

만성 B형 및 C형 간염 환자의 간섬유화 진단을 위한 비침습적 혈액 표지자 평가

Evaluation of Noninvasive Liver Fibrosis Blood Markers in Patients with Chronic Hepatitis B and Hepatitis C

이종한 · 조주영 · 김주원 · 어 영 · 윤갑준

Jong-Han Lee, M.D., Jooyoung Cho, M.D., Juwon Kim, M.D., Young Uh, M.D., Kap Jun Youn, M.D.

연세대학교 원주의과대학 진단검사의학교실

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

Background: Liver fibrosis evaluation is an important issue in chronic liver disease patients. We aimed to develop noninvasive liver fibrosis biomarkers based on transient elastography (TE, FibroScan®) through retrospective review of clinicopathological data.

Methods: We recruited 278 chronic hepatitis B patients who underwent Fibroscan and HBV DNA testing. A total of 115 HBeAg-positive and 159 HBeAg-negative chronic hepatitis B patients were analyzed. A total of 100 hepatitis C patients were analyzed. Successful fibroscan data, gamma-glutamyl transferase (GGT) to platelet ratio (GPR), platelet count, AST, ALT, international normalized ratio of prothrombin time, total cholesterol, triglycerides, bilirubin, mean platelet volume, AST to platelet ratio index, fibrosis index based on four factors (FIB-4), neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), and NLR to platelet ratio were analyzed to determine the new noninvasive markers for assessing liver fibrosis.

Results: Elevated GPR (OR=9.1, $P=0.011$) and FIB-4 (OR=2.3, $P=0.01$) were associated with greater risk of liver fibrosis in chronic hepatitis B patients. FIB-4 (OR=6.04, $P=0.005$) was a risk factor for liver fibrosis in HBeAg-positive patients. FIB-4 (OR=2.371, $P=0.015$) and GPR (OR=33.78, $P=0.003$) were liver fibrosis risk factor in HBeAg-negative patients. In chronic hepatitis C patients, GGT (OR=1.033, $P=0.002$), triglyceride (OR=-0.990, $P=0.038$) and FIB-4 (OR=3.499, $P=0.006$) showed statistical significances. The AUCs were 0.816 in FIB-4 ($P<0.001$) and 0.849 in GPR ($P<0.001$).

Conclusions: FIB-4 and GPR may be useful blood markers for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis B and hepatitis C patients. Further well-designed prospective study is required to validate these noninvasive blood markers in clinical practice.

Key Words: Liver fibrosis, Hepatitis B, Hepatitis C, Fibroscan, Noninvasive marker

배 경

간섬유화는 만성 간질환의 질환 정도를 파악하는 매우 중요한 근거로 섬유화의 진행 정도를 파악하는 여러 가지 노력이 지속되

고 있다. 간섬유화를 평가하는 방법으로 현재까지도 기준 검사는

간 조직생검이다. 그러나 가장 정확하다고 알려진 간 조직검사의

경우 침습적이고 고비용이며, 낮은 빈도이긴 하지만 출혈과 기타

부작용이 있으며 반복 측정이 어렵다는 단점을 갖고 있다[1]. 따라

서 영상의학검사와 혈액 검체 검사 등을 이용한 비침습적 지표 등

이 널리 활용되고 있다. 실제 임상에서는 영상의학검사를 널리 활

용하는 편이다. 영상의학검사 중 간탄력도검사(transient elastogra-

phy, TE)는 비교적 쉽게 접근이 가능하고 객관적이며 반복 측정이

용이하다는 장점을 갖고 있다[2-7]. 하지만 비만 환자이거나 ALT 등

의 간효소 수치 증가 시의 해석이 용이하지 않다는 몇 가지 단점은

해결해야 할 숙제이다[2, 8, 9]. 따라서 혈액학적 표지자의 추가 검

사를 통한 진단 민감도의 향상은 진단 정확도를 향상시키는 중요

한 도구로 고려해 볼 수 있겠다. 본 연구에서는 간탄력도검사를 기

준으로 여러 항목의 혈액표지자를 만성 B형 및 만성 C형 간염환

자군에서 간탄력도검사와 비교분석해 봄으로써 이들 혈액표지자

고 있다. 간섬유화를 평가하는 방법으로 현재까지도 기준 검사는 간 조직생검이다. 그러나 가장 정확하다고 알려진 간 조직검사의 경우 침습적이고 고비용이며, 낮은 빈도이긴 하지만 출혈과 기타 부작용이 있으며 반복 측정이 어렵다는 단점을 갖고 있다[1]. 따라서 영상의학검사와 혈액 검체 검사 등을 이용한 비침습적 지표 등이 널리 활용되고 있다. 실제 임상에서는 영상의학검사를 널리 활용하는 편이다. 영상의학검사 중 간탄력도검사(transient elastography, TE)는 비교적 쉽게 접근이 가능하고 객관적이며 반복 측정이 용이하다는 장점을 갖고 있다[2-7]. 하지만 비만 환자이거나 ALT 등의 간효소 수치 증가 시의 해석이 용이하지 않다는 몇 가지 단점은 해결해야 할 숙제이다[2, 8, 9]. 따라서 혈액학적 표지자의 추가 검사를 통한 진단 민감도의 향상은 진단 정확도를 향상시키는 중요한 도구로 고려해 볼 수 있겠다. 본 연구에서는 간탄력도검사를 기준으로 여러 항목의 혈액표지자를 만성 B형 및 만성 C형 간염환자군에서 간탄력도검사와 비교분석해 봄으로써 이들 혈액표지자

Corresponding author: Jong-Han Lee, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0003-4036-8443>

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, 20 Ilisan-ro, Wonju 26426, Korea

Tel: +82-33-741-1594, Fax: +82-33-731-0506, E-mail: cello425@yonsei.ac.kr

Received: September 28, 2018

Revision received: November 9, 2018

Accepted: December 13, 2018

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2019, Laboratory Medicine Online

© 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.

의 비침습적 진단표지자로서의 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

연구방법

간탄력도검사를 시행받은 환자를 대상으로 이를 크게 만성 B형 간염군, HBeAg양성 B형 간염군, HBeAg 음성 B형 간염군 및 만성 C형 간염군으로 구별하였다. 각 질환별로 간탄력도검사를 기준으로 유의한 차이를 보이는 혈액 지표를 제시하고자 하였다.

2009년 4월부터 2017년 6월까지 총 278명의 간탄력도검사를 받은 환자를 대상으로 분석하였다. 간탄력도검사는 다음의 세 가지 기준을 충족하였을 때 유효한 검사로 간주하였다. 첫째, 최소 10회 이상의 측정, 둘째, 간경화도측정지수(liver stiffness measurement) 사분위 값에 중위수로 나눈 비율(IQR/M)이 0.3보다 작은 경우, 셋째, 간탄력도검사의 성공률이 60% 이상의 경우였다. 간탄력도검사의 참고치는 초기 간섬유화는 5.3 kPa, 중등도 간섬유화의 판단기준을 7.2 kPa로 설정하였는데 이는 간탄력도검사 관련 선행연구를 진행하였던 Kim 등[6]과 Marcellin 등[10]의 연구를 참고하여 정하였다. 구체적으로는 간탄력도검사 결과의 해석은 정상수준은 <5.3 kPa, 경도 간섬유화는 5.3-7.2 kPa, 중등도 간섬유화는 7.2-9.4 kPa, 중증 간섬유화는 9.4-12.1 kPa, 간경변은 ≥12.2 kPa로 설정하였다.

분석 혈액지표로는 혈소판 수(참고치: $165-360 \times 10^9/L$), 평균 혈소판 용적(참고치: 6.4-9.7 fL), INR(참고치: 0.92-1.13), gamma glutamyl transferase (GGT)(참고치: 남자, <60; 여자, <40 U/L), 총 콜레스테롤(참고치: <5.2 mmol/L), 중성지방(참고치: <2.26 mmol/L), aspartate transaminase (AST)(참고치: <40 U/L), alanine transaminase (ALT)(참고치: <40 U/L)와 빌리루빈(참고치: <22 $\mu\text{mol/L}$)을 분석하였다. 또한 계산 지표로 AST 대 ALT 비율, AST 대 혈소판 비율(APRI) [$100 \times \text{AST (U/L)} / \text{본원 검사실 참고범위[남자는 40 (U/L), 여자는 35 (U/L)]} / \text{혈소판 수}(10^9/L)$], GGT 대 혈소판 비율(GPR) [$100 \times \text{GGT (U/L)} / \text{본원 검사실 참고범위[남자는 60 (U/L), 여자는 40 (U/L)]} / \text{혈소판 수}(10^9/L)$], 중성구 수 대 림프구 수 비율(NLR), NLR 대 혈소판 비율과 FIB-4 점수를 확인하였다. FIB-4는

나이 \times AST/혈소판 수 $\times \text{ALT}^{1/2}$ 으로 계산하였다. Table 1에 계산지표들의 수식을 별도로 정리하였다.

HBeAg 표현에 따른 차이를 확인하고자, 총 115명의 HBeAg 양성 및 159명의 HBeAg 음성 환자를 구별하여 분석하였고, C형 간염군을 대상으로는 총 100명의 HCV 유전자형 분석을 진행한 대상군을 확인하여 간탄력도검사를 기준으로 비침습적 간섬유화 혈액 지표를 발굴하고자 하였다. 간탄력도검사는 섬유화 유무를 기준으로 분석하고자 섬유화 초기 단계의 cut-off 5.3 kPa를 기준으로 설정하였다.

1. 통계방법

통계분석은 SPSS version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 변수들의 정규성 검정을 Kolmogorov-Smirnov 검사로 확인하였고, 간탄력도검사 결과에 따른 지표별 차이를 확인하며, 로지스틱 회귀분석으로 지표별 간섬유화 위험도를 산출하였다. 또한 receiver operating characteristic (ROC) 커브 분석을 통하여 도출된 비침습적 표지자의 민감도 특이도를 비교분석하였다.

결 과

1. 만성 B형 간염 환자

대상 지표별 기본 분석 결과를 Table 1에 제시하였다. 간탄력도 결과와 유의한 상관성을 보여주는 측정 지표로는 GGT, AST, ALT, 혈소판 수 및 INR이었고($r > \pm 0.4$), 계산지표로는 APRI, GPR 및 FIB-4이었다($r > 0.67$). 대표적으로 GGT, GPR, FIB-4의 박스 분포는 간섬유화 정도가 높을수록 증가하였으며 혈소판 수는 감소하였다(Fig. 1). 간탄력도 측정 결과를 기준으로 분석한 결과 간탄력도 결과가 증가할수록 혈소판은 감소 경향을 보여주었고, AST, ALT 그리고 FIB-4는 증가하였다. FIB-4와 GPR은 경도의 간섬유화 범위(LSM 5.3-7.2 kPa) 때가 정상군(LSM <5.3 kPa)보다 높았다(FIB-4: 1.06 ± 0.57 vs. 1.54 ± 1.02 , $P = 0.003$ /GPR: 0.25 ± 0.27 vs. 0.43 ± 0.48 , $P = 0.018$). 경도의 간섬유화 그룹과 중등도의 간섬유화 그룹(LSM ≥ 7.2 kPa) 간에는, 중등도 간섬유화 그룹에서 GGT

Table 1. Summary of calculated biomarkers for liver fibrosis expectation

Calculated biomarkers	Calculation formula
APRI	$[100 \times \text{AST (U/L)} / \text{ULN (40 (U/L) for male, 35 (U/L) for female)} / \text{platelet count (} 10^9/L)]$
FIB-4	$\text{age} \times \text{AST (U/L)} / \text{platelet count} \times \text{ALT}^{1/2}$
GPR	$[100 \times \text{GGT (U/L)} / \text{ULN (60 (U/L) for male, 40 (U/L) for female)} / \text{platelet count (} 10^9/L)]$
NLR	Neutrophil/lymphocyte
NLR to platelet count	Neutrophil/lymphocyte/platelet count

Abbreviations: APRI, AST to platelet ratio index; ULN, upper limit of normal; FIB-4, fibrosis index based on four factors; GPR, GGT to platelet ratio; GGT, gamma-glutamyl transferase; NLR, neutrophil to lymphocyte ratio.

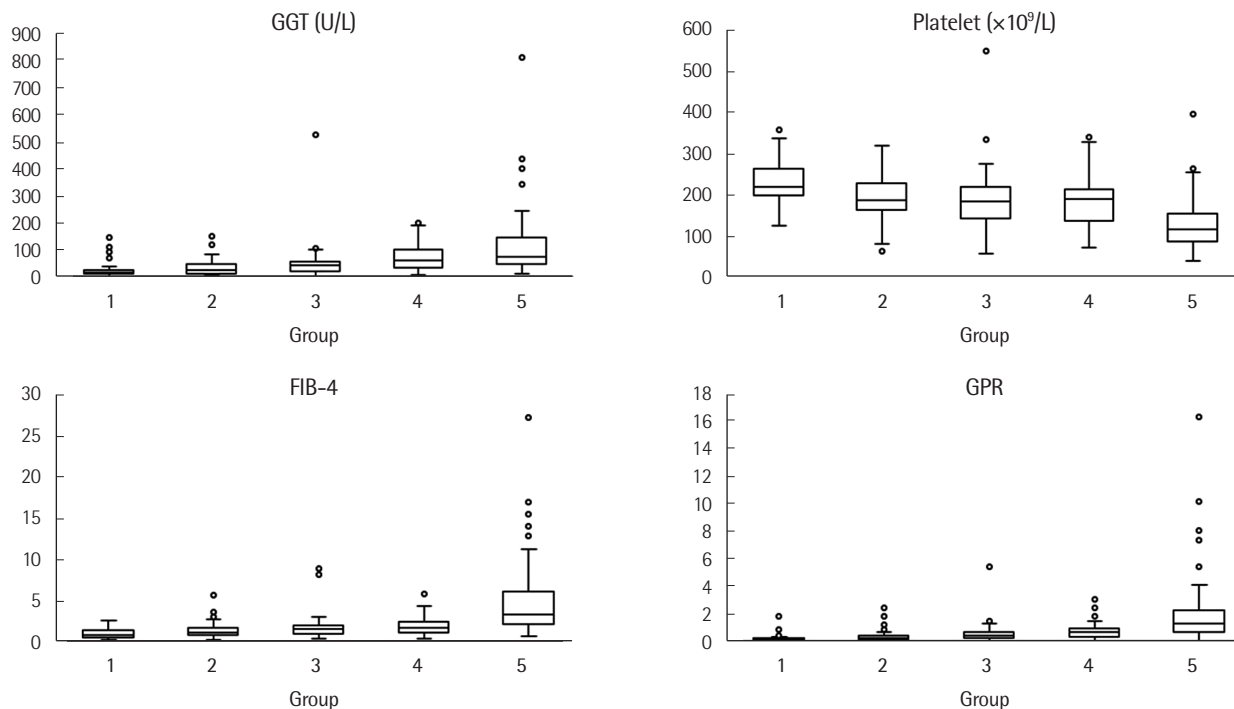


Fig. 1. Box plot of gamma glutamyl transferase (GGT), platelet count, FIB-4 and GPR in chronic hepatitis B patients.

(0.43 ± 0.48 vs. 1.38 ± 1.83 U/L), AST (34 ± 19.0 vs. 108 ± 219 U/L), ALT (41 ± 37 vs. 144 ± 363 U/L), INR (1.02 ± 0.06 vs. 1.12 ± 0.16), 평균혈소판용적(8.0 ± 0.7 vs. 8.5 ± 0.9 fL), APRI (0.50 ± 0.39 vs. 2.27 ± 5.47), FIB-4 (1.6 ± 1.0 vs. 3.5 ± 3.4), GPR (0.43 ± 0.48 vs. 1.38 ± 1.8) 및 NLR 대 혈소판 수(0.009 ± 0.006 vs. 0.013 ± 0.01)가 높았고 ($P < 0.001$), 혈소판 수(198 ± 59 vs. $156 \pm 71 \times 10^9/L$, $P < 0.001$)와 콜레스테롤(177 ± 35 vs. 166 ± 33 , $P = 0.033$)의 경우는 더 낮았다(Table 2).

다중로지스틱회귀분석에서 FIB-4 (OR=2.3, 95% CI: 1.2–4.2, $P = 0.01$)와 GPR (OR=9.1, 95% CI: 1.7–50.0, $P = 0.011$)이 간탄력도 검사에서 간섬유화(TE, ≥ 5.3 kPa) 여부를 정상간(TE, < 5.3 kPa) 대비 통계적으로 유의한 위험도를 보여주었다. ROC 커브 분석에서는 GPR이 0.84, FIB-4가 0.82의 곡선하면적(area under the curve)을 보여주었다(Fig. 2). 간탄력도검사 간섬유화(TE, ≥ 5.3 kPa) 기준으로 확인해 본 FIB-4와 GPR의 진단민감도, 진단특이도, 양성예측도, 음성예측도 그리고 AUC 값을 Table 3에 정리하였다.

2. 만성 B형 간염 환자에서 HBeAg에 따른 차이

LSM 수준, 평균혈소판용적(MPV), HBV DNA 수준은 HBeAg 양성자가 음성자보다 더 높았다. 나이는 HBeAg 음성자가 양성자보다 더 많았고, 중성구림프구비율(NLR)은 더 높았다(Table 4). TE의 cut-off를 5.3 kPa로 설정한 경우 FIB-4 (OR=6.04, $P = 0.005$)가

HBeAg 양성자에서 간섬유화 위험도를 높였으며, 이에 비해 HBeAg 음성자에서는 GPR (OR=33.78, $P = 0.003$)과 FIB-4 (OR=2.371, $P = 0.015$)가 간섬유화 위험도를 의미 있게 상승시키는 것으로 확인되었다.

3. 만성 C형 간염 환자

만성 HCV 감염자는 유전자형 1b 54명, 유전자형 2a 46명을 분석하였다(Table 5).

유전자형별로 다른 지표들은 통계적인 유의미한 차이를 보이지 않았으나 INR의 경우 유전자형 2a (1.03 ± 0.09)가 유전자형 1b (1 ± 0.07)보다 유의하게 높은 값을 보였다($P = 0.047$). LSM 5.3 kPa를 기준으로 5.3 kPa 이상은 총 74명, 5.3 kPa 미만은 26명이었다. AST, ALT, GGT, Bilirubin, MPV, INR, APRI, FIB-4, GPR, NLR to platelet ratio의 값은 LSM 5.3 kPa 이상 군에서 5.3 kPa 미만 군보다 높았다. 이에 비해, 총 콜레스테롤, 중성지방과 혈소판의 수는 LSM 5.3 kPa 이상 군에서 5.3 kPa 미만 군보다 더 낮았다.

간탄력도검사기준 5.3 kPa 적용 시 간섬유화정도를 정상간(간탄력도검사 < 5.3 kPa) 대비 확인하는 다중로지스틱회귀분석에서는 GGT (OR=1.033, $P = 0.002$), TG (OR=-0.990, $P = 0.038$) 및 FIB-4 (OR=3.499, $P = 0.006$)가 통계적으로 유의하게 도출되었다.

ROC 커브 분석에서는 FIB-4가 0.816 ($P < 0.001$), GPR이 0.849 ($P < 0.001$)의 곡선하면적을 보여주었다.

Table 2. Levels of parameters according to different liver stiffness measurement levels measured by transient elastography

Scale of liver stiffness measurement (kPa)	< 5.3 kPa	5.3–< 7.2 kPa	7.2–< 9.4 kPa	9.4–< 12.2 kPa	≥ 12.2 kPa
Number	60	54	38	34	92
Age	44 ± 12.9 (20–81)	46.8 ± 11.1 (19–73)	46.7 ± 12 (25–78)	46.9 ± 9.7 (29–66)	49.5 ± 10.4 (15–81)
Gender ratio (Male/Female)	1.3 (34/26)	1.7 (34/20)	1.1 (20/18)	1.3 (19/15)	3 (69/23)
HBeAg (Positive/Negative)	0.3 (13/47)	0.6 (20/34)	0.5 (13/25)	0.9 (16/18)	1.4 (54/38)
Liver stiffness measurement (kPa)	4 ± 0.69 (2.4–5.2)	6.03 ± 0.54 (5.3–7.1)	8.14 ± 0.67 (7.2–9.3)	10.72 ± 0.87 (9.4–12)	24.92 ± 12.82 (12.2–72)
Inter quartile range	0.57 ± 0.25 (0.1–1.1)	0.76 ± 0.33 (0.1–1.6)	1.06 ± 0.4 (0.3–2)	1.31 ± 0.58 (0.3–2.7)	2.74 ± 1.73 (0–10.7)
Success rate (%)	93.4 ± 11 (60–100)	96.6 ± 7.6 (71–100)	97.5 ± 8.14 (63–100)	98.6 ± 4.3 (80–100)	96.6 ± 7.6 (67–100)
Platelet (×10 ⁹ /L)	230.9 ± 51.3 (128–358)	197.8 ± 59.1 (66–321)	194.3 ± 81.6 (62–547)	188.7 ± 63 (77–339)	128.5 ± 55.4 (44–395)
GGT (U/L)	28 ± 26.4 (6–146)	38.6 ± 32.7 (9–153)	58.4 ± 82.3 (7–525)	71 ± 49.6 (8–203)	114 ± 115.4 (15–809)
Cholesterol (mg/dL)	180.6 ± 30.1 (118–253)	177.2 ± 35.4 (91–280)	172.9 ± 37.3 (120–318)	174.2 ± 28.4 (124–236)	159.7 ± 32.6 (88–235)
AST (U/L)	30.3 ± 32.6 (12–265)	33.6 ± 19 (17–135)	58.1 ± 50.1 (20–242)	57.4 ± 40.9 (18–178)	147.1 ± 283.8 (19–2255)
ALT (U/L)	40.4 ± 93 (8–738)	40.7 ± 36.8 (6–229)	81.1 ± 96.4 (10–445)	69 ± 71.9 (11–304)	198.2 ± 473.5 (12–3690)
INR (sec)	1.01 ± 0.06 (0.86–1.16)	1.02 ± 0.06 (0.9–1.16)	1.06 ± 0.12 (0.92–1.7)	1.05 ± 0.05 (0.96–1.16)	1.16 ± 0.19 (0.91–2.52)
Bilirubin (mg/dL)	0.74 ± 0.33 (0.17–1.7)	0.83 ± 0.42 (0.3–2.22)	0.74 ± 0.35 (0.3–1.8)	0.69 ± 0.33 (0.2–1.52)	1.45 ± 2.11 (0.3–14.41)
HBVDNA (IU/mL)	2,501,759 ± 9,852,121.6 (22–61,300,000)	7,517,113.8 ± 29,539,919.9 (24–170,000,000)	16,979,600.8 ± 45,423,067 (36–170,000,000)	11,900,288.5 ± 40,473,294.1 (23–170,000,000)	9,871,502.5 ± 20,958,659.1 (37–132,000,000)
Triglyceride (mg/dL)	104.3 ± 53.2 (29–277)	99.3 ± 49.8 (42–239)	84.8 ± 37.8 (32–198)	93.7 ± 29.7 (46–169)	94.3 ± 43 (28–282)
MPV (fL)	7.918 ± 0.748 (6.4–10)	7.989 ± 0.715 (6.2–9.4)	8.113 ± 0.767 (6.3–9.9)	8.147 ± 0.827 (6.4–10.5)	8.762 ± 0.882 (7–11.2)
Neutrophil (%)	55.9 ± 8.5 (38.1–74.9)	53.3 ± 8.2 (37.7–68.1)	52.5 ± 8.7 (36.3–71.3)	50.9 ± 10.6 (31.9–74.6)	52.3 ± 10.5 (27.5–80.5)
Lymphocyte (%)	34 ± 7.2 (18.6–49.8)	36 ± 7.7 (19.6–50.6)	36.8 ± 7.6 (19.8–52.8)	38.2 ± 10.1 (16.8–56.8)	35.2 ± 9.6 (11.8–59.5)
AST/ALT	1.04 ± 0.42 (0.36–2.5)	1.04 ± 0.47 (0.45–3.17)	1.02 ± 0.65 (0.44–4)	1.08 ± 0.59 (0.48–3.14)	1.14 ± 0.72 (0.37–4.08)
APRI	0.37 ± 0.398 (0.096–3.125)	0.498 ± 0.394 (0.169–2.836)	0.913 ± 0.902 (0.274–4.327)	0.873 ± 0.624 (0.174–2.565)	3.348 ± 7.101 (0.181–53.184)
FB-4	1.063 ± 0.573 (0.266–2.591)	1.539 ± 1.019 (0.379–5.756)	2.022 ± 1.807 (0.527–8.89)	2.023 ± 1.127 (0.4–5.833)	4.657 ± 3.961 (0.736–27.084)
GPR	0.251 ± 0.266 (0.059–1.83)	0.43 ± 0.485 (0.08–2.47)	0.689 ± 0.889 (0.065–5.435)	0.821 ± 0.655 (0.051–3.076)	1.878 ± 2.225 (0.095–16.245)
NLR	1.778 ± 0.665 (0.765–4.027)	1.604 ± 0.604 (0.751–3.474)	1.549 ± 0.633 (0.688–3.601)	1.534 ± 0.841 (0.562–4.44)	1.716 ± 0.954 (0.476–6.822)
NLR/platelet	0.008 ± 0.004 (0.003–0.02)	0.009 ± 0.006 (0.003–0.044)	0.009 ± 0.005 (0.003–0.025)	0.01 ± 0.009 (0.002–0.039)	0.016 ± 0.012 (0.002–0.071)

Abbreviations: GGT, gamma-glutamyl transferase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; INR, international normalized ratio of prothrombin time; MPV, mean platelet volume; APRI, AST to platelet ratio index; FB-4, fibrosis index based on four factors; GPR, GGT to platelet ratio; NLR, neutrophil to lymphocyte ratio.

Table 3. Diagnostic sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of FIB-4 and GPR for liver fibrosis prediction

Parameters	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC	P value
FIB-4 (cut-off: 1.571)	65.1	86.7	86.7	86.7	0.82	<0.001
GPR (cut-off: 0.299)	79.4	83.3	83.3	83.3	0.84	<0.001

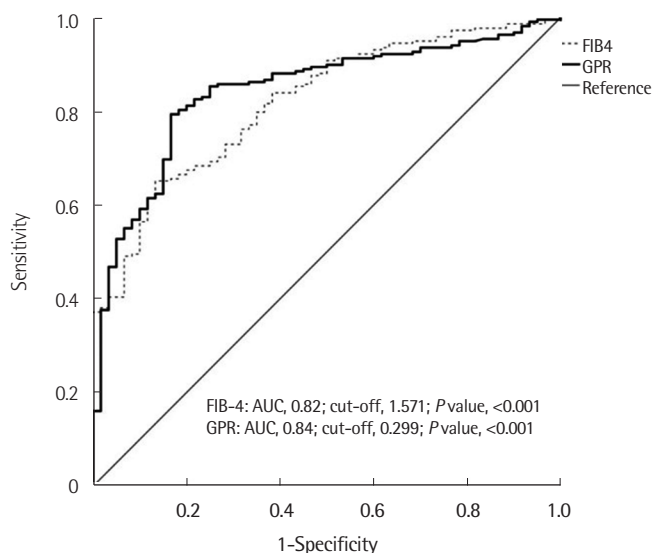
Abbreviations: FIB-4, fibrosis index based on four factors; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; GPR, gamma-glutamyl transferase to platelet ratio; AUC, area under the curve.

Table 4. Characteristics of baseline parameters according to HBeAg status

	HBeAg positive (N=115)	HBeAg negative (N=159)	P value
Age (yr)	45.4 ± 11.9	48.3 ± 10.9	0.037
Sex ratio (Male:Female)	1.7 (73:42)	1.7 (100:59)	0.921*
Liver stiffness measurement (kPa)	14.751 ± 11.156	10.757 ± 10.683	0.003
AST (U/L)	95.8 ± 142.3	63 ± 193	0.124
ALT (U/L)	132.5 ± 268	80.5 ± 302.5	0.142
GGT (U/L)	68.3 ± 58.2	63.7 ± 94.2	0.644
Total Bilirubin (mg/dL)	0.9 ± 0.55	1.05 ± 1.63	0.344
Total Cholesterol (mg/dL)	170.5 ± 30.8	172.1 ± 35.4	0.696
Triglyceride (mg/dL)	94.5 ± 41.9	97.4 ± 47.5	0.605
Platelet count (×10 ⁹ /L)	174.1 ± 73.6	186.4 ± 70.1	0.163
Mean platelet volume (fL)	8.41 ± 0.86	8.17 ± 0.88	0.022
Prothrombin time, INR	1.09 ± 0.12	1.07 ± 0.16	0.265
HBV DNA (IU/mL)	21,028,204.8 ± 41,665,244.9	591,105.9 ± 3,276,928.3	<0.001
AST/ALT ratio	1.11 ± 0.71	1.04 ± 0.46	0.282
APRI	1.747 ± 2.596	1.345 ± 5.241	0.449
FIB-4	2.958 ± 2.799	2.275 ± 2.879	0.05
GPR	0.9 ± 0.813	0.922 ± 1.777	0.889
NLR	1.53 ± 0.704	1.753 ± 0.829	0.02
NLR/platelet count	0.011 ± 0.008	0.012 ± 0.01	0.309

*Pearson's chi-square test. Statistical significant P values were printed in bold.

Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; INR, international normalized ratio of prothrombin time; APRI, AST to platelet ratio index; FIB-4, fibrosis index based on the four factors; GPR, GGT to platelet ratio; NLR, neutrophil to lymphocyte ratio.

**Fig. 2.** Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis of FIB-4 and GPR for the evaluation of liver fibrosis comparing transient elastography (fibroscan) results in chronic hepatitis B patients.

고찰

만성 간질환자에서 간섬유화의 정도를 확인하는 것은 질환의 진행 정도를 판단하는 기준으로 매우 중요하다. 현재까지 알려진 기준 검사로는 초음파 가이드 간조직검사이나 이는 침습적이고 출혈이나 기타 부작용의 위험과 반복 측정의 문제로 널리 사용되기에는 어려움이 있다. 본 연구는 비침습적인 방법으로 경제적이고 손쉽게 반복 측정이 가능한 간섬유화 정도를 판단하기 위한 지표를 개발하고자 하였다. 그러나 기준 검사인 간조직검사와 여러 가지 혈액검사 지표를 비교하는 것은 현실적으로 어려움이 있어 간조직검사의 결과와 비교적 높은 상관성을 보여주는 간탄력도검사의 결과를 기준으로 여러 가지 지표들을 비교 분석하였다. 대표적인 바이러스성 간염 환자를 대상으로 만성 B형 간염 환자, HBeAg 여부를 고려한 만성 B형 간염 환자 및 만성 C형 간염 환자를 대상으로 비침습적 간섬유화 진단 마커를 개발하고자 하였다. 분석 결과 B형 간염 환자에서는 GPR과 FIB-4 지표가 의미 있게 도출되었

Table 5. Levels of parameters according to liver stiffness measurement in chronic HCV infected patients

	LSM < 5.3 kPa (N = 74)	LSM ≥ 5.3 kPa (N = 26)	P value
Genotype 1b/2a	37/37	17/9	0.176*
Age (yr)	53	58	0.016
Male/Female	37/37	11/15	0.499*
LSM (kPa)	4.05	10.3	<0.001
AST (U/L)	36	65	<0.001
ALT (U/L)	44.5	82	0.001
GGT (U/L)	27.5	83.5	<0.001
Bilirubin (mg/dL)	0.58	0.705	0.010
Cholesterol (mg/dL)	191.5	160.5	0.001
Triglyceride (mg/dL)	117.5	98	0.004
Platelet (×10 ⁹ /L)	237.5	173.5	<0.001
MPV (fL)	7.25	7.9	0.004
INR (sec)	0.985	1.025	0.005
HCV RNA	834,000	1,510,000	0.535
AST to ALT ratio	0.86	0.845	0.786
APRI	0.405	1.005	<0.001
FIB-4	1.245	2.78	<0.001
GPR	0.12	0.475	<0.001
NLR	1.755	1.45	0.210
NLR/platelet	0.007	0.008	0.049

*Pearson's chi-square test.

Abbreviations: GGT, gamma-glutamyl transferase; MPV, mean platelet volume; INR, international normalized ratio of prothrombin time; APRI, AST to platelet ratio index; FIB-4, fibrosis index based on four factors; GPR, GGT to platelet ratio; NLR, neutrophil to lymphocyte ratio.

고, 특별히 HBeAg 양성자에서는 FIB-4가 HBeAg 음성자에서는 GPR과 FIB-4가 유의하였다. 만성 C형 간염 환자에서도 GPR과 FIB-4 지표가 간섬유화를 판단하는 의미 있는 지표로 확인되었다.

이번 연구에서는 대표적인 만성 바이러스성 간염 질환인 B형 및 C형 간염바이러스 감염자들을 대상으로 비침습적 간섬유화 정도를 판별하는 마커를 찾고자 하였다.

미국간학회에서는 만성 B형 간염 환자의 경우 치료의 결정은 B형 간염바이러스의 s표면항원(HBsAg), e항원(HBeAg), 바이러스의 양, 간염증 정도, 간섬유화 정도를 고려하도록 권고하고 있다[11]. FIB-4 지표는 여러 종류의 간질환에서의 그 의의가 보고되었는데, 만성 B형 간염 환자에서 한 연구에 의하면, cut-off 1.6을 기준으로 진행된 간섬유화 정도를 예측하는 음성예측도가 93.2%라는 보고가 있었다[12]. 또한 다른 연구에 의하면 FIB-4는 만성 B형 간염 환자에서 F3-F4 수준의 간섬유화는 91% 진단민감도(AUROC: 0.91)를, 보다 심한 F4 수준은 88% 진단민감도(AUROC: 0.93)를 보인다고 보고하였다[13].

최근에는 HBeAg 양성 여부와 상관없이 GPR, APRI와 FIB-4 지표들은 간섬유화 진행 정도를 중등도 수준으로 예측 가능한 것으로 확인되었고, 이 중 GPR이 가장 높은 효율을 보여주었다[14]. GPR

의 경우 영국의 Lemoine 등[15]이 서아프리카의 B형 간염 환자에서 유의한 간섬유화 정도를 예측하고자 개발하였다. Lemoine 등은 GPR이 서아프리카의 만성 B형 감염자에서 APRI와 FIB-4보다 간섬유화 정도를 보다 더 정확하게 보여주는 것으로 보고하였다. 이번 연구에서 GPR cut-off 0.299를 적용하면 곡선하면적 0.84, 민감도 79.4%, 특이도 83.3%, 양성예측도 83.3%, 음성예측도 83.3%를 보여 Lemoine 등의 연구[15]의 GPR cut-off 0.32 기준 시 F0-1과 F2-4를 구분하는 곡선하면적 0.80, 민감도 84%, 특이도 69%, 양성예측도 63%, 음성예측도 86%와 비교 시 특이도와 양성예측도에 서 보다 높은 수준임을 확인하였다.

C형 간염의 경우, APRI 지표는 한 메타분석에 의하면 심한 섬유화를 예측하는 곡선하면적이 0.8 정도였고, cut-off 1.0을 이용하면 민감도, 특이도는 각각 61%, 64% 정도로 확인되었다[16]. FIB-4의 경우 cut-off 1.45 미만인 경우 심한 간섬유화를 선별하는 음성예측도가 94.7%, 민감도는 74.3% 수준이었고, FIB-4가 3.25를 상회하는 경우 심한 간섬유화(F3-F4)를 확인하는 양성예측도가 82.1%, 특이도가 98.2%로 보고되었다[17]. 다중로지스틱회귀분석에서는 GGT, TG, FIB-4가 통계적으로 C형 간염으로 인한 간섬유화를 구별하는 유의미한 지표로 도출되었는데 간섬유화 위험도의 예측은 FIB-4 수치의 증가가 가장 높았다. 그러나 이번 연구에서 HCV는 대상자 수가 충분하지 않다고 판단된다. 기존에 보고된 FIB-4의 경우 AUROC 0.85 수준[17]인데 이번 연구에서는 0.816 정도로 다소 낮았다.

이번 연구의 제한점으로는 첫째, 후향적 자료 분석의 한계점, 둘째, 간조직검사 대신 Fibroscan검사를 기준 검사로 설정하여 비만 환자, ALT가 높은 환자 등 간탄력도검사 결과에 부정확요소를 배제하지 못한 점, 셋째, C형 간염 환자의 경우 대상자 수가 부족한 점, 넷째, 계산 지표 외에 cytokeratin 18이나 Enhanced Liver Fibrosis (ELF) 검사 등 실제 측정 지표를 포함하지 못한 점, 다섯째, 간섬유화 발생 기준을 질환별로 구분하지 않고 간탄력도검사 결과 5.3 kPa 이상으로 일괄적용하여 분석한 점 등을 언급할 수 있겠다. 최근 cytokeratin 18, ELF 그리고 M2BPGi 등을 직접 측정하여 비침습적으로 간섬유화 정도를 판별하려는 노력들이 이어지고 있다. 이러한 직접 측정 마커는 추가 비용이 발생하지만 진단 정확도 면에서 계산지표 등 간접 측정 마커와 비교 연구는 더 필요한 실정이다. 대표적으로, Cytokeratin 18은 간세포 특이적 세포사멸 마커로 알려져 있으며 비침습적으로 지방증(steatosis), 염증 및 섬유화의 정도를 예측하는 지표로 밝혀졌다[18]. ELF는 hyaluronic acid (HA), tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 (TIMP-1), 그리고 aminoterminal propeptide of procollagen type III (P3NP)를 조합한 수식으로 C형 간염이 주된 만성 간질환에서 중등도 이상의 간섬유화를 진단하는 높은 정확도를 보여주었다[19]. 최근에는

M2BPGi 연구가 활발한데, 당단백 근간의 바이오 마커로 *Wisteria floribunda* agglutinin-positive Mac-2-binding protein (WFA+M2BP) 으로 알려져 있으며, 바이러스 간염[20], 만성 C형 간염[21], 비알코올성지방간(NAFLD) [22], 원발성담관염(primary biliary cholangitis) [23] 및 자가면역간염(autoimmune hepatitis) [24], 담도폐쇄증(biliary atresia) [25] 등의 여러 가지 질환에서 간섬유화를 예측하는 지표로 알려졌다. 이번 연구에서 GPR이 만성 B형 간염 환자에서는 FIB-4보다 간섬유화 정도를 보다 잘 설명해 주는 것 같았으나 이번 연구의 전체 대상자의 57% 정도가 HBeAg 음성자이었으며 대상자를 HBeAg 양성 여부로 나누어서 분석 시에는 HBeAg 양성자에서 GPR이 간섬유화 정도를 반영하는 정도가 보다 낮았다. 그 원인으로 HBeAg이 음전화될 때의 임상적 특징으로 B형 간염 만성화 시간이 HBeAg 양성자보다 일반적으로 길고 그에 따라 GGT와 혈소판 수치가 간섬유화를 예측하기에 보다 더 많은 변수에 노출될 수 있다는 점과 심하게 진행된 간섬유화에서의 지표상의 현격한 차이(예를 들면 아주 심한 간질환에서의 정상 간효소 수준 등의 보고 시) 등을 고려해 볼 수 있을 것 같다. 따라서 이에 대한 보완 추적 연구가 도움이 되리라 생각된다.

향후 비침습적 간섬유화 진단마커 개발 연구와 관련한 추적연구가 요망되며 특별히 최근 증가하고 있는 비알코올성지방간 환자를 대상으로 비침습적 간섬유화 및 비알코올성지방염증(non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 질환의 감별을 위한 비침습적 진단 검사 개발도 유용하리라 판단된다.

요 약

배경: 비침습적 간섬유화 판별은 만성 간질환자들에게 매우 중요한 이슈이다. 이번 연구에서는 간탄력도검사를 기준으로 후향적 자료분석을 통한 비침습적 간섬유화 마커를 개발하고자 하였다.

방법: 간탄력도검사와 B형 간염바이러스 핵산증폭검사를 시행한 278명의 만성 간염 환자 데이터를 분석하였다. 또한 총 115명의 HBeAg 양성 환자와 159명의 HBeAg 음성 환자의 데이터를 각각 분석하였다. 또한 총 100명의 만성 C형 간염 환자의 데이터도 분석하였다. 성공적인 간탄력도검사 수행 및 gamma-glutamyl transferase (GGT) to platelet ratio (GPR), 혈소판 수(platelet count), 간전이 효소(AST, ALT), 프로트롬빈시간(international normalized ratio, INR), 총콜레스테롤(total cholesterol), 중성지방(triglycerides), 빌리루빈(bilirubin), 평균혈소판용적(mean platelet volume, MPV), AST to platelet ratio index (APRI), fibrosis index based on four factors (FIB-4), 중성구 대비 림프구 비율(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) 지표와 NLR 대비 혈소판수 비율 분석을 통하여 간섬유화 진단 마커를 찾기 위한 분석을 진행하였다.

결과: 만성 B형 간염 환자군에서는 GPR (OR=9.1, $P=0.011$)과 FIB-4 (OR=2.3, $P=0.01$) 간섬유화의 위험도 증가와 상관관계가 높았다. HBeAg 양성자에서는 FIB-4 (OR=6.04, $P=0.005$)가 HBeAg 음성자에서는 FIB-4 (OR=2.371, $P=0.015$)와 GPR (OR=33.78, $P=0.003$)이 간섬유화의 위험도를 의미 있게 반영하였다. C형 간염 환자에서는 다중로지스틱회귀분석에서는 GGT (OR=1.033, 95% CI: 1.012–1.055, $P=0.002$), 중성지방 (OR=-0.990, 95% CI: 0.981–0.999, $P=0.038$) 및 FIB-4 (OR=3.499, 95% CI: 1.444–8.48, $P=0.006$)가 통계적으로 유의하게 도출되었다. ROC 커브 분석에서는 FIB-4가 0.816 ($P<0.001$), GPR이 0.849 ($P<0.001$)의 곡선하 면적(area under the curve)을 보여주었다.

결론: FIB-4와 GPR은 만성 B형 간염과 C형 간염 환자의 간섬유화 정도를 판별하는 유용한 마커로 생각된다. 그러나 임상적으로 적용하기 위하여 보다 잘 설계된 전향적 연구를 통한 비침습적인 혈액 마커에 대한 검증이 필요하다고 판단된다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

본 연구는 대한진단면역학회 2017년 학술연구비 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001;344:495-500.
2. Coco B, Oliveri F, Maina AM, Ciccorossi P, Sacco R, Colombatto P, et al. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat* 2007;14: 360-9.
3. Colombo S, Belloli L, Buonocore M, Jamoletti C, Zaccanelli M, Badia E, et al. True normal liver stiffness measurement (LSM) and its determinants. *Hepatology* 2009;50:741A-2A.
4. Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006;55:403-8.
5. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver

- fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008;134:960-74.
6. Kim SU, Choi GH, Han WK, Kim BK, Park JY, Kim DY, et al. What are 'true normal' liver stiffness values using FibroScan?: a prospective study in healthy living liver and kidney donors in South Korea. *Liver Int* 2010; 30:268-74.
 7. Pinzani M, Vizzutti F, Arena U, Marra F. Technology Insight: noninvasive assessment of liver fibrosis by biochemical scores and elastography. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008;5:95-106.
 8. Arena U, Vizzutti F, Corti G, Ambu S, Stasi C, Bresci S, et al. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology* 2008;47:380-4.
 9. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Häussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology* 2008;47:592-5.
 10. Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, Douvin C, Poupon R, De Ledinghen V, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2009;29:242-7.
 11. Lok AS and McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009;50:661-2.
 12. Kim SU, Seo YS, Cheong JY, Kim MY, Kim JK, Um SH, et al. Factors that affect the diagnostic accuracy of liver fibrosis measurement by Fibroscan in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:498-505.
 13. Kim BK, Kim DY, Park JY, Ahn SH, Chon CY, Kim JK, et al. Validation of FIB-4 and comparison with other simple noninvasive indices for predicting liver fibrosis and cirrhosis in hepatitis B virus-infected patients. *Liver Int* 2010;30:546-53.
 14. Liu DP, Lu W, Zhang ZQ, Wang YB, Ding RR, Zhou XL, et al. Comparative evaluation of GPR versus APRI and FIB-4 in predicting different levels of liver fibrosis of chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2018;25:581-9.
 15. Lemoine M, Shimakawa Y, Nayagam S, Khalil M, Suso P, Lloyd J, et al. The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) predicts significant liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic HBV infection in West Africa. *Gut* 2016;65:1369-76.
 16. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology* 2011;53:726-36.
 17. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007;46:32-6.
 18. Li J, Verhaar AP, Pan Q, de Knecht RJ, Peppelenbosch MP. Serum levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 (CK18-Asp396) predict severity of liver disease in chronic hepatitis B. *Clin Exp Gastroenterol* 2017;10: 203-9.
 19. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.
 20. 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.
 21. Nishikawa H, Takata R, Enomoto H, Yoh K, Kishino K, Shimono Y, et al. Proposal of a predictive model for advanced fibrosis containing *Wisteria floribunda* agglutinin-positive Mac-2-binding protein in chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2017;47:E74-84.
 22. Abe M, Miyake T, Kuno A, Imai Y, Sawai Y, Hino K, et al. Association between *Wisteria floribunda* agglutinin-positive Mac-2 binding protein and the fibrosis stage of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2015;50:776-84.
 23. 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.
 24. Nishikawa H, Enomoto H, Iwata Y, Hasegawa K, Nakano C, Takata R, et al. Clinical significance of serum *Wisteria floribunda* agglutinin positive Mac-2-binding protein level and high-sensitivity C-reactive protein concentration in autoimmune hepatitis. *Hepatol Res* 2016;46:613-21.
 25. Yamada N, Sanada Y, Tashiro M, Hirata Y, Okada N, Ihara Y, et al. Serum Mac-2 binding protein glycosylation isomer predicts grade F4 liver fibrosis in patients with biliary atresia. *J Gastroenterol* 2017;52:245-52.