

REVIEW ARTICLE

## 비알코올 지방간 질환에서 간섬유화의 진행

김문영

연세대학교 원주의과대학 내과학교실

### The Progression of Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease

Moon Young Kim

Department of Internal Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Understanding the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and its fibrosis progression is still evolving. Nonetheless, current evidence suggests that mechanisms involved are very complex parallel processes with multiple metabolic factors. Lipotoxicity related with excess saturated free fatty acids, obesity, and insulin resistance acts as the central driver of cellular injury via oxidative stress. Hepatocyte apoptosis and/or senescence are also contribute to the activation of inflammasome via various intra- and inter-cellular signaling mechanisms that lead to fibrosis. Current evidence suggests that periportal components, including ductular reaction and expansion of the hepatic progenitor cell compartment, may be involved and that the T-helper 17 cell response may mediate disease progression. This review aims to provide a brief overview of the pathogenesis of NASH and fibrosis progression from inflammation to fibrosis. (**Korean J Gastroenterol 2017;69:341-347**)

**Key Words:** Non-alcoholic fatty liver disease; Fibrosis; Inflammation; Insulin resistance

## 서 론

비알코올 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 만성 간 질환으로, 제2형 당뇨병, 비만 및 대사증후군과 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다.<sup>1</sup> 지역마다 다소 빈도의 차이는 있으나 전 세계적으로 평균 약 20%의 환자가 NAFLD에 이환되어 있는 것으로 보고되어 있으며, 이 중 일부에서는 지방간염 및 간섬유화의 진행을 거쳐 간경변으로 진행되는 것으로 알려져 있다.<sup>2</sup> NAFLD 중 단순 지방증(simple steatosis)이 비알코올 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)으로 진행하는지 혹은 NASH가 단순 지방증과는 처음부터 분명히 다른 질환인지의 여부는 확실하지 않으나, 일반적으로 단순 지방증이 느린 조직학적 진행을 보이는 반면에 NASH는 보다 빠른 조직학적 진행을 보이며 간경변

으로 진행할 수 있음은 잘 알려져 있다.<sup>1</sup> NASH 환자의 10-29%는 10년 이내 간경변이 발생하며, 그중 4-27%는 간암으로 진행된다.<sup>3,4</sup>

초기에 NASH의 발병은 순차적인 자극(hit)에 의한 것으로 이해되어, 간 내 지방의 침착이 우선 이루어지고 이후 이차적 자극에 의해 간실질의 염증, 지방괴사 및 간섬유화가 일어나는 것으로 이해되었다(two hit theory). 그러나 현재는 더 복잡하고 다양하게 병행되는 대사성 자극들에 의해 조직 손상과 질병의 진행이 이루어지는 것으로 이해되고 있다(multiple parallel theory). NASH의 발병에 있어서 지질독성(lipotoxicity)과 인슐린 저항성(insulin resistance), 산화 스트레스(oxidative stress)에 의한 간세포의 손상이 가장 중심에 있으며, 간세포의 사멸과 이에 따른 일련의 염증 반응과 섬유화의 진행이 주요 기전으로 알려져 있다. 간섬유화는 이러한 일련의 과정

Received May 25, 2017. Revised June 2, 2017. Accepted June 4, 2017.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.  
Copyright © 2017. Korean Society of Gastroenterology.

교신저자: 김문영, 26426, 원주시 일산로 20, 연세대학교 원주의과대학 원주세브란스기독병원 소화기내과

Correspondence to: Moon Young Kim, Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Wonju Severance Christian Hospital, Yonsei University Wonju College of Medicine, 20 Ilisan-ro, Wonju 26426, Korea. Tel: +82-33-741-1229, Fax: +82-33-741-1228, E-mail: drkimmy@yonsei.ac.kr

Financial support: None. Conflict of interest: None.

을 통한 NASH 진행의 최종 산물로, NAFLD 또는 NASH 환자에서 모든 사망 또는 간 질환 관련 사망 예후를 예측함에 있어 간섬유화의 정도가 가장 관련성이 높다는 최근의 보고는 NAFLD의 다양한 현상 중에서도 간섬유화의 중요성을 보여주는 것이며, 향후 치료의 주요 목표가 간섬유화가 되어야 함을 시사하는 것이라 할 수 있다.<sup>5,6</sup> 이에 본문에서는 최근에 NAFLD와 관련하여 제시되고 있는 간섬유화의 기전을 간략히 살펴보고자 한다.

## 본 론

섬유화의 진행과 염증 반응은 분리해서 생각할 수 없으며 하나의 연속선상에 있는 병적과정이라 할 수 있다.<sup>7</sup> 염증 반응의 지속은 섬유화를 유발하고, 결국 간경변으로 이르게 하는 주요 기전이 된다. 만성 간 질환에서 간 내 섬유화는 원인질환에 따라서 다소 다른 양상을 보일 수 있다. 일반적으로 어른의 NASH에서의 섬유화 초기에는 주로 간엽의 간실질을 침범하는 'chicken wire' 양상으로 불리는 peri-cellular 부위의 망상(reticular network pattern)의 섬유화 양상을 보이게 된다.<sup>8</sup> 그러나 소아의 NASH에서는 그 양상이 달라서 문맥섬유화(portal fibrosis)의 양상을 주로 보이게 된다.<sup>9-11</sup> NASH에 의한 섬유화가 이와 같이 다양한 양상을 보이는 이유는 명확하지 않지만, 섬유화 유발에 이르는 다양한 기전과 유전적 조건 및 세포 간의 복잡한 상호작용에 의한 것으로 추정된다.<sup>11</sup> 그러나 섬유화가 진행되면 결국 문맥섬유화가 발생하게 되고 간경변에 이르게 된다. 일반적으로 문맥섬유화를 동반하지 않는 경우에는 장기간 추적에서 간 관련 합병증의 발생이 적은 것으로 알려져 있으며,<sup>12</sup> 결국 문맥을 중심으로 한 염증의 침윤과 섬유화의 진행이 간세포 내 지방의 침착과 간엽 내의 염증보다는 질환의 진행에 있어서 더 중요한 것으로 알려져 있다.<sup>13,14</sup>

간섬유화는 여러 자극에 의해 활성화된 근섬유아세포(myofibroblastic cell)가 콜라겐을 비롯한 일련의 세포 외 물질(extra-cellular matrix)을 만들어 내고 과다하게 간 내에 침착되는 과정이며, 간 성상세포(hepatic stellate cell)는 활성화되어 간 내 근섬유아세포의 대부분을 이룬다. 간 성상세포는 주로 비활성화 상태로 간 내 동모양혈관(sinusoid)과 간세포 사이에 위치하여 있으며, 만성 염증에 의해 활성화되고 병변 부위로 이동하여 일련의 섬유화 작용을 일으키게 된다. 활성화된 간 성상세포는 transforming growth factor-beta (TGF $\beta$ )를 비롯한 여러 사이토카인(cytokines)과 케모카인(chemokines)을 분비하여 자체의 활성을 유지하고, 동시에 다른 세포들의 활성을 증가시켜 지속적인 염증과 섬유화 반응을 일으키게 된다. 이러한 일련의 섬유화 과정은 간 손상의 유발 원인에 따라

염증에서 섬유화로 이어지는 기전에 다소의 차이가 있을 수 있으나, 실제 섬유화가 일어나는 단계에서는 근섬유아세포를 중심으로 공통적인 기전과 양상을 보인다. 따라서 본문에서는 간 성상세포를 중심으로 하는 공통적인 간섬유화 과정보다는 NASH에서 간 성상세포의 활성을 유발하는 일련의 과정에 중점을 두고 기술하고자 한다.

### 1. 지질독성과 인슐린 저항성(lipotoxicity and insulin resistance)

지질독성은 NASH의 진행에 있어서 가장 중요한 기전으로 알려져 있다. 기존에 알려진 간 내 단순 중성지방 침착의 증가나 간세포로부터 지질배출의 감소 자체는 염증을 유발하지 않으며,<sup>15,16</sup> 오히려 일부 연구에서는 중성지방의 침착이 지질독성을 막는 효과를 보이는 것으로 보고되고 있다.<sup>17,18</sup> 지질독성에 의한 손상은 과도한 자유 지방산(free fatty acid), 특히 포화 자유 지방산(saturated free fatty acids)에 의해 나타나며, 이들에 의한 독성 대사산물의 생성이 질환의 진행에 있어서 중요한 역할을 한다.<sup>19</sup> 식이, *de novo* 지방생성(lipogenesis) 또는 인슐린 저항성에 동반된 지방질의 용해(adipose lipolysis)에 의한 포화 자유 지방산의 증가는 결국 ceramides, diacylglycerols, lysophosphatidyl choline과 같은 지질독성 물질을 증가시키며, 이들은 산화 스트레스와 작용하여 지질독성을 유발하게 되고, 만성적인 염증 상태를 유발하게 된다.<sup>19-21</sup> 비만은 인슐린 저항성의 발현과 toll-like receptor (TLR) 4/nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B)를 통한 전염증성 신호체계(pro-inflammatory signaling) 활성화에 중요한 역할을 하는데,<sup>22</sup> 인슐린 저항성에 따른 만성적인 고인슐린혈증은 골격근과 간 내 인슐린 신호 체계의 장애를 가져오고 간 내 지방 침착을 유발한다.<sup>23</sup> 인슐린 저항성에 의해 지방조직은 과도하게 자유 지방산을 생성하고, 이를 통해서 간 내 지방과 독성 지질 물질을 축적시키며, 이는 다시 인슐린 저항성을 악화시키는 악순환을 유발하게 된다.<sup>24</sup> 비만에 의한 말초 지방조직은 전염증성 tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ )와 interleukin-(IL-) 6의 생성 증가를 통해서도 염증과 인슐린 저항성의 증가에 중요한 역할을 한다.<sup>25</sup> 고인슐린혈증과 인슐린 저항성은 지방조직의 c-Jun N-terminal kinases (JNK)-1 신호 체계의 증가에 의해서도 유발되는데, 이는 말초 지방조직에 의해 만들어지는 염증 물질이 NASH를 유발하는 주요 원인이 될 수 있음을 시사한다.<sup>26</sup> 포화 지방산은 또한 미토콘드리아의 활성 산소를 증가시키고, 이는 다시 JNK의 활성화와 세포의 인슐린 저항성을 증가시키게 된다.<sup>27</sup> 이와 같이 비만에 의한 인슐린 저항성과 포화 자유 지방산의 증가와 이로 인한 산화 스트레스 및 지질독성의 증가는 간세포 손상과 NASH의 진행 및 섬유화 유발의 가장 중심에 있으며, 이후 언급하게 될 여러

다른 염증 및 섬유화 유발 기전의 방어쇠와 같은 역할을 하게 된다.

## 2. 세포사(cell death)

지질독성은 풍선양 변화(ballooning)와 세포사멸(apoptosis)에 의한 세포사멸체(apoptotic body) 생성 및 괴사(necrosis)를 유발하며, 이는 간 내 염증과 섬유화를 유발하는 주요 원인이 된다.<sup>8,28,29</sup> 세포사멸은 원래 세포사멸에 따른 세포 내 물질의 외부 유출을 억제하고, 이를 통해 염증 발생을 최소화하는 방어적인 기전의 측면을 가지고 있으나, NASH에서 관찰되는 세포사멸의 증가는 병적 상태와 연관된다. 세포사멸의 정도는 혈중 자유 지방산의 농도와 상관성이 있다.<sup>30</sup> 자유 지방산은 세포사멸과 관련 있는 tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 수용체의 간세포에서의 발현을 증가시키며,<sup>31</sup> 단순 지방간에 비해서 NASH에서 세포사멸과 관련 있는 또 다른 수용체인 Fas (cluster of differentiation 95, CD95)의 발현이 더 높게 나타난다.<sup>32,33</sup> 또한 포화 자유 지방산은 간세포 내의 endoplasmic reticulum (ER) 스트레스를 증가시켜, ER로부터 칼슘분비를 증가시키고 활성 산소의 증가 및 JNK 증가 등을 통해서 세포사멸을 유도한다.<sup>34,35</sup> 이러한 과도한 세포사멸은 간섬유화의 주요 원인이 되는데, 세포사멸체는 간 정상세포를 직접적으로 활성화시키고, TGF $\beta$ 와 같은 강력한 섬유화 관련 사이토카인 생산을 증가시킨다.<sup>36</sup>

## 3. 선천적 면역반응(innate immune response)

선천적 면역반응은 NASH와 같은 간질환의 염증 반응에 있어서 매우 중요하며, 이는 중성구, 쿠퍼세포와 같은 대식세포, 자연살해세포(natural killer cell, NK cell) 그리고 자연살해T세포(natural killer T cell, NKT cell) 등을 통해 이루어진다. 대식세포에서 분비 또는 발현되는 여러 인자들은 NASH의 중증도와 상관성을 갖고, IL-6, TGF $\beta$  등의 분비를 통해서 간 정상세포를 직접적으로 활성화시킨다.<sup>37-40</sup> 중성구는 조직 손상에 대해 최초로 염증 반응을 일으키는 세포로, IL-1수용체를 매개로 한다.<sup>41</sup> 최근 보고에 따르면 NASH 환자에서는 말초 중성구-림프구 비율이 질환이 없는 환자에 비해서 높은 것으로 보고하고 있다.<sup>42</sup> 간에 많이 존재하는 자연살해세포는 사이토카인 등의 분비에 의한 바이러스 억제 효과 등의 선천적 면역 방어 기능을 한다. NASH에서 그 수가 증가하며, interferon- $\gamma$ 를 통한 간 정상세포와 간세포의 세포사멸을 유도한다.<sup>43,44</sup> 자연살해T세포는 조직 손상에 대한 후천적 면역반응(adaptive immune response)을 담당하며 괴사염증과 관련이 있다.<sup>45</sup>

병원균이 없는 상태에서 나타나는 면역반응을 'sterile inflammation'이라고 하며, 이는 간 내 염증과 NASH에서도 중

요한 역할을 한다.<sup>46-48</sup> 이러한 반응은 주로 괴사나 자멸세포 등과 같이 손상된 세포로부터 유리되는 damage associated molecular patterns (DAMPs)에 의해 유발되며, 세포질 내의 'inflammasome'을 증가시켜 IL-1 $\beta$ 와 같은 전염증성 사이토카인의 합성을 증가시킨다.<sup>49-51</sup> 이 과정에서 TLR은 DAMPs에 대한 패턴 인식 수용체(pattern recognition receptors)로서 작용하고, 전염증성 사이토카인들과 케모카인들을 유도함으로써 간 내 염증의 유도와 진행에 매우 중요한 역할을 한다. TLR은 간 내 다양한 세포들에서 발현이 되는데, 쿠퍼세포는 TLR2, 3, 4와 9를 발현하며, 앞서 언급한 바와 같이 IL-1 $\beta$ 의 분비를 통한 면역반응을 매개함으로써 sterile inflammation의 가장 핵심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>50,52-54</sup> 이러한 TLR들은 NASH 발생에 있어서도 매우 중요하며,<sup>55-59</sup> 그 중에서도 sterile inflammation의 핵심 인자인 TLR4와 TLR9가 간세포의 자멸과 alanine aminotransferase의 상승 및 간 섬유화와 연관성이 높은 것으로 알려져 있다.<sup>55,56,60</sup> 간섬유화 모델과 간경변증 환자들에서 세균성 lipopolysaccharide (LPS)가 증가되어 있으며,<sup>61-63</sup> TLR4는 특히 LPS에 의해 선천성 면역을 활성화시킴으로써, NASH 유발에 있어 매우 중요한 역할을 한다.<sup>64-66</sup> TLR9 또한 많은 연구를 통해서 쿠퍼세포에서 IL-1 $\beta$ 의 생성과 간세포 사멸에 중요한 역할을 하며, TLR9-deficient mice를 이용한 NASH 모델에서는 지방증은 물론 간 내 염증과 섬유화가 발생하지 않는 것으로 알려져 있다.<sup>66</sup> 이와 같이 inflammasome의 활성화를 통한 IL-1 $\beta$  생성 증가는 최근 NASH 발생에 대한 연구의 중심을 이루고 있다.<sup>67-71</sup> 특히 포화 지방산이 간세포의 LPS에 대한 감수성을 증가시키고, 간세포의 자멸을 유발하고 DAMPs를 생성함으로써 결국 inflammasome을 활성화하고 IL-1 $\beta$ 를 생성한다는 점은 포화 지방산이 LPS에 의한 inflammasome의 생성과 그를 통한 지방간염의 진행에 있어서도 중심에 있음을 다시 한번 보여주고 있다.<sup>68,72,73</sup>

## 4. 후천적 면역반응(adaptive immune response)

NASH에서 문맥 주위의 만성 염증의 침윤과 진행된 섬유화가 상관성을 보이는 것을 볼 때, 후천적 면역반응 역시 질환의 발병 기전에서 매우 중요하다고 할 수 있다.<sup>13,74</sup> 동물 실험에서 T세포의 감소는 섬유화의 감소와 상관성을 보이며, 그 기전이 아직 명확하지 않으나 CD4+ T세포는 섬유아세포나 대식세포와 상호 반응을 보이는 반면 CD8+T세포는 직간접적으로 간 정상세포를 활성화시킨다.<sup>75</sup> B세포 또한 섬유화 사이토카인인 IL-4, IL-6, IL-13을 분비하며, 이들 세포의 감소는 간세포 손상 후 섬유화를 감소시킨다.<sup>76,77</sup>

전통적인 후천적 면역반응은 주로 작용하는 T-helper (Th) 세포의 종류에 따라서 염증을 유발하는 Th1과 섬유화를 촉진

하는 Th2 면역반응으로 나눌 수 있다. CD4+ T-helper세포에 의한 반응에는 조절 T세포(regulatory T cells, Treg)와 Th17 세포에 의한 것이 주목을 받고 있다.<sup>78</sup> 특히, Th17세포는 IL-17을 분비하며, 병원체가 Th1이나 Th2 면역반응에 의해 적절히 제거되지 못했을 경우 작동하는데, 선천적 면역반응과 후천적 면역반응의 연결 작용을 하여 IL-17의 주요 작용 대상인 중성구를 매개로 매우 강력히 염증 반응을 유발한다.<sup>79,80</sup> NASH에서 Th17세포의 역할은 아직 명확히 알려져 있지 않으나, 중성구의 침윤과 이들 세포의 유도에 중요한 IL-6, TGFβ 등의 증가는 본 질환의 발생에 Th17이 관여할 수 있음을 시사한다고 할 수 있다.<sup>78,81,82</sup>

5. 노화(senescence)와 hedgehog 경로

노화는 비가역적으로 손상 받은 세포의 증식을 제한하고, 그에 따라 종양 발생을 억제하는 작용을 하는 것으로,<sup>83</sup> NASH와 간세포암종을 비롯한 다양한 간 질환에서 확인이 되어왔으며, 아직까지 그 기전이 명확히 밝혀져 있지 않지만 NASH의 진행에 있어서 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.<sup>84-87</sup> 임상적으로 간세포에서 노화 관련 인자 p21의 발현은 간섬유화의 단계 및 간세포암종의 발생이나 간 질환 관련 사망 등의 임상 경과와 유의한 상관성을 갖는 것으로 보고되고 있다.<sup>86</sup>

Hedgehog (Hh)는 세포의 증식과 분화를 통한 조직 손상 회복에 중요한 역할을 하고, 그 과정에서 섬유화를 유발한다.

최근 연구에 따르면 Hh 리간드의 발현은 간세포의 손상과 유의한 상관성을 보이며, Hh는 간 정상세포의 활성화 및 염증 세포의 침윤을 유발한다.<sup>88-90</sup> Hh의 자극은 미성숙 담도 상피 세포로부터 Chemokine (C-X-C motif) ligand 16 (CXCL16)의 생산을 자극하고, 이는 자연살해T세포의 침윤과 Th1, Th2 면역반응을 유도하며, hepatic progenitor cells 활성화 및 ductular reaction과 관련성을 보인다. 또한 Hh와 그 표적이 되는 염증 물질인 osteopontin의 활성화 정도에 따라 간섬유화는 차이를 보이고, 이러한 소견은 NASH에서 나타나는 간섬유화의 이질성과 다양성을 설명하는 데 도움이 될 수 있다.<sup>88,91</sup>

결론

NASH의 병인과 간섬유화의 진행은 비만, 인슐린 저항성, 간 내 지방 침착 및 산화 스트레스에 동반된 장기간의 만성적 염증 반응에 의한 매우 복잡하고 다양한 기전에 의해 이루어진다.

과도한 포화 자유 지방산과 그에 따른 독성 대사산물의 생성에 의한 간세포 손상, 세포자멸 및 괴사에 의한 염증 반응과 사이토카인 증가는 간 정상세포를 자극하여 섬유화를 유발한다. 또한 TLR4와 TLR9에 의한 무균성의 염증 반응과 그에 따른 사이토카인의 증가(TGFβ, IL-1β 등)가 염증과 섬유화를 유발한다. 최근에는 IL-1β, TGFβ, IL-6을 매개로 하는 Th17 세포에 의한 면역 반응에 의한 문맥의 섬유화가 관심을 모으

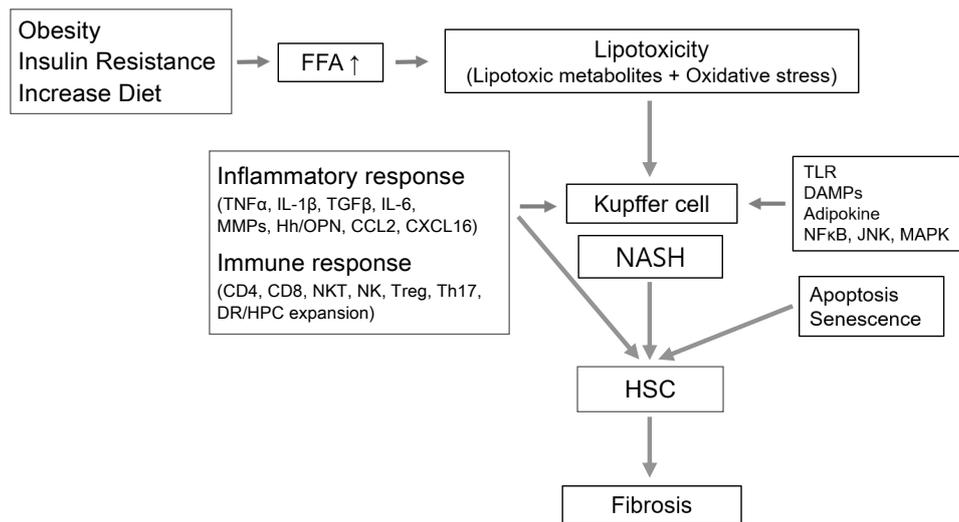


Fig. 1. Brief summary of the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis with fibrosis progression. FFA, free fatty acid; TLR, toll-like receptor; DAMPs, damage associated molecular patterns; NFκB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; JNK, c-Jun N-terminal kinases; MAPK, mitogen-activated protein kinase; TNFα, tumor necrotizing factor-alpha; IL, interleukin; TGFβ, transforming growth factor-beta; MMPs, matrix metalloproteinases; CCL2, chemokine (C-C motif) ligand 2; CXCL16, chemokine (C-X-C motif) ligand 16; CD, cluster of differentiation; NKT, natural killer T; NK, natural killer; Treg, regulatory T cell; Th17, T helper 17 cell; Hh, hedgehog; OPN, osteopontin; DR, ductular reaction; HPC, hepatic progenitor cells; NASH, non-alcoholic steatohepatitis; HSC, hepatic stellate cell.

고 있으며, 이러한 만성 염증은 재생을 위한 반응을 활성화하는데, 이를 통해서 hepatic progenitor cells 부분의 확대와 ductular reaction이 나타나고, 이는 NASH에 동반된 섬유화의 특징인 문맥 부위의 염증 침윤 및 섬유화를 반영한다(Fig. 1). 이러한 다양한 기전에 대한 이해는 결국 NASH와 그로 인한 섬유화의 치료법 개발의 근간이 되며, 향후 더 정밀한 기전에 대한 이해를 위하여 연구가 지속되어야 한다.

## REFERENCES

- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 2011;332:1519-1523.
- Chalasan N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol* 2012;107:811-826.
- Argo CK, Caldwell SH. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2009;13:511-531.
- Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* 2010;51:1820-1832.
- Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology* 2015;61:1547-1554.
- Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2015;149:389-397.e10.
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008;134:1655-1669.
- Brunt EM. Histopathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2009;13:533-544.
- Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42:641-649.
- Carter-Kent C, Yerian LM, Brunt EM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis in children: a multicenter clinicopathological study. *Hepatology* 2009;50:1113-1120.
- Skoien R, Richardson MM, Jonsson JR, et al. Heterogeneity of fibrosis patterns in non-alcoholic fatty liver disease supports the presence of multiple fibrogenic pathways. *Liver Int* 2013;33:624-632.
- Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006;44:865-873.
- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009;49:809-820.
- Richardson MM, Jonsson JR, Powell EE, et al. Progressive fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis: association with altered regeneration and a ductular reaction. *Gastroenterology* 2007;133:80-90.
- Monetti M, Levin MC, Watt MJ, et al. Dissociation of hepatic steatosis and insulin resistance in mice overexpressing DGAT in the liver. *Cell Metab* 2007;6:69-78.
- Liao W, Hui TY, Young SG, Davis RA. Blocking microsomal triglyceride transfer protein interferes with apoB secretion without causing retention or stress in the ER. *J Lipid Res* 2003;44:978-985.
- Li ZZ, Berk M, McIntyre TM, Feldstein AE. Hepatic lipid partitioning and liver damage in nonalcoholic fatty liver disease: role of stearyl-CoA desaturase. *J Biol Chem* 2009;284:5637-5644.
- Flowers MT, Groen AK, Oler AT, et al. Cholestasis and hypercholesterolemia in SCD1-deficient mice fed a low-fat, high-carbohydrate diet. *J Lipid Res* 2006;47:2668-2680.
- Neuschwander-Tetri BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of non-triglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology* 2010;52:774-788.
- Han MS, Park SY, Shinzawa K, et al. Lysophosphatidylcholine as a death effector in the lipopoptosis of hepatocytes. *J Lipid Res* 2008;49:84-97.
- Tan M, Hao F, Xu X, Chisolm GM, Cui MZ. Lysophosphatidylcholine activates a novel PKD2-mediated signaling pathway that controls monocyte migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:1376-1382.
- Kim F, Pham M, Luttrell I, et al. Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity. *Circ Res* 2007;100:1589-1596.
- Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2009;13:545-563.
- Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol MeTab* 2003;14:137-145.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
- Tilg H. Adipocytokines in nonalcoholic fatty liver disease: key players regulating steatosis, inflammation and fibrosis. *Curr Pharm Des* 2010;16:1893-1895.
- Nakamura S, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, et al. Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria. *J Bio Chem* 2009;284:14809-14818.
- Anderson N, Borlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol Rev* 2008;60:311-357.
- Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295:G987-G995.
- Bechmann LP, Gieseler RK, Sowa JP, et al. Apoptosis is associated with CD36/fatty acid translocase upregulation in non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2010;30:850-859.
- Farrell GC, Larter CZ, Hou JY, et al. Apoptosis in experimental NASH is associated with p53 activation and TRAIL receptor

- expression. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24:443-452.
32. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human non-alcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003;125:437-443.
  33. Ribeiro PS, Cortez-Pinto H, Solá S, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1708-1717.
  34. Deniaud A, Sharaf el dein O, Maillier E, et al. Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis. *Oncogene* 2008;27:285-299.
  35. Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol* 2011;54:795-809.
  36. Canbay A, Taimr P, Torok N, Higuchi H, Friedman S, Gores GJ. Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic. *Lab Invest* 2003;83:655-663.
  37. Holt AP, Salmon M, Buckley CD, Adams DH. Immune interactions in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis* 2008;12:861-882, x.
  38. Wynn TA, Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis. *Semin Liver Dis* 2010;30:245-257.
  39. Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology* 1990;11:599-605.
  40. Malaguarnera L, Di Rosa M, Zambito AM, dell'Ombra N, Di Marco R, Malaguarnera M. Potential role of chitotriosidase gene in non-alcoholic fatty liver disease evolution. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2060-2069.
  41. Chen CJ, Kono H, Golenbock D, Reed G, Akira S, Rock KL. Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat Med* 2007;13:851-856.
  42. Alkhoury N, Morris-Stiff G, Campbell C, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio: a new marker for predicting steatohepatitis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2012;32:297-302.
  43. Zhan YT, An W. Roles of liver innate immune cells in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010;16:4652-4660.
  44. Kahraman A, Schlattjan M, Kocabayoglu P, et al. Major histocompatibility complex class I-related chains A and B (MIC A/B): a novel role in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010;51:92-102.
  45. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007;25:297-336.
  46. Gao B, Seki E, Brenner DA, et al. Innate immunity in alcoholic liver disease. *Am J Physiol. Gastrointest Liver Physiol* 2011;300:G516-G525.
  47. Brenner DA, Seki E, Taura K, et al. Non-alcoholic steatohepatitis-induced fibrosis: toll-like receptors, reactive oxygen species and Jun N-terminal kinase. *Hepatol Res* 2011;41:683-686.
  48. Maher JJ. DAMPs ramp up drug toxicity. *J Clin Invest* 2009;119:246-249.
  49. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Ann Rev Immunol* 1994;12:991-1045.
  50. Rock KL, Latz E, Ontiveros F, Kono H. The sterile inflammatory response. *Annu Rev Immunol* 2010;28:321-342.
  51. Davis BK, Wen H, Ting JP. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu Rev Immunol* 2011;29:707-735.
  52. Su GL, Klein RD, Aminlari A, et al. Kupffer cell activation by lipopolysaccharide in rats: role for lipopolysaccharide binding protein and toll-like receptor 4. *Hepatology* 2000;31:932-936.
  53. Soehnlein O, Lindbom L. Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 2010;10:427-439.
  54. McDonald B, Pittman K, Menezes GB, et al. Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation. *Science* 2010;330:362-366.
  55. Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007;47:571-579.
  56. Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, et al. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. *Gastroenterology* 2010;139:323-334.e7.
  57. Csak T, Velayudham A, Hritz I, et al. Deficiency in myeloid differentiation factor-2 and toll-like receptor 4 expression attenuates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;300:G433-G441.
  58. Mencin A, Kluwe J, Schwabe RF. Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases. *Gut* 2009;58:704-720.
  59. Baffy G. Kupffer cells in non-alcoholic fatty liver disease: the emerging view. *J Hepatol* 2009;51:212-223.
  60. Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2009;50:1094-1104.
  61. Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, et al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 2007;13:1324-1332.
  62. Nolan JP, Leibowitz AI. Endotoxins in liver disease. *Gastroenterology* 1978;75:765-766.
  63. Grinko I, Geerts A, Wisse E. Experimental biliary fibrosis correlates with increased numbers of fat-storing and kupffer cells, and portal endotoxemia. *J Hepatol* 1995;23:449-458.
  64. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006;124:783-801.
  65. Kagan JC, Medzhitov R. Phosphoinositide-mediated adaptor recruitment controls toll-like receptor signaling. *Cell* 2006;125:943-955.
  66. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001;48:206-211.
  67. Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology* 2011;54:133-144.
  68. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med* 2011;17:179-188.

69. Kamari Y, Shaish A, Vax E, et al. Lack of interleukin-1 $\alpha$  or interleukin-1 $\beta$  inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice. *J Hepatol* 2011;55:1086-1094.
70. Wen H, Gris D, Lei Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol* 2011;12:408-415.
71. Stienstra R, Saudale F, Duval C, et al. Kupffer cells promote hepatic steatosis via interleukin-1 $\beta$ -dependent suppression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activity. *Hepatology* 2010;51:511-522.
72. Csak T, Dolganiuc A, Kodys K, et al. Mitochondrial antiviral signaling protein defect links impaired antiviral response and liver injury in steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2011;53:1917-1931.
73. Ji J, Zhang L, Wang P, et al. Saturated free fatty acid, palmitic acid, induces apoptosis in fetal hepatocytes in culture. *Exp Toxicol Pathol* 2005;56:369-376.
74. Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2009;51:371-379.
75. Safadi R, Ohta M, Alvarez CE, et al. Immune stimulation of hepatic fibrogenesis by CD8 cells and attenuation by transgenic interleukin-10 from hepatocytes. *Gastroenterology* 2004;127:870-882.
76. Novobrantseva TI, Majeau GR, Amatucci A, et al. Attenuated liver fibrosis in the absence of B cells. *J Clin Invest* 2005;115:3072-3082.
77. Mosmann T. Complexity or coherence? Cytokine secretion by B cells. *Nat Immunol* 2000;1:465-466.
78. Hammerich L, Heymann F, Tacke F. Role of IL-17 and Th17 cells in liver diseases. *Clin Dev Immunol* 2011;2011:345803.
79. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005;6:1123-1132.
80. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009;361:888-898.
81. Gadd VL, Skoien R, Powell EE, et al. The portal inflammatory infiltrate and ductular reaction in human nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2014;59:1393-1405.
82. Abiru S, Migita K, Maeda Y, et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2006;26:39-45.
83. Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:729-740.
84. Nakajima T, Moriguchi M, Katagishi T, et al. Premature telomere shortening and impaired regenerative response in hepatocytes of individuals with NAFLD. *Liver Int* 2006;26:23-31.
85. Calado RT, Brudno J, Mehta P, et al. Constitutional telomerase mutations are genetic risk factors for cirrhosis. *Hepatology* 2011;53:1600-1607.
86. Aravinthan A, Scarpini C, Tachtatzis P, et al. Hepatocyte senescence predicts progression in non-alcohol-related fatty liver disease. *J Hepatol* 2013;58:549-556.
87. Ikeda H, Sasaki M, Sato Y, et al. Large cell change of hepatocytes in chronic viral hepatitis represents a senescent-related lesion. *Hum Pathol* 2009;40:1774-1782.
88. Syn WK, Oo YH, Pereira TA, et al. Accumulation of natural killer T cells in progressive nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51:1998-2007.
89. Rangwala F, Guy CD, Lu J, et al. Increased production of sonic hedgehog by ballooned hepatocytes. *J Pathol* 2011;224:401-410.
90. Syn WK, Witek RP, Curbishley SM, et al. Role for hedgehog pathway in regulating growth and function of invariant NKT cells. *Eur J Immunol* 2009;39:1879-1892.
91. Tajiri K, Shimizu Y, Tsuneyama K, Sugiyama T. Role of liver-infiltrating CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> natural killer T cells in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:673-680.