

비알코올성 지방간의 진단

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 소화기내과
곽금연

Diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease

Geum-Youn Gwak

Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Abstract

Although the classical gold standard for diagnosing and staging non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and assessing fibrosis is liver biopsy, the procedure has several drawbacks, such as sample error, subjectivity in interpretation, high cost, and a small but real risk of complications. In an attempt to replace liver biopsy and to subcategorize patients with NAFLD into different prognoses, many non-invasive methods using various biomarkers, scoring systems, and imaging methods, such as elastography, have been attempted in the last decade. This article summarizes non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of NAFLD/Nonalcoholic steatohepatitis, as well as the limitations and merits of liver biopsy. (J Korean Diabetes 2013;15:82-92)

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease, Nonalcoholic steatohepatitis, Diagnosis, Liver biopsy

서론

비알코올성 지방간(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 지방간염 및 섬유화 정도에 따라 예후에 큰 차이를 보이기 때문에 이들 환자에서 지방간염과 섬유화 동반 여부를 확인하는 것은 임상적으로 매우 중요하며 현재까지 이를 위한 가장 좋은 방법(gold standard)은 간 생검이다. 그러나 간 생검은 침습적 성격으로 인한 합병증 발생의 위험성, 표본 오류(sampling error), 고비용 등의 이유로 모든 NAFLD 환자에서 시행하기는 현실적으로 어려우며 또한 불필요하기도 하다. 따라서 그간 간 생검을 대체하여 비침습적인 생화학적, 영상학적 방법으로 NAFLD의 조직학적 중증도를 예측하려는 노력이 꾸준히 경주되어 왔다.

비침습적 진단법

1. 간 지방증(steatosis)의 진단

• 생화학적 방법

1) Steatotest

Steatotest는 α 2-macroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, total bilirubin, GGT, fasting glucose, triglycerides, cholesterol, ALT, age, gender, BMI의 열두 가지 변수를 포함한 미공개 수식으로, 700명 이상의 프랑스 환자 코호트에서 중등증~중증의 지방간의 진단에 대해 AUROC 0.79라는 비교적 높은 정확도를 보였다[1]. 그러나 93%라는 좋은 음성 예측도(negative predictive value, NPV)에 비해 양성 예측도(positive predictive value, PPV)는 63%에 불과하였다. Steatotest는 이후에 병적 비만 환자 288명을 대상으로 하는 다른 프랑스 코호트 및 메타 분석에서도 유사한 결과를 보였다[2,3]. 하지만 이 방법은 AUROC가 썩 만족스럽지 못하고, 프랑스 코호트에서만 검증되었으며, 수식이 공개되지 않아 일반적으로

사용하기 어렵다는 단점을 안고 있다.

2) Fatty liver index (FLI)

FLI는 Dionysos Nutrition & Liver Study에서 파생된 알고리즘으로[4] 초음파를 표준 진단법으로 이용하고 있다. 이 지수는 BMI, 허리둘레, triglycerides, GGT를 이용하여 아래와 같은 방법으로 계산되며 0~100 사이의 점수로 표시된다. 그러나 FLI는 초음파를 표준 진단법으로 이용하였다는 단점이 있으며 주로는 값비싼 초음파 검사를 대체하여 역학 연구에 이용되고 있다. 최근 2,075명의 중년 백인을 대상으로 15년간 추적 관찰한 연구에서 FLI는 전체 사망률 및 심혈관 질환과 암 관련 사망과 독립적인 연관성을 보였다[5].

$$FLI = \frac{(e^{0.953 \times \text{Log}_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \text{Log}_e(\text{GGT}) + 0.053 \times (\text{waist circumference}) - 15.745})}{(1 + e^{0.953 \times \text{Log}_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \times \text{BMI} + 0.718 \times \text{Log}_e(\text{GGT}) + 0.053 \times (\text{waist circumference}) - 15.745})} \times 100$$

3) Lipid accumulation product (LAP)

LAP는 FLI를 고안한 같은 연구자들에 의해 제안된 방법으로 성별, 허리 둘레와 triglycerides를 이용한 방법이다. 이를 log 변환하게 되면 단위 log 증가 시마다 간 지방증의 위험도가 4.28배씩 증가하게 된다[6]. 이 방법은 매우 간단하다는 장점이 있으나 아직 다른 연구자들에 의한 검증 작업이 이루어지지 않았다.

$$LAP = (\text{waist circumference} - 65) \times \text{triglycerides if men,} \\ (\text{waist circumference} - 58) \times \text{triglycerides if women}$$

4) NAFLD liver fat score

NAFLD liver fat score는 magnetic resonance spectroscopy (MRS)를 표준 진단법으로 하여 만들어진 방법으로, 대사 증후군의 유무, 제2형 당뇨병의 유무, 공복시 혈청 인슐린, AST, AST/ALT 비를 이용하며, 95%의 예민도와 특이도를 보인다[7].

$$NAFLD \text{ Liver Fat Score} = -2.89 + 1.18 \times (\text{metabolic syndrome} - \text{yes} = 1 / \text{no} = 0) + 0.45 \times (\text{type 2 DM} - \text{yes} = 1 / \text{no} = 0) + 0.15 \times (\text{fasting serum insulin, mU/L}) + 0.04 \times (\text{AST, IU/L}) - 0.94 \times (\text{AST/ALT})$$

• 영상학적 방법

1) 초음파(Ultrasonography, US)

US는 간 지방증 진단을 위해 임상 현장에서 사용되기 시작한 첫 영상 장비로, 가격이 저렴하고 장비가 널리 보급되어 있다는 장점이 있고, 간 지방증 진단에 대한 예민도와 특이도는 각각 60~94%와 66~97%이다[8-10]. 그러나 경증의 지방증 진단에 대한 정확도는 매우 낮다. 100명의 생체 간식 공여자를 대상으로 한 연구에서 조직학적으로 간세포내 지방 함량이 10% 미만인 경우 US는 이를 감지해 낼 수 없었으며, 간세포내 지방 함량이 10~19%, 20~29%인 경우 각각 55%와 72%의 환자들을 진단해 낼 수 있었다[11].

US 결과는 다분히 검사자의 주관적 판단에 의존하기 때문에 이를 보다 객관적으로 평가하기 위한 노력이 기울여져 왔다. 이 가운데 hepato-renal index contrast는 7.0 dB 이상일 때 간 지방증의 진단에 대해 각각 91%와 84%의 예민도와 특이도를 보였다[12]. 또 다른 방법인 ultrasonographic fatty liver indicator (US-FLI)는 다음과 같은 기준으로 산출된다[13]. a) brighter liver than kidney, whose intensity in contrast can be graded as mild/moderate (2 points) or severe (3 points). b) one extra point for each of the following: i. posterior attenuation of ultrasound beam, ii. vessel blurring, iii. difficult visualization of the gallbladder wall, iv. difficult visualization of the diaphragm, v. areas of focal sparing. 이 방법으로 2점 이상이면 간 지방증의 존재를 시사하고, 4점 이상이면 NASH의 존재를 시사한다.

그러나 US는 간 지방증의 진단에 있어 여러 한계가 있다. 경증의 지방증에 대해서는 PPV가 67%에 불과하며[14], 검사자 간에 그리고 동일한 검사자의 경우에도 지방증의 존재와 중증도의 판정에 불일치를 보인다[15]. 그리고 병적 비만자의 경우 지방증 진단의 예민도와 특이도는 급격히 떨어져서 각각 50%와 75%에 미치지 못한다[16]. 또한, 간 섬유증, 괴사, 부종, 그리고 간의 지방 조직에 의해 측정상의 오차가 발생할 수 있다.

2) 전산화 단층 촬영(Computed tomography, CT)

CT는 간 지방증 진단에 있어서 US와 비슷한 정확성을 보인다[17]. 간 지방증은 조영 증강을 하지 않은 CT에서 간 실질 감소 현상으로 진단된다[18]. CT에서 간 지방증을 진단하는 방법은 간 실질의 감소, 간-비장 감소 차이 및 비율이며 이들 모두 특이도는 100%에 달하지만 예민도는 낮다[19]. 하지만 간 지방증의 진단에 있어서 CT는 방사능 노출의 부담, 다른 미만성 간질환의

존재가 간 지방증으로 오인될 가능성, 간내 철 함유량에 의한 간 실질의 감쇠 효과 변화, 감쇠치가 스캐너 의존적이며 기계 제조 업체 간에 표준화가 되어 있지 않다는 등의 한계점으로 인해 임상적 이용이 매우 제한적이다.

3) 자기 공명 영상(Magnetic resonance imaging, MRI)

MRI는 경도의 간 지방증 진단에 있어 US보다 우수하며 3%의 간 지방증까지 감지할 수 있다[20]. MRI는 물과 지방의 양성자 신호의 공진 주파수 차이를 이용하여 지방의 비율을 정량화한다[14]. 최근에는 간세포의 증성 지방에 존재하는 acyl-기로부터의 양성자 신호를 직접 측정하는 MRS가 간 지방증을 놀랍도록 정확하게 진단하고 정량화한다. 간 생검을 통한 지방증과의 상관 관계를 보면, AUROC 0.95-0.97, 예민도 92~100%, 특이도 92~97%이다[21]. 하지만 이 두 방법 간의 진단적 불일치는 오히려 간 생검의 한계 때문일 수 있다. MRS는 생검 조직보다 훨씬 더 큰 부피의 간을 평가하기 때문에 표본 오차가 적다. 그리고 MRS는 간 실질 내의 증성 지방을 감지하는 데 비해 간 생검은 지방 소포를 함유하고 있는 간세포의 수를 정량화하는 것이기 때문에 두 방법은 측정 대상이 다르다. 아울러 MRS는 조직학적으로 확인 가능한 거대 소포를 만들기에 부족한 소량의 증성 지방도 민감하게 진단해 내기 때문에 오히려 생검 결과보다 더 정밀하다[17]. 하지만 MRS가 향후 간 지방증의 진단에 있어서 간생검을 대체하는 표준 진단법으로 자리잡기에는 염증괴사 반응과 섬유화를 진단할 수 없으며, 비용이 막대하고 장비의 보급성이 낮다는 단점이 있다.

4) 제어 감쇠 매개 변수(Controlled attenuation parameter, CAP)

CAP는 지방이 초음파의 전파에 영향을 끼치는 원리를 이용하여 transient elastography probe (Fibroscan[®])에서 얻어지는 신호를 간 지방증의 진단에 접목한 방법이다. 그 결과는 100~400 dB/m로 표현된다. Sasso 등은 CAP를 이용하여 115명의 환자들을 후향적으로 분석한 결과 10%와 33% 이상의 간 지방증의 진단에 대해 AUROC를 각각 0.91과 0.95로 우수하게 보고하였다[22]. 또한 CAP 치는 간 섬유화에 의해 영향을 받지 않았다. CAP 검사는 방사선 노출이 없고, 시행이 간편하며, 주관적 해석이 아니기 때문에 검사자 의존적이지 않다는 장점이 있으며 간 생검에 비해 100배 이상의 조직을 평가하기 때문에 표본 오차가 적다. 하지만 비만한 사람에서는 측정에 실패할 수 있다.

2. 비알코올성 지방간염(Non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 진단

Aminotransferase 치는 AUROC 0.6~0.7 정도로 NASH 진단에 정확도가 매우 낮다[23-25]. 기준치를 19 IU/L로 낮추면 예민도는 70%까지 올릴 수 있으나 특이도가 현저히 떨어진다[26,27]. 따라서 간 지방증이 있고 aminotransferase치가 상승되어 있는 경우 NASH의 위험도가 높아지기는 하나 aminotransferase치가 정상이라고 하여 NASH를 배제할 수 있는 것은 아니다[28].

Alkhoury 등은 호중구:림프구 비율이 NASH의 예측에 도움이 된다고 하였는데 단위 unit 증가 시 NASH의 확률이 70%씩 상승하였다[29].

US를 이용하여 NASH를 진단하는 방법들은 대부분 AUROC 0.8 이하의 정확도를 보여 주었다. US-FLI 점수는 94%의 NPV로 NASH를 배제할 수 있었다[13]. 비장의 장경 116 mm를 기준으로 하였을 때 NASH 진단에 대한 AUROC는 0.920, 예민도 88%, 특이도 95%로 보고되었다[30]. 이 외에도 CT 상 체표면적으로 보정한 비장 직경[31], 조영제 증강 초음파[32] 등이 NASH 진단에 시도되어 왔으나 아직까지 영상 진단법은 NASH의 진단에는 정확도가 떨어진다.

여러 혈청 표지자들을 이용한 시도들도 활발하게 이루어지고 있다. Adiponectin[33-36], tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6)[34,35,37-40], CC-chemokine ligand-2 (CCL2)[41,42]와 같은 사이토카인에 대한 연구 결과들이 보고되었으나 아직 임상에서의 가치는 입증되지 못하였다. 급성기 단백질 중 highly sensitive C-reactive protein (CRP)[42-45]과 pentraxin-3[46] 역시 만족스러운 결과를 얻지 못하였다. 산화 스트레스는 NASH의 병인에 관여하고 있으며 간내 지질 과산화증명되기는 하였으나[47] 혈장 산화 스트레스 표지자 농도는 간내 농도와 상관 관계가 없었다.

Keratin 18 (CK18) 분획은 간세포 사멸의 표지자로 유일하게 10개 이상의 연구와 1,000명 이상의 지방간 환자에서 검증된 표지자로 단일 표지자로서는 간 지방증과 NASH를 구분하는 가장 좋은 표지자이다[23,48]. 한 메타분석은 AUROC 0.82, 예민도 78%, 특이도 86%로 보고하였다[48]. 세포 괴사의 표지자인 총 CK18 또한 NASH 진단에 있어서 CK18 분획만큼의 높은 정확도를 보였다. 이 외에도 homocysteine[49], serum prolidase enzyme activity (SPEA)[26], soluble receptor for advanced glycation end products (SRAGE)[50] 등도 연구 중이다.

NASH의 진단을 위해 다소 복잡한 모델이 고안되기도 하였다. Dixon 등은 HAIR score (hypertension, ALT 증가, insulin resistance)를 제안하였으며 이는 NASH의 진단에 정확도가 높았으나 병적 비만자들을 대상으로 하였고 아직 외부 검증 절차가 이루어지지 않았다[51]. Palekar 등은 나이, 성별, 비만, hyaluronic acid, AST 및 AST/ALT 비의 조합을 이용한 Palekar's score를 제안한 바 있다[52]. SteatoTest를 만든 Poynard 등은 13개의 매개 변수를 이용하여 공개되지 않은 수식인 NashTest를 발표하였으며 이는 특이도가 94%에 이르렀으나 예민도는 33%에 불과하였다[53]. 이 외에도 NASH Diagnostics (Undisclosed formula: cleaved/total CK18 (M30 and M65 antigens), adiponectin, resistin)[54], Apoptosis Panel (CK18 fragments, soluble Fas, Fas ligand)[55], Nice model ($-5.654 + 3.780e^{-02} \times \text{ALT (IU/L)} + 2.215e^{-03} \times \text{CK 18 fragments (IU/L)} + 1.825 \times (\text{metabolic syndrome: yes} = 1, \text{no} = 0)$, Logarithmic transformation = $1 / [1 + \text{Exp}(-\text{Nice Model})]$)[56] 등이 소개되었다.

이 외에 카페인이 경구 생체 이용률이 높고 거의 독점적으로 시토크롬 P4501A2에 의해 대사가 이루어진다는 점을 이용하여 C-카페인 호기 검사를 간기능 평가의 비침습적 도구로 이용하기도 하였는데 이 검사법은 NASH와 섬유화 진단에 대한 정확도가 우수하였다[57,58].

마지막으로, ^{99m}Tc -phytate와 ^{99m}Tc -HIBI를 이용한 간 신티그래피도 NASH의 진단에 시도된 바 있는데, 전자는 간/지방 섭취 비율로 간내 쿠퍼 세포에 의한 식균 작용을[59], 후자는 간/심장 섭취 비율로 미토콘드리아 기능 장애를 평가하였다[60].

3. 간 섬유화의 진단

1) 혈청 검사

Aminotransferases 치는 간 섬유화가 진행하더라도 간 지방증이나 염증이 호전되면 그 수치가 감소하기 때문에 간 섬유화의 진단에 그다지 도움이 되지 못한다[61]. 또한 간경변증을 포함하여 지방간의 어떤 단계에 서라도 정상 aminotransferases 치를 나타낼 수 있다[62]. 이보다는 오히려 AST/ALT 비율이 더 가치가 있어서 몇몇 연구는 AST/ALT 비가 1 이상이면 진행된 간섬유화의 예측인자임을 밝히기도 하였다[63,64]. GGT를 이용한 소규모 연구에서도 96.6 IU/L의 기준치를 적용하였을 때 각각 예민도 83%, 특이도 69%의 진단력을 보였다[65].

또한 세포외 기질 성분이 간 섬유화의 평가를 위한 좋은 예비 지표들이다. Hyaluronic acid (HA)는 콜라겐 합성이 촉진될 때 생산이 증가하며 진행된 간질환에서 동모양 혈관의 내피 기능 장애가 발생하면 그 제거 능력이 감소된다. 몇몇 소규모 연구들은 HA의 진행된 간섬유화 진단에 대한 AUROC를 0.75-0.97로 보고하였다[52,66-68]. IV형 콜라겐 7S domain도 HA와 유사한 결과를 보고하였으며[67,69], pentraxin-3를 이용한 결과도 보고되었다[46].

2) 점수화 모델

간 섬유화를 예측하기 위한 몇몇 모델은 진행된 섬유화에 대해서는 좋은 정확도를 보였지만 경미하거나 중등도의 섬유화에 대해서는 그렇지 못하였다.

Ratziu 등이 고안한 BAAT 점수는 연령, BMI, 중성 지방 및 ALT를 통합한 방법으로 예민도는 높지 않지만 100%의 특이도를 보였다[70].

유럽 간 섬유화 연구 그룹이 제안한 ELF 점수는 연령, HA, amino-terminal propeptide of type III collagen, tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1)를 병합한 방법으로 NASH에서 진행된 간섬유화에 대해 AUROC 0.87의 좋은 정확도를 보여 주었다. 그러나, 초기 및 중간 단계의 섬유화에 대해서는 진단적 정확도가 낮았다[71].

FibroTest는 나이, $\alpha 2$ -macroglobulin, bilirubin, GGT, apolipoprotein A1을 통합한 미공개 수식이다[72]. 처음에는 바이러스성 간염을 위해 개발되었지만 이후 지방간으로 확대되었고, 유의한 섬유화의 진단에 대해 AUROC 0.75-0.86 및 우수한 특이도를 보였다. 하지만 경증과 중등도의 섬유화는 구분하지 못하였다.

NAFLD fibrosis score는 가장 연구가 많이 된 모델로 13개의 연구에서 3,000명 이상의 환자들에서 검증되었다[48]. 이것은 연령, glycemia, BMI, 혈소판치, 알부민 및 AST/ALT 비율로부터 산출되며 진행된 섬유화에 대해 훌륭한 진단적 정확도를 보인다.

이 외에도 BARD (BMI, AST/ALT 비, DM의 존재)[73], FIB-4 (연령, aminotransferases, 혈소판치)[74,75], Fibrometer (포도당, 혈소판치, aminotransferases, ferritin, 체중, 연령)[76], NAFLD Diagnostic Panel (DM, 중성 지방, TIMP-1, AST)[77] 등이 간 섬유화의 진단을 위해 고안된 모델들이다.

3) 간 경도 측정

Transient elastography (Fibroscan[®])는 pulse-echo 초음파를 이용해 간의 경도를 측정하는 방법이다. 이는 만성 C형 간염에서 섬유화를 평가하는 데에 우수

한 정확성을 보여 주었으며 NAFLD에 대해서는 비록 그보다는 정확도가 떨어지지만 역시 유용할 것으로 여겨진다[78]. Transient elastography를 이용한 첫 NAFLD에서의 보고를 살펴 보면 67명의 일본인 환자에서 간 경도는 간 섬유화가 진행할수록 증가하였으며 유의한 섬유화, 진행된 섬유화, 간경변증에서 AUROC는 각각 0.876, 0.914, 0.997이었다[79]. 간경변증을 배제하기 위한 NPV는 100%였다. Fibroscan®을 이용한 첫 대규모 연구는 프랑스와 중국에서 시행되었는데 앞서 연구와 유사한 진단적 정확성을 보였으며 최적의 cut-off 값은 유의한 섬유화, 진행된 섬유화, 간경변증에서 각각 7.0 kPa, 8.7 kPa, 10.3 kPa이었다[80]. 이후 루마니아, 일본, 인도 등 여러 다른 인종 그룹에서 검증된 결과도 유사하였다[81-83]. 하지만 Fibroscan®은 비만한 경우, 복수, 늑간 사이 간격이 좁을 때 측정에 실패할 수 있으며, 급성 간염, 담즙 정체 및 간 울혈 상태에서 경도가 실제보다 높게 측정되어질 수 있다.

Acoustic radiation force impulse (ARFI) sonoelastography는 short duration acoustic pulse로 조직을 물리적으로 자극하는 기전을 이용하며 기존의 US 시스템에 통합하여 사용할 수 있다[84]. NAFLD를 포함한 만성 간질환 환자들에게 적용하였을 때 간 섬유화에 대하여 Fibroscan®과 유사한 정도의 정확도를 보였다[85].

Real-time elastography는 elastography를 기존의 US 스캐너에 접목한 방법으로 B-모드 US 기계를 사용하여 조직의 상대적 경도를 실시간으로 색으로 표현해낸다. 181명의 NAFLD 환자들에게 적용하였을 때 섬유화에 대한 진단적 정확도는 모든 단계에서 82.6-96.0%였다[86].

MR elastography는 간 전체를 평가할 수 있다는 장점이 있다. NAFLD를 포함한 만성 간질환 환자들을 대상으로 하였을 때 2.93 kPa의 cut-off 값은 섬유화 진단에 대해 98%의 예민도와 99%의 특이도를 보였다[87]. 이 방법은 경증, 중등증, 중증의 섬유화 진단을 구분하는 데에도 좋은 정확도를 보였다. Fibroscan®과의 비교 연구에서 측정 성공률 및 진단적 정확도도 더 우수하였다. 하지만 이 방법의 주요 제한점은 고비용과 장비의 보급성이 낮다는 점이다[48].

간 생검

1. 간 생검의 장, 단점

간 생검은 NAFLD 환자들에서 NASH의 정확한 진단과 다른 질병과의 감별 진단, 예후 예측, 치료 효과 평

가를 위한 가장 좋은 방법이다. 그러나 NAFLD 환자들의 대부분을 차지하는 단순 지방증 환자들에서는 간 생검이 필요치 않으며, 간 생검에 수반될 수 있는 합병증, 표본 오차, 고비용, 검사자 간의 해석 차이, 그리고 NASH로 진단된다 하더라도 생활습관 교정 이외에는 정립된 표준 치료법이 없다는 점이 제한점으로 지적되고 있다. 그리하여 일반적으로 간 생검은 진행된 간 섬유화가 의심되는 경우에 시행하도록 권고하고 있다[88].

2. 간 생검의 제한점

1) 표본 오차

간 생검 시 채취되는 간 조직은 불과 전체 간 부피의 1/50,000 가량으로 표본 오차가 발생할 수 있다. 표본 오차를 방지하기 위해서는 충분한 양의 조직을 채취하는 것이 필수적이며, 가능한 한 굵은 생검 침을 사용하여[89] 최소한 15~16 mm 이상의 길이로 두 군데 이상에서 조직을 채취하는 것이 바람직하다[90,91]. Ratziu 등의 보고에 의하면 51명의 NAFLD 환자에서 두 개의 경피적 간 생검 조직을 비교하였을 때 지방성 비교적 일관성 있는 결과를 보였지만 섬유화 단계는 41%에서 차이를 보였다[92]. 한 생검 조직에서 bridging fibrosis가 관찰된 환자의 35%에서는 다른 채취 조직에서 오직 경미한 섬유화만 관찰되거나 혹은 아예 섬유화가 관찰되지 않았다. NASH의 진단에 필수 항목인 ballooning degeneration의 경우도 환자들의 18%에서 두 조직 간에 불일치를 보여 만약 생검 조직이 한 군데에서만 얻어졌다면 진단이 간과되었을 가능성을 시사하였다. 한 보고에서는 생검이 간 양엽에서 시행되었을 때 환자의 약 30%에서 한 등급 이상의 조직학적 차이를 보였으며[93], 지방 변화나 섬유화보다 염증 정도에 대한 판정이 불일치하는 경우가 빈번하였다[94].

2) 검사자 간, 그리고 같은 검사자에서의 진단 불일치

검사자 사이, 그리고 같은 검사자에서도 진단이 불일치한다는 사실 또한 NAFLD의 조직학적 진단의 심각한 문제이다. Younossi 등의 보고에 지방 변화($\kappa = 0.64$) 및 섬유화($\kappa = 0.60$) 진단은 검사자들 간에 비교적 일치율이 높았으나 염증 반응 평가는 일치율이 낮았다($\kappa = 0.33$)[95].

3) 합병증

간 생검 시술의 합병증으로 통증의 빈도가 20% 정도로 보고되었으며 경미한 불편감을 포함한다면 그 빈도가 84%까지도 증가한다. 심각한 합병증과 사망 발생

빈도는 0.3~0.57%와 0.01%로 보고되었다[96-98]. 합병증 발생률을 줄이기 위해서는 경험 많은 검사자가 초음파 유도 하에서 시행할 것을 권한다[99,100].

3. 조직학적 진단

NASH의 전형적인 조직학적 특징은 fat deposition in hepatocytes, inflammatory cell (neutrophil and lymphocyte) infiltration in lobules, ballooning degeneration of hepatocytes, Mallory-Denk bodies, pericellular fibrosis, sinusoidal fibrosis, giant mitochondria, eosinophilic necrosis, iron deposition 등이다(Fig. 1). 그러나 한 환자에서 이 현상들이 모두 관찰되는 것은 드물며 NASH 진단을 위한 통합된 진단 기준도 아직까지는 마련되어 있지 않다.

이 중 대표적인 진단법을 소개하자면, Matteoni 등은 다음과 같이 4가지 유형으로 NAFLD를 분류하였다[101]. Type 1, fat deposition alone; type 2, fat deposition and inflammatory cell infiltration in the parenchyma; type 3, fat deposition and ballooning degeneration of hepatocytes; and type 4, type 3 criteria plus Mallory-Denk bodies or fibrosis. 이들은 약 8년의 추적 관찰 기간 동안 간질환 관련 사망률이 type 1과 2에서는 1.7%에 불과한 반면, type 3, 4에서는 11%로 증가하는 것을 관찰하였다. 그리하여 이들은 예후 측면에서 type 3, 4를 NASH로 간주할 것을 제안하였다.

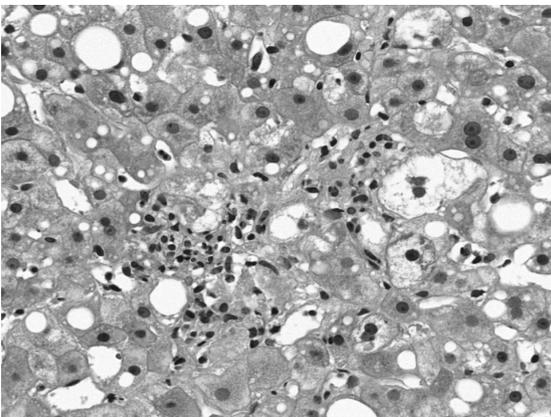


Fig. 1.

Microscopic finding of nonalcoholic steatohepatitis. There are macrovesicular fatty change, ballooning degeneration of hepatocytes, and focal hepatocyte necrosis with inflammatory cell infiltration (H&E, $\times 400$).

Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network (NASH-CRN)이 제안한 NAS scoring system은 지방 변화(0-3점), 염증(0-3점), 간세포의 풍선 변성(0-2점)을 기준으로 하여 5점 이상인 경우 NASH로, 2점 이하인 경우 non-NASH로, 그 사이 값은 경계치로 진단하였다[102]. NASH-CRN 산하 기관에서 수행된 NAS 유효성 연구에서 일부 연구자들은 5점이 예민도가 떨어진다고 하여 4점이 적당하다고 주장하기도 하였다[103]. NAS는 재현성이 뛰어나고 특수 염색이 필요치 않으며 소아에서도 적용이 가능하고, 임상 연구에서 치료 효과를 평가하는 데 유용하다. 그러나 NAS는 지방 변화 및 염증은 호전되고 섬유화만 남아있는 소위 “burned out” NASH의 경우는 진단이 불가능하다. 그리고 최근에는 Matteoni의 분류 체계가 NAS보다 NASH의 진단 및 예후를 더 잘 반영한다는 연구 결과가 보고되기도 하여[104] NAS는 NASH의 진단 도구로서보다는 치료 효과를 판정하는 도구로 더 가치를 인정받고 있다.

Younossi 등에 의해 제안된 NASH의 새로운 정의는 (1) any degree of steatosis along with centrilobular ballooning and/or Mallory-Denk bodies, 혹은 (2) any degree of steatosis along with centrilobular pericellular/perisinusoidal fibrosis or bridging fibrosis이다[105]. 이는 Matteoni의 분류법에 잘 부합하며 간질환 관련 사망률 예측에 무게를 둔다. 그리고 이 분류법은 섬유화의 존재에 중요성을 더 부과함으로써 “burned out” NASH의 진단을 가능하게 하였다.

결론

요약하자면 아직까지 NAFLD 진단의 표준 검사법은 간 생검이다. 하지만 NAFLD와 같이 흔하고 대부분 환자들의 임상 경과가 양호하며 치료법이 제한적인 질환에서 간 생검과 같은 침습적인 진단법은 일반적으로 추천되지 않으며 임상 경과에 유의한 영향을 끼칠 수 있는 진행된 섬유화가 예상되는 환자에서 선별적으로 시행할 것이 추천된다.

본 장에서 언급된 비침습적인 NAFLD 진단법들은 그 종류와 정확도가 너무나도 다양하여 오히려 임상들이 선택하기에 혼란만 가중시킨다. 하지만 이 중 NAFLD fibrosis score는 많은 수의 환자에서 그 유용성이 비교적 잘 입증되어 있어 간 생검이 필요한 환자들을 선별하는 데에 도움이 될 수 있을 것으로 여겨진다. 그리고 최근에 큰 진보를 보이고 있는 elastography를 이용한 간 경도 측정법은 앞으로도 발전 가능성이 많은 부분으

로 간 생검이 필요한 환자에게 대한 선별 검사로서 뿐만 아니라 예후 예측, 치료 반응 평가 등 상당 부분에서 간 생검을 대체할 수 있는 진단 방법으로 자리잡을 수 있을 것으로 예상된다.

참고문헌

- Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Charlotte F, Messous D, Capron D, Abella A, Massard J, Ngo Y, Munteanu M, Mercadier A, Manns M, Albrecht J. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comp Hepatol* 2005;4:10.
- Lassailly G, Caiazzo R, Hollebecque A, Buob D, Leteurtre E, Arnalsteen L, Louvet A, Pigeyre M, Raverdy V, Verkindt H, Six MF, Eberle C, Patrice A, Dharancy S, Romon M, Pattou F, Mathurin P. Validation of noninvasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest, and NashTest) for prediction of liver injury in patients with morbid obesity. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:499-506.
- Poynard T, Lassailly G, Diaz E, Clement K, Caiazzo R, Tordjman J, Munteanu M, Perazzo H, Demol B, Callafe R, Pattou F, Charlotte F, Bedossa P, Mathurin P, Ratziu V; FLIP consortium. Performance of biomarkers FibroTest, ActiTest, SteatoTest, and NashTest in patients with severe obesity: meta analysis of individual patient data. *PLoS One* 2012;7:e30325.
- Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, Tiribelli C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006;6:33.
- Calori G, Lattuada G, Ragogna F, Garancini MP, Crosignani P, Villa M, Bosi E, Ruotolo G, Piemonti L, Perseghin G. Fatty liver index and mortality: the Cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology* 2011;54:145-52.
- Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol* 2010;10:98.
- Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, Lundbom N, Rissanen A, Ridderstråle M, Groop L, Orho-Melander M, Yki-Järvinen H. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology* 2009;137:865-72.
- Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J [Clin Res Ed]* 1986;292:13-5.
- Graif M, Yanuka M, Baraz M, Blank A, Moshkovitz M, Kessler A, Gilat T, Weiss J, Walach E, Amazeen P, Irving CS. Quantitative estimation of attenuation in ultrasound video images: correlation with histology in diffuse liver disease. *Invest Radiol* 2000;35:319-24.
- Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis* 2006;38:485-9.
- Ryan CK, Johnson LA, Germin BI, Marcos A. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8:1114-22.
- Osawa H, Mori Y. Sonographic diagnosis of fatty liver using a histogram technique that compares liver and renal cortical echo amplitudes. *J Clin Ultrasound* 1996;24:25-9.
- Ballestri S, Lonardo A, Romagnoli D, Carulli L, Losi L, Day CP, Loria P. Ultrasonographic fatty liver indicator, a novel score which rules out NASH and is correlated with metabolic parameters in NAFLD. *Liver Int* 2012;32:1242-52.
- Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 2011;34:729-49.
- Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol* 2007;189:W320-3.
- Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L, Repetto G. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2004;14:635-7.
- Fierbinteanu-Braticevici C, Dina I, Petrisor A, Tribus L, Negreanu L, Carstoiu C. Noninvasive investigations for non alcoholic fatty liver disease and liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2010;16:4784-91.
- Jacobs JE, Birnbaum BA, Shapiro MA, Langlotz CP, Slosman F, Rubesin SE, Horii SC. Diagnostic criteria for fatty infiltration of the liver on contrast-enhanced helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 1998;171:659-64.
- Park SH, Kim PN, Kim KW, Lee SW, Yoon SE, Park SW, Ha HK, Lee MG, Hwang S, Lee SG, Yu ES, Cho EY. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. *Radiology* 2006;239:105-12.
- Fishbein M, Castro F, Cheruku S, Jain S, Webb B, Gleason T, Stevens WR. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:619-25.
- McPherson S, Jonsson JR, Cowin GJ, O'Rourke P, Clouston AD, Volp A, Horsfall L, Jothimani D, Fawcett J, Galloway GJ, Benson M, Powell EE. Magnetic resonance imaging and spectroscopy accurately estimate the severity of steatosis provided the stage of fibrosis is considered. *J Hepatol* 2009;51:389-97.
- Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Poupon R, Sandrin L, Miette V. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided

- ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol* 2010;36:1825-35.
23. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009;50:1072-8.
 24. Suzuki A, Lymp J, Sauver JS, Angulo P, Lindor K. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2006;26:1209-16.
 25. Nomura K, Yano E, Shinozaki T, Tagawa K. Efficacy and effectiveness of liver screening program to detect fatty liver in the periodic health check-ups. *J Occup Health* 2004;46:423-8.
 26. Kayadibi H, Gultepe M, Yasar B, Ince AT, Ozcan O, Ipcioglu OM, Kurdas OO, Bolat B, Benek YZ, Guveli H, Atalay S, Ozkara S, Keskin O. Diagnostic value of serum prolidase enzyme activity to predict the liver histological lesions in non-alcoholic fatty liver disease: a surrogate marker to distinguish steatohepatitis from simple steatosis. *Dig Dis Sci* 2009;54:1764-71.
 27. Kunde SS, Lazenby AJ, Clements RH, Abrams GA. Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese women. *Hepatology* 2005;42:650-6.
 28. Adams LA, Feldstein AE. Non-invasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. *J Dig Dis* 2011;12:10-6.
 29. Alkhoury N, Morris-Stiff G, Campbell C, Lopez R, Tamimi TA, Yerian L, Zein NN, Feldstein AE. 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.
 30. Tarantino G, Conca P, Pasanisi F, Ariello M, Mastrolia M, Arena A, Tarantino M, Scopacasa F, Vecchione R. Could inflammatory markers help diagnose nonalcoholic steatohepatitis? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:504-11.
 31. Suzuki K, Kirikoshi H, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Nozaki Y, Takahashi H, Abe Y, Inamori M, Shimamura T, Kobayashi N, Kubota K, Saito S, Nakajima A. Measurement of spleen volume is useful for distinguishing between simple steatosis and early-stage non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2010;40:693-700.
 32. Iijima H, Moriyasu F, Tsuchiya K, Suzuki S, Yoshida M, Shimizu M, Sasaki S, Nishiguchi S, Maeyama S. Decrease in accumulation of ultrasound contrast microbubbles in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2007;37:722-30.
 33. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de lasio R, Gentilcore E, Natale S, Cassader M, Rizzetto M, Pasquali R, Marchesini G. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3498-504.
 34. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodman Z, Chandhoke V, Younossi ZM. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:412-21.
 35. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology* 2004;40:46-54.
 36. Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, Fukura M, Yano H, Tsuchishima M, Tsutsumi M, Takase S. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1931-8.
 37. Lemoine M, Ratzu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, Bastard JP, Poupon R, Housset C, Capeau J, Serfaty L. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009;29:1431-8.
 38. Musso G, Gambino R, Biroli G, Carello M, Faga E, Pacini G, De Michieli F, Cassader M, Durazzo M, Rizzetto M, Pagano G. Hypoadiponectinemia predicts the severity of hepatic fibrosis and pancreatic Beta-cell dysfunction in nondiabetic nonobese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2438-46.
 39. Haukeland JW, Konopski Z, Linnestad P, Azimy S, Marit Loberg E, Haaland T, Birkeland K, Bjoro K. Abnormal glucose tolerance is a predictor of steatohepatitis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:1469-77.
 40. Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1372-9.
 41. Kirovski G, Dorn C, Huber H, Moleda L, Niessen C, Wobser H, Schacherer D, Buechler C, Wiest R, Hellerbrand C. Elevated systemic monocyte chemoattractant protein-1 in hepatic steatosis without significant hepatic inflammation. *Exp Mol Pathol* 2011;91:780-3.
 42. Haukeland JW, Damas JK, Konopski Z, Loberg EM, Haaland T, Goverud I, Torjesen PA, Birkeland K, Bjoro K, Aukrust P. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J Hepatol* 2006;44:1167-74.
 43. Hui JM, Farrell GC, Kench JG, George J. High sensitivity C-reactive protein values do not reliably predict the severity of histological changes in NAFLD. *Hepatology* 2004;39:1458-9.
 44. Targher G. Relationship between high-sensitivity C-reactive protein levels and liver histology in subjects with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*

- 2006;45:879-81.
45. Zimmermann E, Anty R, Tordjman J, Verrijken A, Gual P, Tran A, Iannelli A, Gugenheim J, Bedossa P, Francque S, Le Marchand-Brustel Y, Clement K, Van Gaal L, Sorensen TI, Jess T. C-reactive protein levels in relation to various features of non-alcoholic fatty liver disease among obese patients. *J Hepatol* 2011;55:660-5.
 46. Yoneda M, Uchiyama T, Kato S, Endo H, Fujita K, Yoneda K, Mawatari H, Iida H, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Kobayashi N, Kubota K, Saito S, Maeyama S, Sagara M, Aburatani H, Kodama T, Nakajima A. Plasma Pentraxin3 is a novel marker for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *BMC Gastroenterol* 2008;8:53.
 47. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Clore JN. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-92.
 48. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med* 2011;43:617-49.
 49. Gulsen M, Yesilova Z, Bagci S, Uygun A, Ozcan A, Ercin CN, Erdil A, Sanisoglu SY, Cakir E, Ates Y, Erbil MK, Karaeren N, Dagalp K. Elevated plasma homocysteine concentrations as a predictor of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:1448-55.
 50. Yilmaz Y, Ulukaya E, Gul OO, Arabul M, Gul CB, Atug O, Oral AY, Aker S, Dolar E. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE) in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem* 2009;42:802-7.
 51. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001;121:91-100.
 52. Palekar NA, Naus R, Larson SP, Ward J, Harrison SA. Clinical model for distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2006;26:151-6.
 53. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Massard J, Bonyhay L, Tahiri M, Thabut D, Cadranel JF, Le Bail B, de Ledinghen V. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006;6:34.
 54. Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C, Randhawa M, Afendy M, Stepanova M, Rafiq N, Goodman Z, Chandhoke V, Baranova A. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obes Surg* 2008;18:1430-7.
 55. Tamimi TI, Elgouhari HM, Alkhoury N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R, Schauer PR, Zein NN, Feldstein AE. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. *J Hepatol* 2011;54:1224-9.
 56. Anty R, Iannelli A, Patouraux S, Bonnafous S, Lavallard VJ, Senni-Buratti M, Amor IB, Staccini-Myx A, Saint-Paul MC, Berthier F, Huet PM, Le Marchand-Brustel Y, Gugenheim J, Gual P, Tran A. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1315-22.
 57. Park GJ, Wiseman E, George J, Katelaris PH, Seow F, Fung C, Ngu MC. Non-invasive estimation of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease using the 13 C-caffeine breath test. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26:1411-6.
 58. Schmilovitz-Weiss H, Niv Y, Pappo O, Halpern M, Sulkes J, Braun M, Barak N, Rotman Y, Cohen M, Waked A, Tur-Kaspa R, Ben-Ari Z. The 13C-caffeine breath test detects significant fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:408-12.
 59. Kikuchi M, Tomita K, Nakahara T, Kitamura N, Teratani T, Irie R, Yokoyama H, Suzuki T, Yokoyama T, Taguchi T, Tanaka S, Noguchi M, Ohkura T, Hibi T. Utility of quantitative 99mTc-phytate scintigraphy to diagnose early-stage non-alcoholic steatohepatitis. *Scand J Gastroenterol* 2009;44:229-36.
 60. Masuda K, Ono M, Fukumoto M, Hirose A, Munekage K, Ochi T, Okamoto N, Akagi N, Ogawa Y, Saibara T. Usefulness of Technetium-99 m-2-methoxy-isobutyl-isonitrile liver scintigraphy for evaluating disease activity of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2012;42:273-9.
 61. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005;42:132-8.
 62. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, Sterling RK, Shiffman ML, Stravitz RT, Sanyal AJ. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003;37:1286-92.
 63. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30:1356-62.
 64. Shimada M, Hashimoto E, Kaneda H, Noguchi S, Hayashi N. Nonalcoholic steatohepatitis: risk factors for liver fibrosis. *Hepatol Res* 2002;24:429-438.
 65. Tahan V, Canbakan B, Balci H, Dane F, Akin H, Can G, Hatemi I, Olgac V, Sonsuz A, Ozbay G, Yurdakul I, Senturk H. Serum gamma-glutamyltranspeptidase distinguishes non-alcoholic fatty liver disease at high risk. *Hepatogastroenterology* 2008;55:1433-8.
 66. Suzuki A, Angulo P, Lymp J, Li D, Satomura S, Lindor K. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver

- disease. *Liver Int* 2005;25:779-86.
67. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Yonemitsu K, Kato S, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Nozaki Y, Abe Y, Kubota K, Saito S, Iwasaki T, Terauchi Y, Togo S, Maeyama S, Nakajima A. Type IV collagen 7s domain is an independent clinical marker of the severity of fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis before the cirrhotic stage. *J Gastroenterol* 2007;42:375-81.
 68. Lesmana CR, Hasan I, Budihusodo U, Gani RA, Krisnuhoni E, Akbar N, Lesmana LA. Diagnostic value of a group of biochemical markers of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Dig Dis* 2009;10:201-6.
 69. Sakugawa H, Nakayoshi T, Kobashigawa K, Yamashiro T, Maeshiro T, Miyagi S, Shiroma J, Toyama A, Nakayoshi T, Kinjo F, Saito A. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2005;11:255-9.
 70. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, Khalil L, Turpin G, Opolon P, Poynard T. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117-23.
 71. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.
 72. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, Tahiri M, Munteanu M, Thabut D, Cadranet JF, Le Bail B, de Ledinghen V, Poynard T. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006;6:6.
 73. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008;57:1441-7.
 74. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 2010;59:1265-9.
 75. Adams LA, George J, Bugianesi E, Rossi E, De Boer WB, van der Poorten D, Ching HL, Bulsara M, Jeffrey GP. Complex non-invasive fibrosis models are more accurate than simple models in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26:1536-43.
 76. Cales P, Laine F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, Hunault G, Rousselet MC, Hubert I, Laafi J, Ducluzeaux PH, Lunel F. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol* 2009;50:165-73.
 77. Younossi ZM, Page S, Rafiq N, Birerdinc A, Stepanova M, Hossain N, Afendy A, Younoszai Z, Goodman Z, Baranova A. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis. *Obes Surg* 2011;21:431-9.
 78. Gaia S, Carezzi S, Barilli AL, Bugianesi E, Smedile A, Brunello F, Marzano A, Rizzetto M. Reliability of transient elastography for the detection of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 2011;54:64-71.
 79. Yoneda M, Yoneda M, Fujita K, Inamori M, Tamano M, Hiriishi H, Nakajima A. Transient elastography in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Gut* 2007;56:1330-1.
 80. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, Choi PC, Kowo M, Chan AW, Merrouche W, Sung JJ, de Ledinghen V. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51:454-62.
 81. Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, Grigorescu M, Serban A, Radu C, Crisan D, Sparchez Z, Iancu S, Maniu A. Performance of unidimensional transient elastography in staging non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2010;19:53-60.
 82. Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, Nozaki Y, Yonemitsu K, Higurashi T, Takahashi H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Tamano M, Hiraishi H, Maeyama S, Yamaguchi N, Togo S, Nakajima A. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis* 2008;40:371-8.
 83. Kumar R, Rastogi A, Sharma MK, Bhatia V, Tyagi P, Sharma P, Garg H, Chandan Kumar KN, Bihari C, Sarin SK. Liver stiffness measurements in patients with different stages of nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic performance and clinicopathological correlation. *Dig Dis Sci* 2013;58:265-74.
 84. Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, Sparchez Z, Branda H, Serban A, Maniu A. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J Gastrointest Liver Dis* 2009;18:303-10.
 85. Ebinuma H, Saito H, Komuta M, Ojio K, Wakabayashi K, Usui S, Chu PS, Umeda R, Ishibashi Y, Takayama T, Kikuchi M, Nakamoto N, Yamagishi Y, Kanai T, Ohkuma K, Sakamoto M, Hibi T. Evaluation of liver fibrosis by transient elastography using acoustic radiation force impulse: comparison with Fibroscan((R)). *J Gastroenterol* 2011;46:1238-48.
 86. Ochi H, Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, Tokumoto Y, Soga Y, Tada F, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Real-time tissue elastography for evaluation of hepatic fibrosis and portal hypertension in nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatology* 2012;56:1271-8.
 87. Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, Manduca A, Grimm RC, Rossman PJ, Fidler JL, Ehman RL. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1207-1213 e2.

88. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. 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. *Hepatology* 2012;55:2005-23.
89. Goldstein NS, Hastah F, Galan MV, Gordon SC. Fibrosis heterogeneity in nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C virus needle core biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005;123:382-7.
90. Vuppalanchi R, Unalp A, Van Natta ML, Cummings OW, Sandrasegaran KE, Hameed T, Tonascia J, Chalasani N. Effects of liver biopsy sample length and number of readings on sampling variability in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:481-6.
91. Larson SP, Bowers SP, Palekar NA, Ward JA, Pulcini JP, Harrison SA. Histopathologic variability between the right and left lobes of the liver in morbidly obese patients undergoing Roux-en-Y bypass. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1329-32.
92. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898-906.
93. Janiec DJ, Jacobson ER, Freeth A, Spaulding L, Blaszyk H. Histologic variation of grade and stage of non-alcoholic fatty liver disease in liver biopsies. *Obes Surg* 2005;15:497-501.
94. Merriman RB, Ferrell LD, Patti MG, Weston SR, Pabst MS, Aouizerat BE, Bass NM. Correlation of paired liver biopsies in morbidly obese patients with suspected nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006;44:874-80.
95. Younossi ZM, Gramlich T, Liu YC, Matteoni C, Petrelli M, Goldblum J, Rybicki L, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: assessment of variability in pathologic interpretations. *Mod Pathol* 1998;11:560-5.
96. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001;344:495-500.
97. van der Poorten D, Kwok A, Lam T, Ridley L, Jones DB, Ngu MC, Lee AU. Twenty-year audit of percutaneous liver biopsy in a major Australian teaching hospital. *Intern Med J* 2006;36:692-9.
98. Cadranet JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology* 2000;32:477-81.
99. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49:1017-44.
100. Friedman LS. Controversies in liver biopsy: who, where, when, how, why? *Curr Gastroenterol Rep* 2004;6:30-6.
101. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;116:1413-9.
102. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313-21.
103. Hjelkrem M, Stauch C, Shaw J, Harrison SA. Validation of the non-alcoholic fatty liver disease activity score. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:214-8.
104. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology* 2011;53:810-20.
105. Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Younoszai Z, Agrawal R, Goodman Z. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology* 2011;53:1874-82.