

出國報告（出國類別：進修）

# 2022-2023 美國印第安納大學醫學院 非酒精性脂肪肝疾病進修報告

服務機關：高雄榮民總醫院健康管理中心

姓名職稱：林恭弘主治醫師

派赴國家：美國

出國期間：2022/12/20-2023/12/19

報告日期：2024/01/19

## 摘要

非酒精性脂肪肝疾病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)為現今最常見之慢性肝病。雖然肝硬化、肝失償、肝細胞癌的發生率不如酒精性或病毒性肝炎高，非酒精性脂肪肝病在病毒性肝炎已獲有效控制的今後，被預期將成為導致上述末期肝病的最重要原因。職幸運獲得知名非酒精性脂肪肝病專家、美國印第安納大學醫學院胃腸肝膽科 Naga Chalasani 教授接受，與其團隊共同進行非酒精性脂肪肝病之廣泛研究一年，不僅獲得在美國肝病研究學會年會發表論文摘要、撰寫論文全文投稿的經驗，也與該團隊之醫師、統計學家、遺傳學家、與基礎研究科學家建立深厚之友誼，更獲得了請益於其他重要 NAFLD 研究權威的機會。有著這麼多的收穫，職期許自己在今後能在 NAFLD 的領域，研究與服務並重，造福眾多為之受苦的患者。

關鍵字：非酒精性脂肪肝病，肝硬化，肝失償，肝細胞癌。

# 目次

一、目的 .....	4
二、過程 .....	5
三、心得與建議.....	15
附錄.....	17

## 一、目的

非酒精性脂肪肝疾病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)為現今最常見之慢性肝病，發生於約 25%-30%已開發國家的成人，及 70%-90%的肥胖或第二型糖尿病患者。非酒精性脂肪肝疾病患者發生肝相關疾病致死的風險，為無脂肪肝者之 1.94 倍。在非酒精性脂肪肝疾病患者中，約有 6%至 60%不等之患者患有非酒精性脂肪肝炎(Non-alcoholic steatohepatitis, NASH)。最近的大型研究發現，每一千位非酒精性脂肪肝疾病與非酒精性脂肪變性肝炎患者，在一年中因肝相關疾病死亡者分別有 0.77 人與 15.44 人。每一千位非酒精性脂肪變性肝炎患者，在一年中有約 68 位進展至後期肝纖維化，5.3 位發生肝細胞癌。除了肝臟以外，非酒精性脂肪肝疾病也增加了其他器官、系統的併發症之風險，例如心血管疾病、第二型糖尿病、慢性腎臟疾病等。隨著代謝性疾病與肥胖的普及，近年來非酒精性脂肪肝病的盛行率，在大多數國家都是迅速上升的。

長久以來，肝病堪稱台灣之國病。然而，由於大多數之慢性肝病、肝硬化與肝癌皆歸因於盛行慢性 B 型肝炎與 C 型肝炎的，非酒精性脂肪肝疾病反而未能受到足夠的重視。目前，健保已全面給付 C 肝新一代口服抗病毒藥，治癒成功率近乎 100%，慢性 B 型肝炎也因全面疫苗接種與口服抗病毒控制，預期台灣將如同歐美國家，由愈發盛行的非酒精性脂肪肝疾病取代病毒性肝炎，危害民眾之肝臟健康。然而，目前無論在胃腸肝膽科或其他代謝症候群相關疾病之門診，以及健檢中心，非酒精性脂肪肝疾病常被忽視，除非肝轉氨酶明顯升高(已屬非酒精性脂肪變性肝炎)，或已有肝硬化跡象。此乃因為雖然能呈現脂肪變性的工具，亦即超音波，十分普遍，但能鑑別 NASH、及定量纖維化的非侵襲性工具仍然缺乏。再者，即便患者診斷為具顯著或嚴重纖維化之非酒精性脂肪肝疾病患者，唯一具實證療效的治療為飲食控制、運動、與減重。對眾多患者而言，這樣治療的施行，有著心理或生理上的困難。在藥物治療方面，雖然目前尚未有藥物獲核准，但數種抗糖尿病或降血脂藥物皆有令人振奮的初步療效。

因此，職獲悉有機會出國進修，即以非酒精性脂肪肝病為研修目標，希望能在這研究已經很多，病人與未解疑難卻越來越多的領域，培養出獨當一面的研究與臨床醫療能力，以造福眾多為之受苦的患者。

## 二、過程

### 尋找進修學校或醫院

由於職之進修主題明確，即非酒精性脂肪肝病，在尋找進修機構時，即以該疾病最盛行，研究也最領先的美國為目標。職以最誠懇之態度，書寫申請信給美國肝病研究學會 2018 年出版之非酒精性脂肪肝病臨床治療指引之每一位作者。很幸運地，獲得該指引之第一作者、也是責任作者，印第安納大學醫學院(Indiana University School of Medicine, IUSM)胃腸與肝臟學科 Naga Chalasani 教授的回應，並約定於 2022/7/20 進行 Zoom meeting，終獲其同意可加入其肝病團隊從事為期一年的研究。Dr. Chalasani 來自印度，在亞特蘭大 Emory University 完成其住院醫師與胃腸肝膽專科訓練，而後在著名之克利夫蘭診所醫院擔任胃腸肝膽科主治醫師。Dr. Chalasani 在 NAFLD 與藥物性肝炎的深入研究與豐富成果，使其獲得印第安納大學醫學院之延聘，於 2007 年開始擔任胃腸與肝臟學科主任。在非酒精性脂肪肝病的領域，Dr. Chalasani 為著名之非酒精性脂肪肝炎臨床研究網絡(NASH clinical research network, NASH-CRN)之創始成員之一。該研究網絡發表之眾多成果奠定了現今 NAFLD 研究與診療之基礎，其中包括 NAFLD 之病理報告格式。能獲 Dr. Chalasani 之首肯加入其團隊，職深感榮幸。

### 辦理赴美手續及準備

由於 IUSM 並非熱門之進修學者進修之機構，Dr. Chalasani 團隊的行政人員剛開始對辦理讓職前去進修的流程尚不熟悉，幾經來回才在 11 月辦出接受職以「訪問學者」身分前去進修之備忘錄，12 月初校方才寄來辦理簽證最重要的文件，DS-2019。在等待的期間，Dr. Chalasani 團隊的實驗室主持人，Dr. Tiebing Liang，也很熱心地幫助職一家人尋找住處及小朋友們上學之學校。隨著時間逼近 2022 年底，職越來越擔憂是否能夠順利赴美進修，幸好在獲得健康管理中心長官，人事室與會計室承辦同仁，與院部長官之幫助之下，及時完成公文往返，且獲得在美國台協會核發 J 簽證，於 2022/12/27 搭機赴美。



圖 1-1, 1-2. 剛到 Carmel 時正值寒冬，公寓附近的街景

## 2022 年 12 月至 2023 年 1 月

經過 21 小時的飛航與轉機，職一家人來到印第安納波里斯 (Indianapolis)，隨即租車抵達位於其北郊的 Carmel，為我們遮風避雨一年的公寓。在美國，Carmel 雖然不是著名之大城市，卻是連續多年獲評選為全美最適宜居住、生活之城鎮。空氣清新、土地遼闊、公共設施完善、及遍布全市的超過 200 個圓環，是它給人的第一印象。在安頓好家人後，職隨著 Dr. Liang 拜訪 Dr. Chalasani，一同討論往後的研究主題。Dr. Chalasani 的肝臟團隊，原則上每週一下午舉辦研究人員討論會。在第一次的討論會，職便認識到該團隊的堅強陣容。由於 Dr. Chalasani 已榮任印第安納大學健康體系學術副主席，肝病團隊現任主管為 Dr. Raj Vuppalanchi，另外還有數位教授、副教授及年輕之助理教授。此外，來自古巴的 Dr. Eduardo Vilar-Gomez 原本即是當地之著名肝病醫師，來到 Dr. Chalasani 的團隊後，專職於統計分析研究成果，並寫作了數篇十分重要的文章。來自南韓的 Dr. Tae-Hwi L. Schwantes-An，是傑出的基因學家，也是 Dr. Chalasani 團隊基因研究的重要夥伴。在 Dr. Chalasani 的提議下，Dr. Samer Gawrieh，肝病團隊的臨床研究員指導教授，將其發表於美國肝病學會年會的分析圖表交給職，希望職能試著寫為全文。在與 Dr. Gawrieh 討論後，職以一週之時間，完成該篇文章之初稿，於週一之團隊討論會獲得全部成員之讚賞。該文章經 Dr. Gawrieh 深入修改，Dr. Chalasani 再行修飾，已進入投稿流程(附件一)。此外，在實驗室的領域，職先完成多堂線上訓練課程(附件二)，開始於 Dr. Liang 之實驗室，向任職之技術員 Kent Williams 學習該實驗室常做之實驗。Kent 精通 DNA、RNA 萃取及檢驗，提取實驗動物檢體，細胞培養，與其他分子生物研究操作。在其耐心指導下，職迅速學會最常做之 DNA 萃取、聚合酶連鎖反應、與基因型檢驗。

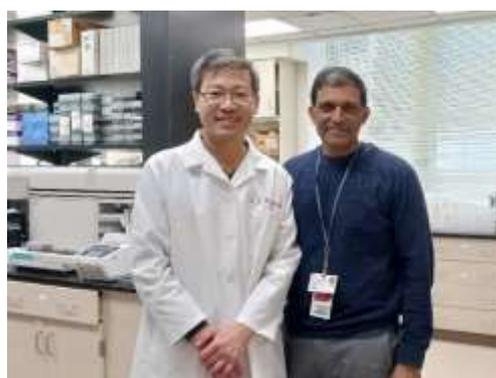


圖 2-1, 2-2. 團隊合照(2-1)；職與 Dr. Chalasani 合照(2-2)



圖 3-1, 3-2. 胃腸及肝臟學科辦公室所在的 Rotary building (3-1)，與實驗室所在的 Gatch Hall (3-2)

### 2023 年 2 月

在熟悉實驗流程後，職開始以 Dr. Chalasani 團隊保存之，近 1000 名非酒精性脂肪肝病研究受試者的 genomic DNA 進行 HFE C282Y rs1800562、PSD3 rs71519934、SERPINA1 Pi\*M rs6647, Pi\*S rs17580, SERPINA1 Pi\*Z, rs28929474 基因多型性檢驗。由於職之全力投入與謹慎操作，此批檢體之檢驗多於本月完成，再讓 Dr. Liang、Dr. Chalasani 與其他成員驚喜。



圖 4-1, 4-2. 職操作 DNA genotyping (4-1)，與不可或缺的 Thermal cycler (4-2)

### 2023 年 3 月

在上個月開始進行的基因多型性檢驗即將完成之際，職把握空閒時間，將二年前回溯蒐集之健康管理中心診斷食道柱狀上皮化生名單重新檢視，經過審慎考慮後，擬定主題為不規則 Z 線(irregular Z-line，亦即遠端食道之柱狀上皮化生少於一公分)進展為巴瑞氏食道症之比率與相關風險因子，接著透過醫院的 VPN 登入院內整合資訊系統做電子病歷複查，建立此一資料庫。雖然由美國連線到院內，速度十分緩慢，但有志者事竟成，職在本月份即完成蒐集資訊，並開始分析。

在複查相關文獻時，職發現在觀察食道之不規則 Z 線時必描述之黏膜特徵，從未有文章探討其與進展至巴瑞氏食道症有何關係，因此將其列入是否影響進展為巴瑞氏食道症機會的候選因子之一。分析之結果發現，9.6%之不規則 Z 線患者進展為巴瑞氏食道症，其風險在胃食道逆流疾病(Gastroesophageal reflux disease, GERD)者高出 4 倍。抽菸與脊狀或絨毛狀黏膜特徵則增加腸化生出現的風險。職將此一研究寫成一篇摘要，投稿每年一度的歐洲聯合胃腸週會議(附件三)。



圖 5-1, 5-2. 春天的校園，百花盛開 (5-1)。職開車時遇到雁鴨列隊過馬路 (5-2)。

## 2023 年 4 月

NASH-CRN 各研究單位有一優良之傳統：互訪。知名的加州大學聖地牙哥分校 Rohit Loomba 教授於本月份到訪印第安納大學團隊。Dr. Loomba 為磁振造影測量脂肪堆積(MR-PDF)與纖維化測量(MR elastography)研究的先驅，此二量測工具目前已被公認可以取代肝切片所獲得之病理診斷。在停留的二日中，Dr. Loomba 分別與印第安納大學團隊之每一位醫師，包含職，會談約 50 分鐘。趁著這個千載難逢之機會，職將心中關於 MR-PDF 與 MR elastography 之疑問，與 Dr. Loomba 詳細討論。Dr. Loomba 除詳細回答外，也鼓勵職在將來仍有疑問時，可用 email 與其討論。在本月份的實驗室工作方面，職接續進行另一批 DNA 檢體之 PSD3、SERPINA1 基因多型性檢驗。此批檢體來自 Dr. Chalasani、Dr. Gawrieh 與哈佛大學、德州大學合作蒐集之 HIV 患者非酒精性脂肪肝炎臨床研究。職除將庫存檢體進行檢驗外，也將新收到的全血檢體先提取 DNA，再行 PCR 檢驗基因多型性。

## 2023 年 5 月

美國肝病研究學會每年 11 月舉辦之肝臟會議(The Liver Meeting)，是全球肝病工作者發表研究與吸收新知的最高聖殿，其摘要投稿截止日通常都在 5 月下旬。因此，各大醫院、醫學院、藥廠、研究機構的肝病研究機構每年到了這段時間，都會全力地整理研究成果、寫成摘要投稿，職所在之 IU 團隊自然也不例外。Dr. Chalasani 鼓勵職試著研究 PSD3 rs71519934 基因多型性檢驗結果與 NAFLD 脂肪堆積程度、纖維化程度的相關性。截至目前為止，僅有一個來自瑞典哥德堡大

學 Stefano Romeo 教授的研究，顯示前述 PSD3 基因的少見變異對 NAFLD 有保護效果。由於該研究之設計嚴謹、個案眾多、且包括細胞及動物實驗驗證基因流行病學發現之關聯，其論文發表於新陳代謝領域影響分數第三名的 Nature Metabolism 期刊，其結論也廣獲認同。職在整理好檢驗結果後，交由研究團隊研究協調師結合受試者之臨床資訊，再由 Dr. Tae-Hwi L. Schwantes-An 進行統計、分析。此研究除了包括 IU 之受試者外，也與加州大學洛杉磯分校基因遺傳學家 Dr. Jerome Rotter 團隊合作。Dr. Rotter 原為 IU 兒科肝臟疾病醫師，自從投入非酒精性脂肪肝病之基因研究後，已成為代謝性基因研究的知名專家。在視訊會議中，Dr. Rotter 得知職來自台灣，很高興地表示其與台中榮總也有長期合作關係，也願意幫助此一研究。儘管分析結果顯示，無論在 IU 團隊或 UCLA 團隊的收案族群，PSD3 rs71519934 皆未與 NAFLD 的脂肪堆積程度、纖維化有明顯相關，職仍撰寫為摘要，經過 Dr. Tiebing Liang, Dr. Gawrieh, Dr. Rotter 與 Dr. Chalasani 修改後投稿(附件 4)。此外，職另與 Dr. Gawrieh、Dr. Eduardo Vilar-Gomez 合作，將一探討 HIV 患者血液脂肪學與代謝學異常情形與 NAFLD 的相關性的研究，寫為摘要投稿(附件 5)。該研究發現，在代謝症候群及相關心血管疾病常見之粥狀硬化性血脂異常(atherogenic dyslipidemia)，不僅也在同時有 NAFLD 之 HIV 患者常見，其異常程度更與 NAFLD 之嚴重度成顯著正相關。在完成兩篇摘要投稿後，五月僅剩一週，職迅速地規畫了 2024 年的研究計畫，及時在最後一天提出院內研究經費申請，希望能在 2024 年恢復上班後，隨即開始進行 NAFLD 族群收案，研究非侵襲性指標、基因多型性、與心血管代謝疾病之風險。

## 2023 年 6 月

在 6 月，全基因序列檢驗廠商 Regeneron 公司欲贊助 Dr. Chalasani 團隊進行 NAFLD 病患受試者之全基因序列檢驗，故職開始陸續由保存於 IU Biobank 之受試者全血萃取 DNA。Dr. Liang 實驗室使用的是 Qiagen 公司之提取試劑套組，其特色為安全、穩定，但過程較為繁複，且提取效果差異甚大。職在一開始操作時，一天僅能檢驗 8 個檢體，其中可能會有一個提出之 DNA 濃度太低。經過職深入思考試驗步驟、多方嘗試、不斷練習，不僅檢驗量可達 Dr. Liang 實驗室的最大量（受限於離心機，每日最多 36 件檢體），當中 DNA 濃度不符預期的數量可減少到 2-3 件。然而，職不因此滿足，持續調整流程步驟的順序與時間，將一日欲提取 DNA 之檢體分為前後兩批，各為 24-28 件。當前一批檢體與試劑調和完畢，開始離心時，職就繼續處理另一批檢體。藉由這樣幾乎不停歇的操作，職平均每日可提取 48 件檢體之 DNA，最多曾達 56 件，讓 Dr. Liang 大感驚奇。除了提取量的提升，每件檢體提出之 DNA 濃度也更為穩定，每 100 件提取之 DNA 僅有 1-2 件濃度不足。此外，同樣透過 NASH-CRN 的互訪機制，芝加哥大學醫學院的 Mary Rinella 教授來到 IU 訪問。Dr. Rinella 為美國肝病學會 NAFLD 最新版治療指引之第一作者，近二年來積極推動 NAFLD 改名為 Metabolic dysfunction associated steatotic liver disease (MASLD)。在與 Dr. Rinella 之會談時間，職請教 Dr. Rinella 其

臨床診療 MASLD 病患之過程、門診規劃、與團隊組成。Dr. Rinella 強調，MASLD 診療需要多專科團隊。在其門診同時，營養師會指導這些大部分有代謝症候群的患者調整飲食，新陳代謝醫師則為有血糖、血脂控制需求的患者調整用藥。



圖 6-1, 6-2, 6-3. 職由乾燥之血點(6-1)與全血(6-2, 6-3)提取 DNA

## 2023 年 7 月

時間進入了學校的暑假，雖然大多數的 IU 肝病團隊成員皆為臨床醫師，沒有暑假，但休假的人比平常明顯增加，所有作業似乎也慢了下來。職在這個月將投稿摘要，Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Persons with HIV is Associated with High Risk Lipidomic and Metabolomic Milieu 寫成全文初稿，加上 Dr. Vilar-Gomez 提供之統計描述與統計圖，交由 Dr. Gawrieh 修改，再經負責以核磁共振光譜學(nuclear magnetic resonance spectroscopy)分析各種脂蛋白之次分類數量、大小的 Dr. Margery Connelly 補充、修改研究方法，IU 感染症醫師 Dr. Samir Gupta 修正 HIV 病患之相關描述，始成定稿並開始投稿(附件 6)。在完成文章的過程中，職充分感受到美國科學研究團隊對跨領域、跨團隊之合作，態度非常開放，僅通過 email 往來或視訊討論，即可提供對方所需之資訊，甚至是得來不易的檢體。或許這正是美國在科學研究領域，可以持續領先其他國家的原因之一吧。除了完成新文章，職也把握空檔，修改了出國前投稿 Formosa Medical Association Journal，獲得 major revision 機會的一篇巴瑞氏食道症相關文章。在修改完成投稿後，該文章順利獲得接受發表(附件 7)。

## 2023 年 8 月

繼 PSD3 rs71519934 的分析後，Dr. Chalasani 希望再將已有的 SERPINA1 基因多型性報告與 NAFLD 患者之肝病指標進行分析。SERPINA1，即為  $\alpha 1$  antitrypsin deficiency disease 之關鍵基因。在短時間內，職將 SERPINA1 最常見、也最重要之 Pi\*S、Pi\*Z 變異相關研究做一複查，呈報給 Dr. Chalasani (附件 8)。事實上，歐洲已有跨國團隊於 2018 年開始發表一系列同遺傳子、異遺傳子變異之肝病臨床表現，個案數動輒千人。在審視職之報告後，Dr. Chalasani 決定暫緩進行 SERPINA1 之分析。此外，職先前投稿於歐洲聯合胃腸週會議(UEGW)與美國肝病研究學會

之肝臟會議(AASLD The Liver Meeting)的三篇摘要皆獲接受為壁報發表。由於歐洲會議在先，職便先投入該研究之全文初稿，同時完成海報製作(附件 9)。

## 2023 年 9 月

在完成 UEGW 的海報後，職便投入 AASLD The Liver Meeting 之海報製作。兩篇海報中，Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Persons with HIV is Associated with High Risk Lipidomic and Metabolomic Milieu 因已經寫出全文，海報很快便製作完成(附件 10)。PSD3 rs71519934 之研究，則花費較多之時間、心力，始得完成(附件 11)。在試著分析為何 Dr. Stefeno Romeo 的歐洲團隊發現 PSD3 rs71519934 的基因多型性與 NAFLD 脂肪堆積程度、發炎、纖維化都顯著相關，我們與 UCLA 團隊之研究卻顯示無任何關係的過程中。職重新檢視了 Dr. Romeo 文章中的每項結果，與包含補充內容中的每張圖表，赫然發現，該研究之數個受試族群皆為歐洲裔白人，僅有一個包含較多之非洲裔黑人，而在此次族群中，PSD3 rs71519934 與上述 NAFLD 表現無關。職再接再厲，尋得另一篇數年前發表之文章，發現在 PSD3 基因上，rs71519934 在歐洲裔美國人族群與肥胖相關，但在包括許多非洲裔美國人的族群，rs71519934 再度失去角色。其次，職發現在我們的 HIV NAFLD 族群中，有較高比例為非裔，而在此族群中，rs71519934 之變異比率甚低，且與 NAFLD 更無相關。Dr. Chalasani 十分重視職之發現，建議職將此分析加入海報之討論中，並且直接 email 給 Dr. Romeo 了解其看法。Dr. Stefeno Romeo 為 NAFLD 基因學之先驅，其團隊發現並證實了對 NAFLD 影響最大的基因，PNPLA3 rs738409 的多型性變異。Dr. Chalasani 原本受 Dr. Romeo 影響，相信 PSD3 rs71519934 的變異對 NAFLD 有保護作用，但又苦於我們的分析結果與之相悖。Dr. Romeo 在回信中，完全同意職所提出，人種與基因變異盛行率對該基因與 NAFLD 相關性的影響，並允諾在未來相關主題研究時，提供職參予之機會。在這個求教的過程中，職發現 Dr. Chalasani 與 Dr. Romeo 雖互為競爭對象，他們身為國際知名學者，虛心交流且提攜後進之胸襟，讓人佩服萬分。



圖 7. 秋天的 Carmel。

## 2023 年 10 月

在完成 AASLD The Liver Meeting 兩篇海報上傳後，職與 Dr. Chalasani 商討本團隊 NAFLD 基因學研究的重點。Dr. Chalasani 團隊保存有 NASH-CRN 受試對象共三千五百餘人之 DNA、臨床資訊與肝臟病理結果，若能將已發現、且獲得證實之 NAFLD 相關基因多型性作一統整，於三千五百餘個案中檢視這些基因的影響，很可能會有許多創新的發現。於是職便開始搜尋並閱讀探討 NAFLD 基因多型性的文章。文獻複查雖然枯燥，但在閱讀過程中，職不知不覺地熟悉了此類研究的典型設計，與較為重要的基因。開始時，職所擁有的基因學知識停留於大學畢業時，實難了解此類文章，幸得 Dr. Schwantes-An 的指引與提供諮詢，才逐漸加快了閱讀文獻的腳步。

## 2023 年 11 月

AASLD The Liver Meeting 於第一週的週末於 Boston 舉辦。職除發表兩篇海報外，更把握機會聆聽眾多國際知名肝病學者之演講。此外，職也參觀了來自世界各國肝病研究者的海報，從中獲得不少點子。回到 IU 後，職持續完成並依證據力分級文獻複查得來之 NAFLD 相關基因多型性變異。最終，職蒐集了高達 700 個與 NAFLD 相關之基因多型性，連 Dr. Chalasani、Dr. Rotter 都十分訝異有如此多的基因多型性與 NAFLD 相關。完成文獻複查後，職原以為即將進入待在 IU 的最後一個月，該準備為所有計畫劃上句號，不料在週一下午的團隊會議，Dr. Chalasani 很雀躍地跟大家分享他所獲得之內幕消息，某個與發炎反應有關的基因多型性可能會與 NAFLD 嚴重度相關，並要求 Dr. Liang 著手規劃將前面提到過的所有 DNA 檢體，進行該基因多型性之檢驗。對於實際操作檢驗的我，雖然已經十分熟練，但仍不敢允諾可以在僅剩的一箇月中完成所有檢體的此項檢驗。

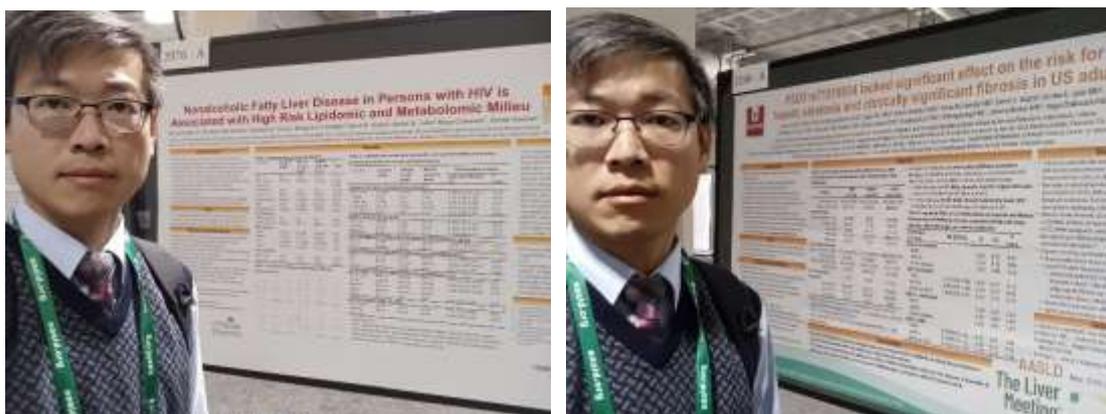


圖 8-1, 8-2. 在 Boston 舉辦的 AASLD 年會與職所發表之二篇海報合影

## 2023 年 12 月

在 Dr. Chalasani 的期許之下，職在收到該基因多型性之 primer 與 Taqman master mixture 後，立即開始檢驗。由於時間有限，職除全心貫注、戮力以赴操作實驗外，還不斷地思考如何就現有儀器、設備，創造更高的檢驗效率。除例行操作 PCR 的兩台 Thermal cycler 外，職將實驗室較為陳舊但仍可運作的第三台機器也投入操作，並且突破其配件的限制，以新配件成功運作，立即提升 50% 的檢驗速率。原本估計需時四週的、將近六千件 DNA 檢體的該項檢驗，職以一週完成，再次讓所有團隊成員刮目相看。然而，不僅該項基因多型性需行檢驗，來自 NAFLD 門診與 HIV-NAFLD 研究團隊的新一批檢體，還有來自肯亞的四百多件檢體，還需要重新提取 DNA，完成例行 SNP 檢測。即便負擔甚重，職仍按部就班地提取 DNA，完成一個又一個 96 well plate 的檢驗。一日夜深人靜時，職回想來到 IU 的豐富收穫，對 PSD3 之研究尚難撰寫，感到難以釋懷，於是花了一點時間檢視 UCLA 族群的初步研究成果，並與國際上公開之基因資料庫比對，發現在 PSD3 rs71519934 鄰近的另一位點，反倒與 NAFLD 相關性更強，且其變異在非裔人種更為常見，或許正是連結 Dr. Romeo 的 positive finding 與我們的 negative finding 的關鍵。在向 Dr. Chalasani 報告此發現後，職也透過視訊向 Dr. Rotter 團隊報告。Dr. Rotter 謹慎地檢視職所呈現的佐證資料後，大呼值得研究。在 Dr. Chalasani、Dr. Liang 與 Kent 的幫助下，我們以最快的速度購得所需的 primer 並補足其他設備。就這樣，職於耶誕假期後完成所有原先規劃的檢驗，再以二天的時間，完成約 2500 件已有 PSD3 rs71519934 結果檢體之新位點變異的檢驗。由於職返台時間迫近，已無暇統計總共檢驗多少項次基因多型性，但粗估至少一萬六千項次。Dr. Liang 在職離開 IU 前，語重心長地說，從沒有看過有人能在短時間內做完如此多的 PCR 基因多型性檢測。職之努力，也獲得 Dr. Chalasani 團隊致贈感謝獎牌，甚至在大多數人仍在享受耶誕假期的 12 月 26 日，Dr. Chalasani 親自到實驗室，贈送職多項 IU 之紀念品。此外，Dr. Chalasani 允諾，在未來數年中，所有職參予之實驗所衍生之論文，職皆為共同作者，甚至可由職擔任第一作者撰寫，更希望職能在返回台灣後，深耕本土之 NAFLD 研究，與 IU 團隊合作，共創雙贏局面。

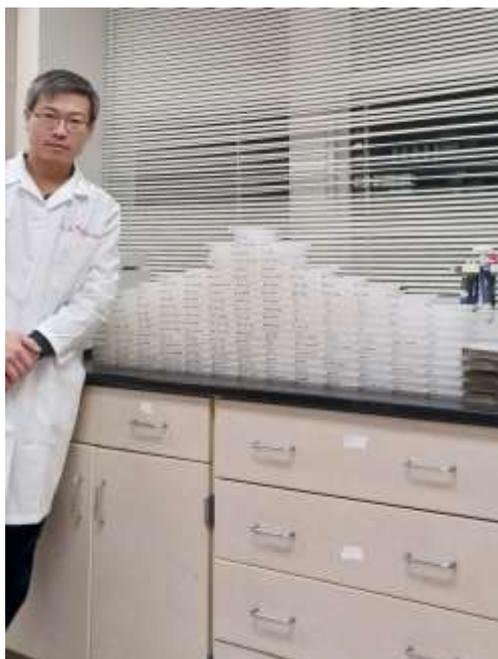


圖 9-1, 9-2. 職於 12 月操作之 PCR 基因多型性檢驗所用過的 96 well plate 堆積如山 (9-1)。Dr. Chalasani 感謝職對 IU 團隊的貢獻，贈予職感謝獎牌一面 (9-2)。

### 三、心得與建議

#### (一)心得

1. 僅 IU 團隊，這一年當中接觸的各專家、團隊皆樂於交流，對合作採取開放的態度，讓職印象深刻。
2. IU 並非如 Harvard、John Hopkins 等之明星醫學院校，但其來自美國國家衛生研究院、印地安納州之研究贊助，與民間公司、個人之捐獻仍讓 IU 肝病團隊擁有充足的資源，得以聘請統計專家、研究協調師、研究護理師、研究員、募款經理與研究經費管理專人，精確分工，讓每一位成員完全專注在這個團隊需要他做的事，將其能力發揮至極限，推動整個團隊向前。
3. 提攜後進之風氣，很清楚地呈現在 NASH-CRN 專家的訪問。即使是團隊中最資淺、尚未接受胃腸肝膽專科訓練的 research fellow，只要願意，專家們都樂於與其會談，解答其疑惑。
4. 職有幸獲得檢視 NAFLD 研究之個案報告表的機會，對其內容嘆為觀止。包含飲酒量、咖啡飲用量、飲食內容，皆嚴格依照標準之評估方式。雖然在收案時很花時間，但這樣詳細的諮詢才能確保研究結果的品質，且常常研究主持人突然想到一個新的點子，即刻就能分析、得到結果。

#### (二)建議

1. 撰寫此份出國進修心得報告前，職瀏覽了多年來前輩們的報告，也與院內數名主管聊過出國進修的趨勢。的確，願意出國進修一年、甚至僅半年的主治醫師越來越少。職猜測，經濟因素或許是許多醫師不想出國進修很重要的原因。在現今高房價、高物價的社會中，年輕醫師的所得雖能讓一家大小衣食無虞，一旦買房，貸款帶來的壓力，恐怕遠較多年前出國的前輩們來的大。出國進修一年，一家人在美國之開銷加上無法工作減少之收入，職估計應在六百萬以上。因此即使仍有基本薪資，揹著沉重房貸的醫師，狠不下心出國過人不敷出的生活，也屬人之常情。當然，進修期間，吾人身在國外，沒有在醫院工作，斷無要求更多薪水之道理。然而，若能將出國進修之資歷在教研績效中增加點數，雖然薪水未必增加許多，但仍是個讓出國進修醫師感受到有所回饋的方法。
2. 出國進修半年、一年、甚至更久的醫師，多半會有許多研究之點子，期待回國後能付諸實行。然而，以職這一年中申請院內研究計畫的經驗，恐怕會令大部分人沮喪。職之研究計畫雖未臻完美，卻是參考 IU 團隊之 NAFLD cohort 擬定之根本計畫，可行性高，納入病患也容易。不幸地，初審未通過，申覆還得親自報告。幸好，教研部唐主任體諒職之進修計畫尚未完成，難以親自返國赴會，特准書面報告，才有之後通過的機會。很可惜的是，獲得之經費竟比未出國時申請之計畫更少，滿腔熱血都涼了一大截了！相對地，若能讓出國進修醫師在回院後，有更友善的研究環境與更多資源，不但是對他們努力

的肯定，也能讓他們延續在國外的研究，保持與進修醫院的合作關係，繼而提升醫院的研究質與量。

## 附錄

### Arterial Contour: A Novel Tool for Global and Rapid Assessment of Atherogenic Parameters.

Kung-Hung Lin<sup>1</sup>, Nuria Amigo<sup>2</sup>, Pablo Ortiz<sup>2</sup>, Cristina Alonso<sup>3</sup>, Alexander V. Smolensky<sup>4</sup>,  
Deven Parmar<sup>5</sup>, Naga P. Chalasani<sup>1</sup>, Samer Gawrieh<sup>1</sup>

#### Authors affiliations:

1 Division of Gastroenterology and Hepatology, Indiana University School of Medicine,  
Indianapolis, IN, USA,

2 Biosfer Teslab, Reus, Spain,

3 OWL Metabolomics, Derio, Bizkaia. Spain,

4 Division of Cardiology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, USA,

5 Zydus Therapeutics Inc, Pennington, NJ, USA

#### Corresponding authors

Nuria Amigo, PhD

Biosfer Teslab

Plaça del Prim 10, 2on 5a;

43201 Reus (Tarragona); Spain

E-mail: [namigo@biosferteslab.com](mailto:namigo@biosferteslab.com)

Phone: +34 676 12 99 66

#### AND

Samer Gawrieh, MD

Division of Gastroenterology and Hepatology

Department of Medicine

Indiana University School of Medicine  
702 Rotary Circle

Indianapolis, IN 46202

USA

Phone: (317) 278-9320

Fax: (317) 278 6870

Email: sgawrieh@iu.edu

**Abstract:** 150 words

**Word count:** 2,359 (main text, table and figure legends)

**Tables:** 1

**Figures:** 2

**Short title:** Arterial contour for evaluation of atherogenic dyslipidemia

**Keywords:** NAFLD, NASH, cardiovascular disease, lipids.

**Author contributions:** NA created arterial contour. **Data collection:** NA, PO, CA, NPC, SG.

**Statistical analysis:** NA. **Interpretation of the study results:** All authors. **Manuscript writing:**

KHL and SG. **Critical review and revision of manuscript:** All authors reviewed and

approved the final manuscript.

**Funding Source:** Zydus Discovery DMCC

**Disclosures:** **Dr. Lin:** Nothing to disclose, **Dr. Amigó** is stock owner of Biosfer Teslab and has a patent of the lipoprotein profiling described in the present research, **Dr. Ortiz** is Medical Advisor for Biosfer, **Dr. Alonso** is employed by OWL Metabolomics, **Dr. Smolensky** declare no conflict pertinent to this work, **Dr. Parmar** is Chief Medical Officer and Head Clinical Research and Development of Zydus Therapeutics Inc, **Dr. Chalasani:** Ongoing consulting activities (or had in preceding 12 months) with Madrigal, Zydus, Galectin, Boeringher-Ingelheim, Merck, GSK, Foresite, and Altimune. These consulting activities are generally in the areas of nonalcoholic fatty liver disease and drug hepatotoxicity. Dr. Chalasani receives research grant support from Exact Sciences and DSM where his institution receives the funding. He has equity ownership in RestUp, LLC and Avant Sante Therapeutics, LLC, health care start-up companies, **Dr. Gawrieh** consulting: TransMedics, Pfizer. Research grant support: Viking and Zydus, SonicIncytes,

## Abstract

**Background and aims:** Comprehensive assessment of pharmacotherapy effects on atherogenic parameters (AP) that influence the risk of cardiovascular disease (CVD) is challenging due to interactions among a large number of parameters that modulate CVD risk.

**Methods:** We developed an illustrative tool, Arterial Contour (AC), which incorporates weighted key lipid, lipo- and glycoprotein parameters, to readily illustrate their overall changes following pharmacotherapy. We demonstrate the applicability of AC to assess changes in AP in response to saroglitazar treatment in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in the EVIDENCES IV study.

**Results:** The baseline AC of saroglitazar and placebo groups was worse than the mean of the general population. After 16-week treatment, AC improved significantly in the saroglitazar group due to alterations in very low-density lipoprotein, triglyceride, and glycoproteins.

**Conclusion:** Using AC, we could readily and globally evaluate and visualize changes in AP. AC improved in patients with NAFLD following saroglitazar therapy.