원저
Lab Med Online
Vol. 10, No. 2: 109-115, April 2020
https://doi.org/10.3343/lmo.2020.10.2.109

임상화학 LMO

만성 B형간염에 의한 간세포암 환자에서 간경변 진단을 위한 M2BPGi, Fibroscan 및 기타 간섬유화 표지자 비교

Comparison of Mac-2 Binding Protein Glycosylation Isomer, Fibroscan, and Other Fibrosis Markers for Assessing Liver Cirrhosis in Patients with Chronic Hepatitis B Virus-mediated Hepatocellular Carcinoma

이경훈[1,5] · 유인영[1] · 조재원[2] · 김종만[2] · 곽금연[3] · 신동현[3] · 하상윤[4] · 강은숙[1] · 박형두[1]
Kyunghoon Lee, M.D.[1,5], In Young Yoo, M.D.[1], Jae-Won Joh, M.D.[2], Jong Man Kim, M.D.[2], Geum-Youn Gwak, M.D.[3], Dong Hyun Sinn, M.D.[3], Sang Yun Ha, M.D.[4], Eun-Suk Kang, M.D.[1], Hyung-Doo Park, M.D.[1]

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과[1], 외과[2], 내과[3], 병리과[4], 강북삼성병원 진단검사의학과[5]
Departments of Laboratory Medicine and Genetics[1], Surgery[2], Medicine[3], and Pathology[4], Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine[5], Kangbuk Samsung Hospital, Seoul, Korea

Background: Liver cirrhosis is advanced stage of hepatic fibrosis caused by viral hepatitis. Mac-2 binding protein glycosylation isomer (M2BPGi) is a serum marker to diagnose and evaluate hepatic fibrosis progression. In this study, we evaluated the efficacy of serum M2BPGi to predict chronic hepatitis B (HBV)-mediated cirrhosis by liver biopsy.
Methods: M2BPGi cut-off index (COI) was evaluated from 312 patients with chronic HBV-mediated hepatocellular carcinoma and 105 healthy controls. Comparative analysis was performed with conventional hepatic fibrosis markers such as fibrosis index based on four factors (FIB-4), aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI), and Fibroscan.
Results: Korean Study Group for Pathology of Digestive Diseases classified 165 (52%) patients with histological stage F4 liver cirrhosis. Comparison of cases with stage F4 cirrhosis and stage F3 septal fibrosis revealed significant difference between M2BPGi, platelet count, APRI, FIB-4, and Fibroscan prediction. M2BPGi 2+ (COI ≥ 3) was found to be 8% in patients with F4 cirrhosis and 1% in patients with F3 fibrosis. In multi-regression analysis, M2BPGi showed higher odds ratio than that of other serum markers while M2BPGi 2+ showed comparable odds ratio to Fibroscan F3 and F4 assessment.
Conclusions: In patients with chronic HBV-mediated hepatocellular carcinoma, M2BPGi was neither comprehensive nor as effective as Fibroscan in assessing liver cirrhosis and fibrosis progression.

Key Words: M2BPGi, Hepatocellular carcinoma, Liver cirrhosis

서 론

만성 B형간염이나 C형간염, 지속적인 과음에 의한 알코올성 지방간염 및 비알코올성 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)으로 인하여 간의 염증이 지속되면 간의 섬유화가 일어나게 된다. 간섬유화의 최종 단계로 간경변(cirrhosis)에 도달하게 되며, 일단 발생한 간경변증은 간 세포암이나 간부전으로 진행하게 되고 최후의 치료방법으로 간 이식을 하게 된다. 간섬유화를 진단하는 표준검사는 간 조직검사지만, 침습적이고 비용이 비싸며 일부 조직만 이용하기 때문에 표본오차가 발생할 수 있는 단점이 있다[1]. Fibroscan을 이용한 간탄력도 검사(transient elastography)는 간탄력도(elasticity)와 간의 단단함(stiffness), 간섬유화(fibrosis)의 상관관계를 이용하여 간섬유화를 예측한다. 간 조직검사 결과

Corresponding author: Hyung-Doo Park, M.D., Ph.D.
https://orcid.org/0000-0003-1798-773X
Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 81 Irwon-ro, Gangnam-gu, Seoul 06351, Korea
Tel: +82-2-3410-0290, Fax: +82-2-3410-2719, E-mail: nayadoo@hanmail.net

Received: October 12, 2018
Revision received: January 8, 2019
Accepted: March 12, 2019

This article is available from https://www.labmedonline.org
© 2020, Laboratory Medicine Online
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://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.

와 일치도가 높지만, 체질량 지수가 높은 환자나 복수가 있는 환자에서는 정확한 측정이 어려울 수 있다[2]. Sysmex HISCL-5000 장비(Sysmex, Kobe, Japan)에서 검사할 수 있는 혈청 Mac-2 binding protein glycosylation isomer (M2BPGi)는 간섬유화를 진단하고 추적관찰 하는데 사용될 수 있는 표지자이다. 간섬유화가 일어나면 정상적인 Mac-2 binding protein (M2BP)에서 M2BPGi로 변하여 이를 검출하는데, M2BPGi는 *Wisteria floribunda* agglutinin (WFA)에 특이적으로 결합한다. 결합한 산물은 anti-M2BP 항체와 연결된 알칼리성 인산분해효소에 대한 화학발광기질을 사용하여 최종적으로 발생한 화학발광 강도를 측정한다[3]. 일본 등 바이러스성 간염과 간경변이 흔한 동양권에서, 여러 혈청 표지자들의 비교 또는 간섬유화 단계별 기준치에 대한 연구나[4-9], 간암으로 진행될 위험도를 예측하는 연구[10-13] 위주로 보고되고 있다. 그러나 주로 만성 C형간염 환자에서의 간섬유화 혈청 표지자들이 많이 개발되고 진단 정확도가 높은 것에 반해, 만성 B형간염 환자의 간섬유화 진단을 위해 개발된 표지자는 적으며, aspartate aminotransferase (AST)-to-platelet ratio index (APRI)나 Forns index처럼 만성 C형간염 환자 대상으로 개발된 표지자를 B형간염 환자에 적용시켰을 때 정확도도 낮은 편이다[1, 2].

본 연구에서는 만성 B형간염으로 인한 간세포암 환자군을 대상으로 하여 간 조직검사 결과를 기준으로 간경변을 확인하는데 있어 혈청 M2BPGi의 유용성을 평가하였으며, Fibroscan 및 다른 혈청 간섬유화 표지자와 M2BPGi를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 환자군 모집과 간섬유화 검사

2015년 1월부터 2017년 9월까지 삼성서울병원에서 간세포암으로 인하여 간 절제술을 시행한 환자 중 수술 전 획득한 혈청 검체 및 해당 대상자의 간 조직검사 결과를 보유하고 있는 환자를 연구대상으로 하였다. 본 연구에서는 상기 조건을 만족하는 바이오뱅크의 인체유래물 혈청 검체를 이용하였으며, 검체는 수술 받기 전, 수술 당일, 혹은 전날 채집하여, M2BPGi 검사를 수행하기 전까지 8개월에서 2년 6개월 기간 동안 -70°C에 냉동보관 되었다.

B형간염 바이러스(HBV)에 의한 만성 B형간염에서 유래한 간세포암 환자의 검체를 대상으로 하였고, 만성 C형간염이거나 간염의 원인을 알 수 없는 경우는 제외하였다. 연구기간 내 만성 B형간염에 의한 간세포암 환자 477명 중에서 수술 전에 실시한 Fibroscan 결과가 있는 환자만 연구대상으로 하여 총 312명의 환자가 연구에 포함되었다. 남성이 252명으로, 81%를 차지하였다. 환자들의 연령은 평균 57세였고, 최소 35세, 최대 80세였다.

간염 바이러스에 의한 감염 상태를 알 수 있는 B형간염 표면항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg), B형간염 표면항원에 대한 항체(antibody to HBsAg, anti-HBs), B형간염 핵심항원에 대한 항체(antibody to HBcAg, anti-HBc), B형간염 외피항원(hepatitis B e antigen, HBeAg), B형간염 외피항원에 대한 항체(antibody to HBeAg, anti-HBe), C형간염 바이러스 항체(antibody to HCV, anti-HCV), B형간염 바이러스 DNA 정량검사, C형간염 바이러스 RNA 정량검사 결과 등을 조사하였다. 간세포암 환자군은 모두 anti-HCV 음성이었고 HBsAg 양성 273명으로, HBsAg 음성인 39명은 anti-HBc (IgG) 혹은 anti-HBe 검사상 양성이었다. 간 기능검사 및 일반혈액검사 상 아스파탐아미노트란스페라제(aspartate aminotransferase, AST), 알라닌아미노트란스페라제(alanine aminotransferase, ALT), 혈소판 수(platelet count)는 M2BPGi 검사용 검체 채집 시점과 동일한 날짜에 시행한 결과를 의무기록에서 조사하였다. 간암 표지자 alpha-fetoprotein (AFP)과 prothrombin-induced by vitamin K absence or antagonist-II (PIVKA-II) 및 간염 바이러스 검사는 수술 전 M2BPGi 검사용 검체 채집 시점과 가장 가까운 시기의 결과를 조사하였다. 기존에 알려진 간섬유화 표지자로서, AST, ALT, platelet count를 포함하는 fibrosis index based on four factors (FIB-4)와 APRI 점수를 다음의 공식으로 계산하였다[14].

$$\text{FIB-4} = (\text{age (years)} \times \text{AST (IU/L)})/(\text{platelet count } (10^9/\text{L}) \times (\text{ALT (IU/L)})^{1/2})$$

$$\text{APRI} = (\text{AST (IU/L)}/\text{upper limit of normal of AST}) \times 100/\text{platelet count } (10^9/\text{L})$$

환자군에서 실시한 Fibroscan (Echosens, Paris, France)을 이용한 간탄력도 측정 시 환자가 누운 상태에서 간 위치에 해당하는 늑골간에 Fibroscan 탐침자를 위치시켜, 간 우엽의 탄력도를 측정하였다. 적어도 10회 이상 반복하여 자동으로 계산된 중앙값을 압력 단위인 kilopascal (kPa)로 표현하였다. 만성 B형간염에서 Fibroscan stage는 F1 (≤7.1 kPa), F2 (7.2-8.0 kPa), F3 (8.1-10.9 kPa), F4(≥ 11.0 kPa) 기준으로 구분하였다[15].

105명의 건강 대조군은 건강검진 센터를 방문한 수진자들 중 AST와 ALT를 포함한 기본검사에서 참고구간을 벗어나지 않는 대상으로 선정하였으며, 정규 검사 후 잔여 검체를 이용하였다. 본 연구는 기관윤리심의사무국의 허가를 받았다.

2. M2BPGi 측정

M2BPGi 검사는 HISCL-5000 (Sysmex, Kobe, Japan) 자동화 면역검사 장비를 이용하였다. 연구대상자의 혈청에서 측정한 M2BPGi 농도에 대해서 다음 공식과 같이 계산하여 Cut-off index (COI) 값으로 변환하였다.

$$\text{M2BPGi cut-off index (COI)} = ([\text{M2BPGi}]_{\text{sample}} - [\text{M2BPGi}]_{\text{NC}})/([\text{M2BPGi}]_{\text{PC}} - [\text{M2BPGi}]_{\text{NC}})$$

https://doi.org/10.3343/lmo.2020.10.2.109

$[M2BPGi]_{sample}$: 혈청 검체에서 측정한 농도, NC: 양성대조(negative control), PC: 음성대조(positive control)

양성대조는 정해진 양의 recombinant human M2BP를 포함하며 보정(calibration) 용액으로 쓰였다. 양성대조 농도는 건강한 사람들에서 측정한 평균값에 2.5 표준편차를 더한 값과 동일하며, M2BPGi COI 값 1.0에 해당한다[16]. 연구대상자에서 측정한 COI 값이 1.0보다 높은 경우는 양성이며, 1+ (1.0≤COI<3.0)와 2+(COI≥3.0) 등 두 가지로 양성 등급을 나누었다. COI 값 1.0 미만은 음성으로 해석하였다.

3. 간 조직검사 및 조직학적 간섬유화 등급

간 조직검사(liver biopsy) 결과는 간 수술 당시 얻어진 여러 간 조직 중 종양이 없는 간 부위를 대상으로 하여 병리과 전문의가 판독하였다. 간섬유화 정도를 정량화하기 위해 대한병리학회 소화기병리연구회에서 정한 만성간염의 등급체계를 따랐으며, 기준은 No fibrosis (score 0), Portal fibrosis (score 1), Periportal fibrosis (score 2), Septal fibrosis (score 3), Cirrhosis (score 4) 등 총 5등급이다. 본 연구에서는 F0, F1, F2, F3, F4 등급으로 표현하였고 대상 환자군에서 간 조직검사 결과상 F3와 F4 등급만 존재하였다.

4. 통계 분석

연구대상자 그룹에 따라 혈청 간섬유화 표지자 검사결과를 비교하였다. 연속변수의 비교 시 Student *t*-test 혹은 Mann-Whitney U-test를, 빈도 비교 시 χ^2 test를 실시하였다. 상관분석은 Spearman rank correlation test를 실시하였다. *P*값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다. 여러 혈청 간섬유화 표지자에서 간경변증 평가에 대한 교차비(odds ratio)를 비교하기 위해 다중 로지스틱 회귀분석을 실시하였다. 통계분석은 SPSS version 24 (IBM Inc., Chicago, IL, USA) 및 Analyse-it version 4.95 (Analyse-it Software, Leeds, England)를 이용하였다.

결 과

1. 집단별 간섬유화 표지자 비교

간세포암 환자군과 건강한 대조군의 간섬유화 표지자 검사결과를 Table 1에 요약하였다. 간경변에 해당하는 조직학적 F4 등급 환자군은 165명(52%)으로, 조직학적 F3 등급 환자군과 비교시 M2BPGi COI, platelet count, APRI, FIB-4, Fibroscan (kPa) 표지자에서 유의한 차이를 보였다. 대조군에서 M2BPGi COI 값 1.0을 넘는 경우는 없었다.

환자군에서 측정된 M2BPGi COI 결과는 F3군에서 평균 0.87, F4군에서 평균 1.32로 유의한 차이(*P*<0.001)를 보였으나 평균 차는 0.45로 크지 않았다. M2BPGi COI 수치 3.0 이상에 해당하는 M2BPGi 2+ 결과 비율은 F4 환자군에서 8%, F3 환자군에서 1%였다. Fibroscan stage F4 (≥11.0 kPa) 비율은 조직학적 F4 환자군에서는 57%, F3 환자군에서 22%였다.

로그화 시킨 두 표지자, Log(Fibroscan)과 Log(M2BPGi)의 상관성 분석상 전체 환자군에서 Spearman 상관계수(95% 신뢰구간)는 0.428 (0.330-0.517)로, 0.4-0.6 범위에 해당하는 중간(moderate) 정도의 상관성을 보였다. 조직학적 F3와 F4 각각 상관성 분석 시 Spear-

Table 1. Clinical characteristics, M2BPGi, Fibroscan, and laboratory finding of patients with different histological fibrosis grade

	Total (N=312)	F3 (N=147)	F4 (N=165)	*P*	Healthy control (N=105)
Male, N (%)	252 (81)	123 (84)	129 (78)	0.219	36 (34)
Age (yr)	57±9.1	58±9.2	57±9.0	0.553	46.7±12.4
AST (IU/L)	33.5±21.6	33.6±27.7	33.4±14.3	0.929	21.2±5.7
ALT (IU/L)	33.6±22.8	33.0±25.2	34.1±20.6	0.691	20.6±9.3
Platelet count (10^9/L)	170.3±65.6	193.5±68.2	149.7±55.8	<0.001	236.7±46.2
HBeAg positivity (%)	87.1	87.8	86.7	0.640	0
AFP (ng/mL)	11.2 (3.3-163.4)	21.2 (2.8-217.6)	9.2 (3.7-74.2)	0.440	2.5 (1.8-3.8)
PIVKA-II (mAU/mL)	51 (22-338)	89 (26-872)	40 (20-121)	<0.001	20 (16-24)
M2BPGi					
M2BPGi COI	1.11±1.01	0.87±0.59	1.32±1.23	<0.001	0.5±0.21
M2BPGi grade 1/2 (%)	31/5	22/1	39/8		0/0
Fibroscan (kPa)	12.6±11.4	10.9±13.18	14.2±9.25	0.010	NA
APRI	0.57 ±0 .42	0.48±0.41	0.65±0.42	<0.001	0.23±0.08
FIB-4	2.36 ±1 .55	1.95±1.11	2.73±1.82	<0.001	1.00±0.46

Data are presented as mean±SD or median with interquartile range.
Comparison between groups of histological F3 and F4 was performed using Student's *t*-test or Mann-Whitney U-test.
Abbreviations: HBeAg, hepatitis B e antigen; M2BPGi, Mac-2 binding protein glycosylation isomer; APRI, AST-to-platelet ratio; FIB-4, fibrosis index based on four factors; NA, not available.

man 상관계수 0.371과 0.391의 상관성을 보였다(Fig. 1).

2. 혈청 간섬유화 표지자의 간경변 평가 비교

간경변에 해당하는 조직학적 F4를 판단하기 위해 M2BPGi를 포함한 Fibroscan, APRI, FIB-4, AST, ALT, platelet count를 평가하였다. 단순회귀분석상 AST, ALT를 제외한 나머지 표지자에서 유의한 차이가 있었다. M2BPGi 1+인 경우, 음성 결과에 비해 교차비 2.57 (95% 신뢰구간 1.55-4.27)만큼, 2+인 경우, 교차비 8.35 (95% 신뢰구간 1.84-37.96)만큼 간경변 위험이 증가하였다. Fibroscan stage F3인 경우 F1에 비해 교차비 7.29 (95% 신뢰구간 3.46-15.39)만큼, F4인 경우 교차비 9.50 (95% 신뢰구간 5.19-17.38)만큼 간경변 위험이 증가하였다.

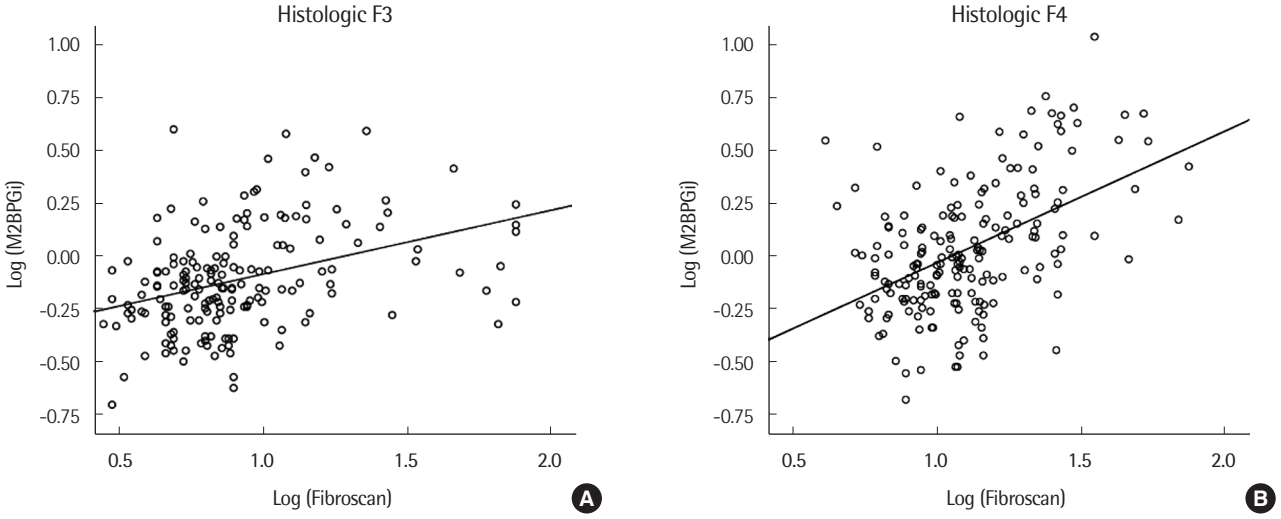

Fig. 1. Scatter plot of log10 (M2BPGi) vs. log10 (Fibroscan) kPa (A) in histological F3 grade of septal fibrosis and (B) in histologic F4 grade of cirrhosis. Spearman's correlation coefficients are 0.371 (95% CI: 0.217-0.506) for F3 and 0.391 (95% CI: 0.250-0.517) for F4.

Table 2. Multivariate logistic regression analysis for predicting histological liver cirrhosis

Variables	Model 1*		Model 2†		Model 3‡		Model 4§	
	OR (95% CI)	*P*	OR (95% CI)	*P*	OR (95% CI)	*P*	OR (95% CI)	*P*
M2BPGi								
Grade 0	1 (reference)		1 (reference)				1 (reference)	
Grade 1	2.02 (1.16-3.51)	0.013	2.53 (1.4-4.58)	0.002			1.81 (0.94-3.48)	0.074
Grade 2	5.03 (1.05-24.14)	0.043	13.46 (1.9-95.52)	0.009			9.50 (1.29-69.75)	0.027
Fibroscan								
F1					1 (reference)		1 (reference)	
F2					2.04 (0.84-4.99)	0.117	2.18 (0.88-5.38)	0.092
F3					7.32 (3.3-16.25)	<0.001	7.59 (3.38-17.05)	<0.001
F4					9.51 (4.9-18.46)	<0.001	8.10 (4.12-15.93)	<0.001
APRI	0.80 (0.3-2.13)	0.657	0.24 (0.02-2.77)	0.255	0.55 (0.04-6.88)	0.642	0.33 (0.02-4.71)	0.411
FIB-4	1.44 (1.08-1.92)	0.014	1.27 (0.77-2.1)	0.343	1.20 (0.71-2.04)	0.499	1.16 (0.67-1.99)	0.601
AST			0.99 (0.96-1.02)	0.678	0.99 (0.96-1.02)	0.518	0.99 (0.95-1.03)	0.587
ALT			1.02 (0.99-1.05)	0.167	1.01 (0.98-1.04)	0.604	1.01 (0.98-1.04)	0.487
Platelet count			0.99 (0.98-0.99)	0.001	0.99 (0.98-1.00)	0.012	0.99 (0.98-1.00)	0.004
AUC	0.66 (0.60-0.72)		0.75 (0.692-0.80)		0.82 (0.77-0.86)		0.82 (0.78-0.87)	
Hosmer-Lemeshow (χ^2)	5.76	0.674	7.34	0.500	8.63	0.375	10.33	0.242

*Model 1 includes M2BPGi grade 0-2, APRI and FIB-4 for variables.
†Model 2 includes M2BPGi grade 0-2, APRI, FIB-4, AST, ALT, and platelet count for variables.
‡Model 3 includes Fibroscan stage F1-F4, APRI, FIB-4, AST, ALT, and platelet count for variables.
§Model 4 includes M2BPGi grade 0-2, Fibroscan stage F1-F4, APRI, FIB-4, AST, ALT, and platelet count for variables.
Abbreviations: M2BPGi, Mac-2 binding protein glycosylation isomer; APRI, AST-to-platelet ratio; FIB-4, fibrosis index based on four factors; OR, odds ratio; CI, confidence interval; AUC, area under the curve.

https://doi.org/10.3343/lmo.2020.10.2.109

로지스틱 회귀분석에서 M2BPGi grade, APRI, FIB-4 를 포함한 모델 1부터 모든 표지자를 포함한 모델 4까지 교차비를 구하였으며, receiver operating characteristics (ROC) 곡선을 비교 평가했을 때 모델 1보다 모델 2가 우수하였고($P<0.001$), 모델 2에 비해서 모델 3 ($P=0.004$)과 모델 4 ($P<0.001$)가 우수하였다. M2BPGi가 포함된 모델 4는 M2BPGi가 포함되지 않은 모델 3에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.312$). 모델의 적합성을 판단하는 Hosmer-Lemeshow test 결과에서 모든 모델은 $P>0.05$를 보여 모두 적합하였다(Table 2). 모델 4에서는 M2BPGi grade 2와 Fibroscan stage F3, F4가 서로 비슷한 교차비를 보였다. 모델 4에서 APRI, FIB-4, AST, ALT 표지자는 유의한 결과를 보이지 않았고, platelet count 표지자는 통계학적으로 유의한 표지자였으나 10^9/L 단위에서 교차비 0.99 (95% 신뢰구간 0.98-1.00)로 영향력이 낮았다. Platelet count가 10×10^9/L 증가할 경우 교차비 0.89 (95% 신뢰구간 0.82-0.96)로, 100×10^9/L 증가할 경우 교차비 0.30 (95% 신뢰구간 0.13-0.67)으로 간경변 위험이 낮아졌다.

고 찰

간섬유화가 의심되는 환자를 대상으로 비침습적으로 간섬유화를 측정할 수 있는 혈청표지자와 Fibroscan 검사가 개발되어 있다. 혈청 간섬유화 표지자는 위양성과 위음성에 대한 문제가 있으며 제한적인 용도로 활용되지만 임상적으로 환자를 관리하는데 흔하게 이용되고 있다[1]. AST, ALT 수치를 이용하는 APRI, FIB-4, Fibrometer 등의 표지자는 급성 간염 환자에서 위양성을 나타낼 수 있으며, haptoglobin을 이용하는 Fibrotest 결과에서는 급성염증에 의해 haptoglobin이 증가하면 위음성이, 용혈시에는 위양성이 발생할 수 있다[17]. Fibroscan 검사와 혈청 간섬유화 표지자는 간섬유화의 단계를 구분하기에는 어렵고, 간경변 상태를 진단하거나 배제하는데 있어서 더 유용하다[18]. 단, Fibroscan이 혈청 간섬유화 표지자보다 간경변 상태를 진단하는데 정확도가 더 높다고 보고되고 있다[2, 18]. 미국과 유럽의 간학회 가이드라인에서는 만성 C형간염에 한하여 Fibroscan 검사와 혈청 간섬유화 결과가 일치하면 간 조직검사를 생략할 것을 권고하기도 하였다[2].

본 연구에서는 만성 B형간염에서 발생한 간세포암 환자에 한정하여, 간 조직검사상 최종 간섬유화 단계인 간경변을 평가하는데 있어 혈청 M2BPGi가 유용한 표지자인지 확인하고자 하였다. 모든 대상자에서 측정한 Fibroscan 결과를 M2BPGi를 포함한 혈청 표지자들과 비교하였다. C형간염 바이러스 감염 시에는 간경변증으로 진행된 상태에서 간 섬유화가 지속되지만, B형간염 바이러스 감염 시에는 섬유화가 많이 진행되면 HBeAg에서 anti-HBe로 혈청전환 및 염증반응을 중단하여 섬유화 진행도 중단된다[7, 19]. 만성 B형간염에서 발생한 간세포암 환자로 연구대상을 한정한 본 연구에서, M2BPGi COI ≥3에 해당하는 M2BPGi 2+ 환자는 간경변 가능성이 다른 혈청 간섬유화 표지자들보다 높았다. Fibroscan 검사결과를 기준으로 했을 때, 다중회귀분석에서 M2BPGi 2+ 결과가 APRI와 FIB-4보다 Fibroscan 결과에 근접한 것으로 관찰되었다.

본 연구의 다중회귀분석 결과에서 M2BPGi 2+인 경우가 M2BPGi 1+보다 B형간염 바이러스 감염에 의한 간경변 가능성이 더 높았다. M2BPGi 1+인 경우에는 교차비 2.0 내외의 결과를 보여 Fibroscan F3, F4의 교차비보다 낮았다. 시약 제조사에서는 M2BPGi COI 기준범위에 따라 1+는 만성 간염에 의한 섬유화상태로, 2+는 간경변으로 해석할 것을 제시하였다. 임상의사가 M2BPGi 결과를 판단할 때 M2BPGi 1+ 결과는 간경변 상태가 아닌 간섬유화 상태로 해석하되, 간경변 전 단계인 septal fibrosis이거나 혹은 초기 간섬유화 단계(peripoertal fibrosis, portal fibrosis)의 가능성을 고려해야 할 것으로 보인다. 본 연구에서 M2BPGi 2+인 경우에 간경변 상태에 대한 교차비가 높았지만, M2BPGi 2+ 결과는 조직학적 F4 등급을 보인 연구대상자의 8%에서만 관찰되었다. 추가 분석에서 M2BPGi COI ≥2 기준으로 간경변 예측력을 확인한 결과, 모든 표지자가 포함된 모델 4에서 교차비 2.88로 산출되었으나 P값은 0.073으로 통계적으로 유의한 수치는 아니었다. 따라서 본 연구에서 적용한 바와 같이 M2BPGi COI ≥3 기준으로 간경변을 평가하는 것이 더 적절하다. 또한, M2BPGi 2+ 결과의 빈도가 낮았기 때문에, 임상적으로 간경변 환자에서 측정시 M2BPGi 표지자는 위음성결과가 많을 것으로 예상된다. 따라서 만성 B형간염 환자에서 간경변 여부를 판단하는 단독검사로 M2BPGi를 활용하기 어렵고, Fibroscan을 대체할 수 없을 것으로 생각된다.

본 연구처럼 간세포암으로 진행된 간염환자의 수술 당시 검체에서 M2BPGi를 측정한 Fujiyoshi 등의 연구결과에 따르면 C형간염 바이러스 음성을 보이는 간세포암 환자의 M2BPGi COI값과 본 연구에서 B형간염 바이러스 양성 간세포암 환자군의 M2BPGi COI 값은 비슷한 분포를 보였다[5]. 또한, C형간염 바이러스 양성환자에서 조직학적 F3와 F4의 M2BPGi 수치가 높고 F3-F4간 M2BPGi 차이도 컸으며, C형간염 바이러스 음성 환자에는 B형간염 바이러스 양성이 상당수 포함되었는데 F3와 F4간 M2BPGi 차이가 크지는 않았다[5]. 본 연구에서는 B형간염 바이러스 감염 환자만 선별하여 분석하였는데, M2BPGi 분포 범위는 B형간염 바이러스 감염 환자들을 대상으로 한 다른 연구결과[8, 11, 12, 20-22]와 비슷하였지만 C형간염 바이러스 감염 환자들에 대한 연구결과[23, 24]보다는 낮은 편이었다. 즉, M2BPGi 수치는 C형간염 바이러스 감염 환자에 비해 B형간염 바이러스 감염 환자에서 낮게 측정되며, 간섬유화 단계간 차이가 적은 편이다. 또한 건강인과 대비하여 B형간염 바이러스 감염 환자에서 초기와 중증단계의 간섬유화를 구별

하는 데에는 M2BPGi 검사가 도움이 되지만, 중증단계에서 간섬유화와 간경변을 분별하는 데는 유용성이 낮다는 보고가 있다[8].

본 연구의 한계점은 다음과 같다. 첫째, 바이오뱅크에서 보관 중인 간세포암 환자 검체를 분양받고 연결된 임상정보를 획득한 후향적 연구설계에 따른 한계점이다. 기존 연구들에서처럼 만성 B형간염 혹은 C형간염, 비알코올성 지방간질환에서 간세포암이 발병하기 전에 M2BPGi 검사를 실시하여 간섬유화 상태를 평가할 수 없었는데, 간세포암 환자에서는 진행된 간섬유화 상태를 보인다. 둘째, 본 연구에서는 간세포암 환자를 대상으로 하였기에 국내 만성간염 간섬유화 등급의 0-2단계에 해당하는 초기 간섬유화 상태의 환자가 없었다. 셋째, 간수술 전 Fibroscan을 시행한 환자만 대상으로 하였으므로 환자선별에 비뚤림(bias) 영향의 가능성을 배제할 수 없다. 연구기간 내 간세포암 환자 중 만성 B형간염 477명 중에서 Fibroscan 결과가 있는 312명을 선별하여 분석하였는데, Fibroscan과 M2BPGi 검사를 비교하여 M2BPGi의 유용성을 확인하고자 하는 목적이 있었기에 이러한 비뚤림 위험을 내포하고 있다. 넷째, 장기간 냉동보관했던 검체를 M2BPGi 측정에 이용하였다. 제조회사의 시약 안정성 자료에 따르면, 6-24개월 동안 냉동보관한 검체의 경우, 초기 검사결과에 비하여 92.7%에서 96.2% 수준으로 COI값이 낮게 측정되었다. 따라서, 이번 연구에서 측정한 M2BPGi COI 값은 검체 획득시기 때의 측정값보다는 소폭 감소했을 것으로 추정되며, 이에 따라 M2BPGi 1+ 이상 양성환자 비율도 감소했을 가능성이 있다. 한편, M2BPGi COI값이 0.95-0.99로 측정되었던, 1년 이상 냉동보관 검체 8개는 채혈 당시에 M2BPGi 1+였을 가능성이 있다. 다만, M2BPGi COI 2.65-2.99에 속하는 검체는 없어서, 312명 중 5%에서 보였던 M2BPGi 2+ 검체 비율은 달라지지 않을 것으로 생각된다. 그러나 검체 채취 후 냉동보관 없이 M2BPGi 검사를 실시하는 방식의 후속 연구를 통하여 검증이 필요할 것으로 보인다.

본 연구에서는 만성 B형간염에서 발생한 간세포암 환자에서 간조직검사 기준으로 M2BPGi, Fibroscan, 다른 혈청표지자 등을 비교하였다. M2BPGi 검사는 낮은 빈도로 관찰되는 M2BPGi COI 3.0 이상, 즉 2+ 결과에 한하여 간경변 가능성이 높았고, 간경변 여부를 판단함에 있어 Fibroscan 보다 유용하지는 않았다. 조직학적 간경변 상태에서 M2BPGi 1+ 이상 양성결과는 일부 환자에서만 관찰되어, 만성 B형간염에서는 제한적으로 간섬유화 상태를 반영하였다.

요 약

배경: 바이러스성 간염에 의한 간섬유화의 최종 단계는 간경변(cirrhosis)이다. 혈청 Mac-2 binding protein glycosylation isomer (M2BPGi)는 간섬유화를 진단하고 추적관찰하는데 사용될 수 있는 표지자이다. 본 연구에서는 간 조직검사 결과를 기준으로 만성 B형간염에 의한 간경변 상태를 분별하는데 혈청 M2BPGi가 유용한지 평가하였다.

방법: 만성 B형간염으로 인한 간세포암 환자군 312명과 건강한 대조군 105명으로부터 얻은 혈청으로 M2BPGi cut-off index (COI)를 측정하였다. 간섬유화 표지자인 FIB-4, APRI, Fibroscan 등의 결과를 M2BPGi와 비교분석하였다.

결과: 대한병리학회 소화기병리연구회에서 정한 조직학적 간섬유화등급에서 간경변 상태에 해당하는 F4 환자군은 165명(52%)으로, 섬유성 격막을 보이는 F3 환자군과 비교 시 M2BPGi, platelet count, APRI, FIB-4와 Fibroscan은 유의한 차이를 보였다. M2BPGi 2+ (COI ≥3) 결과는 F4 환자군에서 8%, F3 환자군에서 1%로 관찰되어 낮은 빈도를 보였다. 다중회귀분석에서 M2BPGi는 다른 혈청 표지자들보다 간경변에 대한 교차비가 높았고, M2BPGi 2+의 경우, Fibroscan 결과에서 F3 및 F4 단계와 비슷한 교차비를 보였다.

결론: M2BPGi는 만성 B형간염 환자의 간경변 여부를 판단함에 있어 Fibroscan 검사보다 유용하지 않았으며, 제한적으로 간섬유화 상태를 반영하였다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

연구에 사용한 M2BPGi 검사 시약은 Sysmex (Kobe, Japan)로부터 지원받았습니다.

REFERENCES

1. Adams LA. Biomarkers of liver fibrosis. J Gastroenterol Hepatol 2011;26:802-9.
2. European Association for Study of Liver and Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Higado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. J Hepatol 2015;63:237-64.
3. Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, et al. A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. Sci Rep 2013;3:1065.
4. Toshima T, Shirabe K, Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A, et al. A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda aggluti-

 https://doi.org/10.3343/lmo.2020.10.2.109

nin-positive Mac-2 binding protein (WFA(+)-M2BP), for assessing liver fibrosis. J Gastroenterol 2015;50:76-84.
5. Fujiyoshi M, Kuno A, Gotoh M, Fukai M, Yokoo H, Kamachi H, et al. Clinicopathological characteristics and diagnostic performance of Wisteria floribunda agglutinin positive Mac-2-binding protein as a preoperative serum marker of liver fibrosis in hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol 2015;50:1134-44.
6. Umemura T, Joshita S, Sekiguchi T, Usami Y, Shibata S, Kimura T, et al. Serum Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2-binding protein level predicts liver fibrosis and prognosis in primary biliary cirrhosis. Am J Gastroenterol 2015;110:857-64.
7. Nishikawa H, Enomoto H, Iwata Y, Kishino K, Shimono Y, Hasegawa K, et al. Serum Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2-binding protein for patients with chronic hepatitis B and C: a comparative study. J Viral Hepat 2016;23:977-84.
8. Jekarl DW, Choi H, Lee S, Kwon JH, Lee SW, Yu H, et al. Diagnosis of liver fibrosis with Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA-M2BP) among chronic hepatitis B patients. Ann Lab Med 2018;38:348-54.
9. Moon HW, Park M, Hur M, Kim H, Choe WH, Yun YM. Usefulness of enhanced liver fibrosis, glycosylation isomer of Mac-2 binding protein, galectin-3, and soluble suppression of tumorigenicity 2 for assessing liver fibrosis in chronic liver diseases. Ann Lab Med 2018;38:331-7.
10. Yamasaki K, Tateyama M, Abiru S, Komori A, Nagaoka S, Saeki A, et al. Elevated serum levels of Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predict the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients. Hepatology 2014;60:1563-70.
11. Heo JY, Kim SU, Kim BK, Park JY, Kim DY, Ahn SH, et al. Use of Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein in assessing risk of hepatocellular carcinoma due to hepatitis B virus. Medicine (Baltimore) 2016;95:e3328.
12. Kim SU, Heo JY, Kim BK, Park JY, Kim DY, Han KH, et al. Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predicts the risk of HBV-related liver cancer development. Liver Int 2017;37:879-87.
13. Shirabe K, Bekki Y, Gantumur D, Araki K, Ishii N, Kuno A, et al. Mac-2 binding protein glycan isomer (M2BPGi) is a new serum biomarker for assessing liver fibrosis: more than a biomarker of liver fibrosis. J Gastroenterol 2018;53:819-26.
14. Li Q, Song J, Huang Y, Li X, Zhuo Q, Li W, et al. The gamma-glutamyltranspeptidase to platelet ratio does not show advantages than APRI and Fib-4 in diagnosing significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis B: a retrospective cohort study in China. Medicine (Baltimore) 2016;95:e3372.
15. Kim SU, Han KH, Ahn SH. Transient elastography in chronic hepatitis B: an Asian perspective. World J Gastroenterol 2010;16:5173-80.
16. Kuno A, Sato T, Shimazaki H, Unno S, Saitou K, Kiyohara K, et al. Reconstruction of a robust glycodiagnostic agent supported by multiple lectin-assisted glycan profiling. Proteomics Clin Appl 2013;7:642-7.
17. Munteanu M, Ratziu V, Morra R, Messous D, Imbert-Bismut F, Poynard T. Noninvasive biomarkers for the screening of fibrosis, steatosis and steatohepatitis in patients with metabolic risk factors: FibroTest-FibroMax experience. J Gastrointestin Liver Dis 2008;17:187-91.
18. Shin JW and Park NH. Clinical application of non-invasive diagnostic tests for liver fibrosis. Korean J Gastroenterol 2016;68:4-9.
19. Busch K and Thimme R. Natural history of chronic hepatitis B virus infection. Med Microbiol Immunol 2015;204:5-10.
20. Wei B, Feng S, Chen E, Li D, Wang T, Gou Y, et al. M2BPGi as a potential diagnostic tool of cirrhosis in Chinese patients with hepatitis B virus infection. J Clin Lab Anal 2018;32:e22261.
21. Ishii A, Nishikawa H, Enomoto H, Iwata Y, Kishino K, Shimono Y, et al. Clinical implications of serum Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2-binding protein in treatment-naïve chronic hepatitis B. Hepatol Res 2017;47:204-15.
22. Mak LY, Wong DK, Cheung KS, Seto WK, Lai CL, Yuen MF. Role of serum M2BPGi levels on diagnosing significant liver fibrosis and cirrhosis in treated patients with chronic hepatitis B virus infection. Clin Transl Gastroenterol 2018;9:163.
23. Xu H, Kong W, Liu L, Chi X, Wang X, Wu R, et al. Accuracy of M2BPGi, compared with Fibro Scan®, in analysis of liver fibrosis in patients with hepatitis C. BMC Gastroenterol 2017;17:62.
24. Nakamura M, Kanda T, Jiang X, Haga Y, Takahashi K, Wu S, et al. Serum microRNA-122 and Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein are useful tools for liquid biopsy of the patients with hepatitis B virus and advanced liver fibrosis. PLoS One 2017;12:e0177302.