리 소견은 METAVIR점수를 사용하였다. 만성 C형간염 환자는 남자가 56%를 차지하였고 평균 나이는 47세였으며 평균 BMI는 24.8이었다. 대사증후군과 인슐린 저항성은 각각 11%, 35%에서 관찰되었다. 평균 혈중 HCV RNA 양은 1.08×10^6 IU/mL였다. 간 병리조직 소견상 중증 지방증은 32%에서 관찰되었고 F2~F4의 간섬유화는 54%에서 관찰되었다. 다변량 분석상 인슐린 저항성은 과체중(OR=4.8, $P<0.001$), F2~F4 간섬유화(OR=2.4, $P<0.001$), 중증 지방증(OR=1.8, $P=0.01$), 높은 바이러스 수치(OR=1.6, $P=0.04$) 등과 연관이 있었다. BMI가 25 미만인 환자(252명)만을 대상으로 보았을 때 혈중 바이러스 수치가 높은 경우에 HOMA점수가 의미 있게 높았다(2.8 vs. 1.9, $P=0.01$). 이 그룹에서 인슐린 저항성은 높은 바이러스 수치(OR=2.4, $P=0.009$), A2~A3 피사 염증 정도(OR=2, $P=0.04$), F2~F4 간섬유화(OR=2, $P=0.04$)와 연관이 있었다. 만성 B형간염 환자는 만성 C형간염 환자보다 인슐린 저항성 환자가 유의하게 적게 관찰되었다.

결론: 인슐린 저항성은 HCV 감염과 관련이 있으며 대사증후군이 없는 경우 HCV 증식은 인슐린 저항성의 직접적인 원인이 될 수 있다.

3. 형질전환 마우스에서 C형간염바이러스에 의한 지방간 발생 기전 (Abstract 16)³

만성 C형간염에서 간내지방증이 흔히 관찰된다. 간세포 세포질 내의 지방 축적은 대사 원인 또는 C형간염바이러스, 특히 제3형 유전자형 바이러스가 직접적인 원인이 되어 발생할 가능성이 있다. 그러나 아직 C형간염바이러스에 의해 유발되는 간지방증의 기전은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 C형간염바이러스의 전체 Open reading frame 유전자를 발현하는 형질전환 마우스를 이용하였다. 이 HCV 형질전환 마우스는 간세포 내에 중성지방으로 주로 구성된 지방소적이 축적되어 지방간

이 유발되었다. Lipoprotein lipase 억제제인 Triton WR1339를 형질전환 마우스와 대조군 정상 마우스에 투여하였을 때 대조군에 비하여 형질전환 마우스의 간에서 중성지방 및 Apo B 분비가 약 30% 더 감소하였다. SREBP1c는 fatty acid synthase (FAS)를 활성화하여 간내 지방산 합성하는데 필수적인 역할을 담당한다. HCV 형질전환 마우스는 정상 마우스에 비하여 SREBP1c와 FAS의 발현이 약간 증가되어 있었다. ER stress는 SREBP1c의 활성화를 통해 간내 중성지방 합성을 증가시킨다. HCV 형질전환 마우스에서 ER stress 지표들을 조사한 결과 대조군과 큰 차이가 없어 ER stress는 HCV 형질전환 마우스의 지방간 발생에 중요한 인자는 아니라고 생각된다.

결론: HCV 형질전환 마우스의 간세포에 중성지방으로 구성된 지방소적이 축적되며 그 기전은 간세포에서 VLDL의 분비 장애 때문으로 생각된다.

4. Adipokine과 NAFLD의 관계: 대사, 생화학, 간초음파, 조직소견 (Abstract 695)⁴

Adipokine들은 NAFLD 환자에서 간손상의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 본 연구는 NAFLD의 중증도를 예측할 수 있는 비침습 인자들을 알아보기 위해 혈중 adipokine들 (TNF- α , IL-6, leptin, adiponectin)과 NAFLD의 여러 가지 임상적 인자(waist-to-hip 비율, BMI, 혈청생화학검사 소견) 및 조직 소견 간의 연관성을 조사하였다. 대상은 54명의 NAFLD 환자와 44명의 대조군으로 하였다. 지방증 점수(0~3), perihepatic adipose tissue thickness (PATT)는 초음파검사로 측정하였다. NAFLD 환자에서 중심성 비만, 제2형 당뇨, 고지혈증의 빈도가 유의하게 높았다. ALT, gammaGT, insulin, HOMA-IR, cholesterol, triglyceride, ferritin 등과 adiponectin을 제외한 adipokine들은 NAFLD 환자에서 의미 있게 높았다. PATT는 NAFLD 환자에서 대조군보다 유의하게 높았다(14.0 mm vs. 7.7 mm, $P<0.001$). NAFLD 환자에서 초음파상 지방증의 정도는 PATT 및 조직의 지방증 정도와 상관성이 있었다.

ALT 수치는 초음파상 지방증 정도와 조직의 지방증 정도와 모두 상관성이 있었다. Adiponectin은 초음파상 지방증 정도 및 insulin과 음의 상관관계가 있었다. TNF- α , IL-6, leptin은 HOMA-IR, BMI, 초음파상 지방증 정도, PATT와 양의 상관성이 있었으며 IL-6는 조직의 염증 정도 및 간섬유화 정도와 양의 상관성이 있었다.

결론: NAFLD 환자에서 adipokine들과 ALT, HOMA-IR, PATT는 초음파상 지방증 정도와 연관성이 있었다. Waist-to-hip 비율, PATT, 혈청 IL-6 수치는 NAFLD 환자 중 치료를 요하는 그룹의 선정에 도움을 주는 비침습 인자로 쓰일 수 있다.

5. NAFLD 환자에서 pentoxifylline의 치료 효과: 무작위 위약 대조연구 (Abstract 701)⁵

본 연구는 NAFLD 환자에서 TNF- α 억제제인 pentoxifylline의 치료 효능 및 안정성을 조사하기 위해 시행되었다. 32명의 조직으로 NAFLD가 증명된 환자를 대상으로 하였으며 모든 환자는 6개월 이상 ALT 수치가 정상 상한선의 1.5배 이상 증가되어 있었다. 환자들은 무작위로 두 군으로 나뉘어 치료군은 pentoxifylline을 400 mg tid로 6개월간 복용하였으며 위약군은 위약을 복용하였다. 치료 전후의 AST, ALT, 인슐린 저항성(HOMA-IR), TNF- α , adiponectin 수치를 비교하였다. 대상 환자들의 평균 연령은 48.9세였으며 남자가 19명(59%)이었고 BMI>30 kg/m²인 비만자는 5명(15.6%)이었고 당뇨 환자가 5명, 이상지질혈증 환자가 27명(84.4%)이었다. 치료 전 양군 사이의 임상 특징은 차이가 없었다. 평균 혈청 ALT 수치는 치료군에서 치료 후에 의미 있게 감소하였으며(71.2 \pm 40.39 vs. 10.12 \pm 42.29, $P=0.0003$) 대조군에서는 차이가 없었다. Pentoxifylline 치료군이 위약군에 비하여 더 많은 환자에서 BMI, HOMA-IR, 혈청 TNF- α 수치의 호전을 보였으나 양군 사이에 통계적인 차이는 없었다. Pentoxifylline 치료군에서 한 명의 환자가 오심 증상으로 중도 탈락하였으며 그 외에 심각한 부작용은 없었다.

결론: NAFLD 환자에서 pentoxifylline 치료 후 ALT 수치가 감소하였다, 그러나 본 연구에서는 치료 후 간조직검사가 시행되지 않아 조직의 호전 여부는 알 수 없는 한계가 있다.

6. 마우스 지방간염 모델에서 Curcumin에 의한 간섬유화 억제 효과 (Abstract 713)⁶

NASH는 가장 흔한 간질환이며 간경변과 간세포암종으로 발전할 수도 있다. 산화 스트레스는 NASH 환자에서 간섬유화 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Curcumin은 Curcuma longa라는 식물에서 유래한 색소물질로서 강력한 항산화 효과가 있는 것으로 알려졌다. 본 연구는 지방간염의 동물모델에서 curcumin의 항섬유화 효과를 조사하였다. 수컷 C57Bl/6 마우스를 대상으로 methionine 및 choline 결핍 식이(MCD군) 또는 대조 식이(CD군)를 10주간 투여하였다. Curcumin (250 μ g/ 마우스) 또는 용매 DMSO는 주 2회 복강 내 주사로 투여하였다. 동물은 4, 8, 10주째에 각각 희생하였다. 10주 뒤 MCD 마우스에서 간/몸 무게 비는 curcumin군이 용매군보다 낮았다(4.5 \pm 0.3 vs. 5.6 \pm 1.6%, $P=0.08$). 4주째 MCD 마우스에서 ALT 수치는 curcumin군이 용매군보다 낮았다(30 \pm 15 vs. 100 \pm 41, $P<0.001$). 대조 식이를 투여한 마우스에서는 curcumin 투여 여부와 관계없이 간조직에 영향을 미치지 않았다. MCD 마우스에서 8주째 간조직 괴사 염증 수치는 curcumin군에서 용매군 보다 의미 있게 낮았다(중양값 2.0 vs. 3.0, $P<0.05$). MCD 마우스에서 10주째 간조직 섬유화 정도는 curcumin군에서 용매군보다 의미 있게 낮았으며(중양값 0.0 vs. 1.5, $P<0.05$) 제1형 procollagen, TIMP-1, TGF- β mRNA 양도 낮았다.

결론: 마우스 지방간염 모델에서 curcumin은 간내 괴사 염증반응과 간섬유화 억제 효과를 보였다.

7. NASH에서 간세포 세포사와 재생에 APRIL-BAFF 신호전달이 관여 (Abstract 742)⁷

NASH 환자에서는 간세포의 세포자멸사가 관찰

된다. TNF- α 와 그 수용체, B cell activating factor of the TNF family (BAFF)와 a proliferating inducing ligand (APRIL)는 세포자멸사와 염증반응에 관여한다. 특히 BAFF와 APRIL은 B cell 증식과 악성 종양, 여러 자가면역질환들의 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에선 123명의 NASH 환자를 대상으로 혈중 TNF- α , apoptosome 30, cytochrome c, caspase 3 활성도 등을 ELISA 방법으로 측정하였다. 35명의 NASH 환자에서 간조직검사를 시행하여 전자현미경 및 면역조직염색검사를 시행하였다. BAFF와 APRIL은 multiplexed protein quantification assay로 측정하였다. 560명의 건강한 자원자를 대조군으로 하였다. TNF- α 수치는 NASH군에서 정상 대조군보다 의미 있게 높았다(92 ± 26 vs. 50 ± 15 , $P < 0.001$). TNF- α 수치는 조직의 활성도(histologic activity index)와 상관성이 있었다. NASH 환자에서 정상 대조군보다 apoptosome 30, cytochrome c, caspase 3 활성도가 높게 나타났다($P < 0.001$). APRIL 및 BAFF는 NASH 환자에서 정상 대조군보다 높게 나타났으며($P < 0.05$) APRIL 수치는 NASH 환자에서 Kupffer세포 수와 양의 상관관계를 보였다. BAFF/April은 death ligand/receptor 경유 세포자멸사를 억제하는 기능을 가지므로 NASH 환자의 간에서 발생하는 세포자멸사의 복구에 관여할 가능성이 있다.

결론: 본 연구는 NASH 환자에서 최초로 B cell 활성화 인자와 간손상 간의 관계를 조사하였으며 NASH에서 BAFF/April의 역할에 대해서는 향후 연구가 더 필요하다.

8. NASH 환자에서 rosiglitazone에 대한 무작위 이중맹검 연구에서 효과 판정에 있어 비침습 바이오마커의 조합(Fibromax)의 유용성 (Abstract 755)⁸

NASH 환자에서 치료제의 효과 판정 방법의 표준은 간조직검사를 시행하여 지방증, 염증 정도, 섬유화를 판단하는 것이다. 그러나 간조직검사는 합병증의 위험이 있고 검체채취 오류의 문제, 판독

자간의 불일치성 등 문제가 있다.

Fibromax는 SteatoTest, NashTest, FibroTest를 병합한 비침습 검사 방법으로 최근 간조직검사를 대체할 가능성이 있는 검사로 제시되고 있다. 본 연구에서는 간조직검사로 확진된 63명의 NASH 환자에서 rosiglitazone (n=32)과 위약(n=31)을 무작위로 배정하여 1년간 투약하고 치료 후 추적 간조직검사를 시행하였다. Fibromax의 측정은 치료 전, 치료 시작 4, 8, 12개월째와 치료 종료 후 4개월째에 각각 시행하였다. 간조직검사 결과에서 rosiglitazone군은 47% (15/32)에서, 위약군은 16% (5/31)에서 지방증이 30%이상 감소하는 조직의 반응이 나타났다. 간섬유화가 더 진행된 경우는 rosiglitazone군과 위약군에서 각각 1/32명, 6/31명 있었다($P < 0.05$). Fibromax 측정 결과 rosiglitazone군은 위약군에 비해서 치료 후 의미 있게 낮은 지방증과 간섬유화 수치를 나타내었으나 NashTest는 유의한 차이를 보이지 않았다. SteatoTest결과는 rosiglitazone군에서 0.71→0.64로 감소했으나 위약군에선 0.75→0.73으로 변화가 없었으며($P = 0.004$), FibroTest 결과는 rosiglitazone군에서 0.44→0.37로 감소했으나 위약군에선 0.43→0.45으로 변화가 없었다($P = 0.04$).

결론: NASH 치료제의 효과 판정에서 Fibromax는 치료반응에 대한 변화를 잘 보여주었으며 간조직검사의 대안으로 사용될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Ekstedt M, Franzen LE, Bendtsen P, Mathiesen UL, Bodemar G, Kechagias S. Weekly alcohol consumption and episodic drinking are associated with progression of hepatic fibrosis in NAFLD. J Hepatol 2007;46(Suppl):10.
2. Moucari R, Asselah T, Paradis V, Voitot H, Sobesky R, Martinot-Peignoux M, et al. Insulin resistance in 424 chronic hepatitis C patients: association with HCV replication and advanced fibrosis. J Hepatol 2007;46(Suppl):11.
3. Lerat H, Foufelle F, Pawlotsky IM. Mechanisms of hepatitis C virus (HCV)-induced hepatic steatosis in transgenic mice. J Hepatol 2007;46(Suppl):9.
4. Azzalini L, Lirussi F, Plebani M, Vitturi N, Poci C, Orlando R, Realdi G. Adipokines and non-alcoholic fatty liver

- disease (NAFLD): association with metabolic, biochemical, ultrasonographic and histological features. *J Hepatol* 2007; 46(Suppl):262.
5. Buranawuti W, Thong-u-thaisri P, Pramoolsinsap C, Wisedopas N, Atamasirikul K, Udomsubpayakul U. Pentoxifylline for treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A randomized, placebo-controlled study. *J Hepatol* 2007;46(Suppl):264.
 6. Vizzutti F, Provenzano A, Galastri S, Delogu W, Milani S, Novo E, et al. Curcumin inhibits the fibrogenic progression of murine steatohepatitis. *J Hepatol* 2007;46(Suppl):269.
 7. Neuman MG, Cameron RG, Hernandez-Angulo P, Braun M, Blendis LM, Malnick S. APRIL-BAFF signalling for apoptosis and repair in non-alcoholic-steato-hepatitis. *J Hepatol* 2007;46(Suppl):279.
 8. Munteanu M, Poynard T, Charlotte F, Jacqueminot S, Messous D, Podevin P, et al. Utility of a combination of non-invasive biomarkers (FibroMAX) in assessing the efficacy of rosiglitazone in a one year randomized, double-blind trial in nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 46(Suppl):283.