

血清肝纤维化指标与肝纤维化病理改变的相关性研究

魏梅娟 魏开鹏 张小曼 张纯瑜 肖子鸿 潘兴南

【摘要】目的 研究血清中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、三型前胶原N端肽(PIIINP)及IV型胶原(CIV)等肝纤维化指标的水平与肝纤维化分期的相关性,探讨其在乙型肝炎患者肝纤维化非创伤性诊断中的临床应用价值。**方法** 采用放射免疫分析法检测172例乙型病毒性肝炎患者血清中HA、LN、PIIINP和CIV的含量,以肝组织活检作为“金标准”,评价肝纤维化指标与肝纤维化分期的相关性及其用于鉴别明显肝纤维化的诊断价值。**结果** 血清中肝纤维化指标的含量与肝纤维化分期呈正相关,相关系数由高至低分别为HA($r = 0.687$)、PIIINP($r = 0.490$)、CIV($r = 0.406$)和LN($r = 0.392$);自S2期开始,以上4项指标的水平均显著升高,与S0、S1期比较差异具有统计学意义($P < 0.05$);轻度肝纤维化(S0~S1)和明显肝纤维化(S2~S4)两组间4项指标的差异均有统计学意义($P < 0.05$);ROC曲线显示:单项指标预测明显肝纤维化时,AUC由高至低分别为HA(0.846)、PIIINP(0.786)、CIV(0.747)和LN(0.638);敏感性分别为LN(Se = 80.57%)、HA(Se = 75.16%)、CIV(Se = 73.38%)和PIIINP(Se = 69.54%),特异性分别为HA(Spe = 90.25%)、PIIINP(Spe = 81.89%)、CIV(Spe = 71.51%)和LN(Spe = 65.50%),准确性分别为HA(83.18%)、PIIINP(75.74%)、LN(68.46%)和CIV(62.53%)。4项指标联合检查,诊断的敏感性降低(Se = 68.85%),特异性提高(Spe = 92.96%),诊断准确率提高至86.44%。**结论** 单个指标检查中,HA是诊断肝纤维化最有价值的一项,4项指标联合检查可提高诊断的特异性和准确度。

【关键词】 肝纤维化;受试者工作特征曲线(ROC);无创性诊断

Correlation between serum markers of liver fibrosis and liver pathological changes WEI Mei-juan, WEI Kai-peng, ZHANG Xiao-man, ZHANG Chun-yu, XIAO Zi-hong, PAN Xing-nan. Live Diseases Center of Nanjing Military Command, 180 Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China
Corresponding author: PAN Xing-nan, Email: qz180pxn@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To explore the relationships between levels of liver fibrosis markers hyaluronic acid (HA), laminin (LN), procollagen type III N-terminal endopeptidase (PIIINP) and collagen type IV (CIV) in the serum and liver pathological changes, and study on the clinical application value of serum markers for non-traumatic liver fibrosis diagnosis in patients with hepatitis B. **Methods** The serum levels of HA, LN, PIIINP and CIV were measured by radiomunoassay (RIA) in 172 patients with hepatitis B and liver biopsy was used as the gold standard, the correlation between the four serum markers and liver fibrosis were investigated and the diagnostic accuracy of four serum markers for obvious liver fibrosis was evaluated. **Results** There was a positive correlation between liver fibrosis stage and these four serum markers. The correlation coefficient of HA, PIIINP, CIV and LN were 0.687, 0.490, 0.406 and 0.392, respectively, without significant differences ($P > 0.05$) in serum levels of these four markers between S0 and S1. The serum levels of these four markers increased obviously from S2 to S4 which were significantly different compared with S1 ($P < 0.05$). Also, there were significant differences in serum levels of these four markers between patients with no significant fibrosis (S0-S1) and significant fibrosis (S2-S4) ($P < 0.05$). The area under receiver operating

characteristic (ROC) curve of HA, PIIIINP, CIV and LN were 0.846, 0.786, 0.747 and 0.638, respectively. The sensitivities of HA, LN, PIIIINP and CIV for predicting significant fibrosis were 75.16%, 80.57%, 69.54% and 73.38%, respectively. While the specificities were 90.25%, 65.50%, 81.89% and 71.51%; the accuracies were 83.18%, 68.46%, 75.74% and 62.53%, respectively. When these four markers were all used for a combined assay, the specificity of diagnosis was increased to 92.96% and the accuracy was increased to 86.44%, while the sensitivity of diagnosis was reduced to 68.85%. **Conclusions** HA is the best serum marker for diagnosis of liver fibrosis. The specificity and accuracy would be increased with combined assay. The assay of these four serum markers were proved particularly effective in the diagnosis of hepatic fibrosis in patients with hepatitis B.

【Key words】 Liver fibrosis; Receiver operating characteristic (ROC); Non-invasive diagnosis

肝纤维化是由各种病因所致的肝脏慢性损伤的标志, 是肝细胞发生炎症和坏死刺激时, 以胶原纤维为主的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 弥漫性增生、沉积, 并逐渐向肝硬化发展的病理过程, 也是肝损伤的代偿性修复反应^[1]。大量临床研究证实, 肝纤维化是可逆转的, 如能够在肝纤维化早期及时诊断, 阻断其病理发展, 则可防止肝硬化的形成, 因此肝纤维化的早期诊断至关重要。一直以来, 肝组织活检都是的评价肝脏炎症坏死及纤维化程度的“金标准”, 但因其创伤性及潜在的并发症, 患者依从性差, 难以动态观察和重复进行。此外, 取样误差、观察者自身及观察者间偏倚等不足也限制了其广泛应用。近年来, 有研究表明, 血清透明质酸 (hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白 (laminin, LN)、三型前胶原N端肽 (procollagen type III N-terminal endopeptidase, PIIIINP) 及IV型胶原 (collagen type IV, CIV) 的水平变化可反映肝纤维化及肝硬化的程度^[2-7]。为此, 本研究采用放射免疫分析法检测了172例乙型病毒性肝炎患者血清中HA、LN、PIIIINP和CIV的含量, 同时以肝组织活检作为“金标准”, 统计分析其不同肝纤维化进程患者中的水平差异, 探讨其在乙型肝炎患者肝纤维化非创伤性诊断中的临床应用价值。

资料与方法

一、研究对象

收集315例2011至2012年在本院行肝组织活检的乙型肝炎患者的临床资料进行回顾性分析, 诊断符合中华医学会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》标准 (2010版)^[8], 排除标准: HIV, 甲型、丙型、丁型、戊型肝炎及合并酒精性肝炎, 脂肪肝, 自身免疫性肝炎; 肝组织活检不符合标准者。最终筛选出符合标准的病例共172例, 其中男性145例,

占84.3%; 年龄17~73岁, 中位年龄36岁。

二、主要试剂和仪器

GC-1200 γ 放射免疫计数器 (科大创新股份有限公司中佳分公司), HA、LN、PIIIINP和CIV放射免疫试剂盒 (上海海研医学生物技术有限公司)。

三、方法

1. 受检对象均于肝组织活检前1周内取静脉血检测相关指标。HA、LN、PIIIINP和CIV检测均采用放射免疫分析法。

2. 肝组织病理学检查: 患者签署知情同意后, 在彩色多普勒超声定位引导下行肝脏穿刺术, 采用BARD 16G一次性活检针进行肝组织活检, 标本长度为12~18 mm, 肝组织标本采用常规HE染色和网状纤维染色, 由医师按慢性肝炎病理分期做出组织学诊断, 按Knodell HAI评分标准对肝组织纤维化程度进行分级、分期: 纤维化分0~4期 (S0~S4)。

四、统计学处理

统计分析均采用SPSS 16.0软件, 各项指标数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。在单变量分析中, 计量资料组间比较采用 t 检验, 方差不齐时, 对计量资料进行几何对数转换, 方差齐后再行 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。双变量间相关性分析采用Spearman相关分析法。计算各诊断试验评价指标并绘制受试者工作特征曲线 (ROC), 计算处理曲线下面积 (AUC), 评价各指标的诊断价值。采用Logistics回归分析评价肝纤维化指标联合检查的诊断价值。

结 果

一、肝纤维化指标与肝纤维化分期的相关性
用Spearman相关分析考察肝纤维化分期与肝

纤维化指标的相关程度,结果显示,血清中HA、LN、PIIINP和CIV的含量与肝纤维化分期呈正相关,差异具有统计学意义($P < 0.001$) (表1),按相关系数由高至低分别为HA ($r = 0.687$)、PIIINP ($r = 0.490$)、CIV ($r = 0.406$)、LN ($r = 0.392$)。组间比较分析结果显示:S0期与S1期比较,4项指标均差异无统计学意义($P > 0.05$);但随着肝纤维化程度加重,自S2期开始,4项指标水平均显著升高,与S0、S1比较差异具有统计学意义;其中,HA的升高幅度最大,在S2、S3、S4期比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$);LN、PIIINP和CIV在S2与S3期差异无统计学意义($P > 0.05$),但与S4期差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

二、肝纤维化指标与明显肝纤维化的关系

以病理学肝纤维化分期S2作为分界将病例分成轻度肝纤维化(S0~S1)和明显肝纤维化(S2~S4)两组,用单变量分析逐个比较4项指标在两组间的差异,并以ROC曲线下面积(AUC)分别评价单项指标的诊断价值(见图1和表2)。结果显示,轻度肝纤维化(S0~S1)和明显肝纤维化(S2~S4)两组间4项指标的差异均有统计学意义,且4项指标的AUC均大于0.5,表明4项指标对于肝纤维化的诊断有一定的价值,AUC由高至低分别为HA (0.846)、PIIINP (0.786)、CIV (0.747)和LN (0.638)以HA的诊断价值最大。

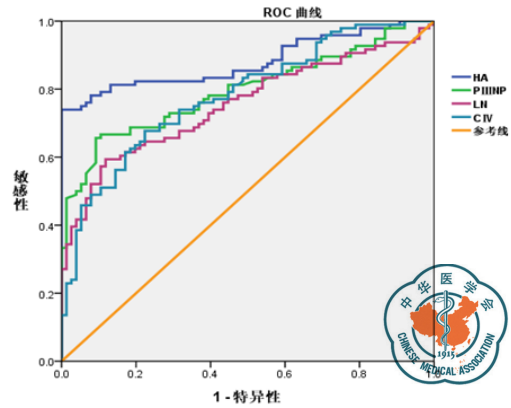


图1 肝纤维化指标诊断乙型肝炎明显肝纤维化的ROC曲线

表3 肝纤维化指标用于预测是否有明显肝纤维化时的诊断试验评价指标

指标	阈值 (ng/ml)	Se (%)	Spe (%)	DA (%)
HA	110.0	73.16	90.25	83.18
LN	133.0	80.57	65.50	68.46
PIIINP	120.0	69.54	81.89	75.74
CIV	84.7	75.38	74.51	62.53
HA + LN+ PIIINP + CIV		68.85	92.96	86.44

注: Se: 敏感性; Spe: 特异性; DA: 准确率

三、肝纤维化指标用于鉴别明显肝纤维化的诊断试验评价

对4项指标分别取阈值为: HA 110 ng/ml、LN 133 ng/ml、PIIINP 120 ng/ml和CIV 84.7 ng/ml。诊断试验评价指标(表3)显示,单项诊断指标用于

表1 血清肝纤维化指标与肝纤维化分期的相关性分析 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

分期	例数	HA	LN	PIIINP	CIV
S0	37	60.47 ± 21.85 ^a	89.94 ± 19.62 ^a	69.41 ± 19.36 ^a	53.47 ± 17.90 ^a
S1	39	66.14 ± 29.51 ^a	89.67 ± 40.17 ^a	70.82 ± 25.25 ^a	58.03 ± 26.59 ^a
S2	36	133.25 ± 97.13	136.33 ± 58.6 ^b	104.02 ± 52.84 ^b	82.23 ± 40.87 ^b
S3	28	205.62 ± 105.9	158.31 ± 87.89 ^b	128.42 ± 60.54 ^b	103.39 ± 56.28 ^b
S4	32	358.90 ± 255.25	212.24 ± 112.18	196.51 ± 162.82	149.08 ± 106.34
<i>r</i>		0.685	0.392	0.490	0.406
<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: ^a: 组间相互比较, $P > 0.05$; ^b: 组间相互比较, $P > 0.05$; 其余各组组间比较, $P < 0.05$

表2 有无明显肝纤维化组患者4项指标的单变量分析 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HA	LN	PIIINP	CIV
轻度肝纤维化组	76	63.38 ± 26.05	89.80 ± 31.66	66.08 ± 27.70	55.81 ± 22.75
明显肝纤维化组	96	229.58 ± 192.97	144.92 ± 64.74	128.22 ± 107.13	96.41 ± 52.98
<i>t</i>		8.34	7.31	5.46	6.76
<i>P</i>		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: HA、LN、PIIINP和CIV的AUC分别为0.846、0.638、0.786和0.747

预测是否存在明显肝纤维化时, 敏感性由高至低分别为LN (Se = 80.57%)、HA (Se = 75.16%)、CIV (Se = 73.38%)、PIIINP (Se = 69.54%), 特异性由高至低分别为HA (Spe = 90.25%)、PIIINP (Spe = 81.89%)、CIV (Spe = 71.51%)、LN (Spe = 65.50%), 准确性由高至低分别为HA (DA = 83.18%)、PIIINP (DA = 75.74%)、LN (DA = 68.46%)和CIV (DA = 62.53%)。单项诊断指标中, HA的准确性最高。Logistics回归分析结果得出, 4项指标联合检查, 诊断的敏感性降低 (Se = 68.85), 特异性提高 (Spe = 92.96), 诊断准确率也有所提高, 达86.44%。

讨 论

慢性乙型肝炎由于机体内致病因素持续作用和机体免疫功能失调, 使肝细胞受损, 肝内以胶原纤维为主的细胞外基质增生、沉积, 形成肝纤维化。正常肝脏细胞外基质成分主要有胶原、层粘蛋白和蛋白多糖。HA是一种最简单的蛋白多糖, 是细胞外基质的重要成分, 由间质细胞合成, 经淋巴进入外周血, 再由肝窦内皮细胞摄取并降解。肝病患者 (尤其是肝硬化患者) 体内, 肝间质细胞HA的合成增多, 但肝窦内皮细胞受损, 摄取及分解HA的能力降低, 导致血清中HA含量显著升高。肝脏受损程度越严重, 血清中HA水平越高^[9-10]。有文献报道显示, 肝硬化患者血清的透明质酸含量是健康人的8倍^[11]。因此, HA含量反映了内皮细胞功能及肝硬化程度。LN是肝细胞外基质中特有的一种非胶原性结构蛋白, 在正常肝组织中, 其存在于胆管、淋巴管和血管的基底膜中, 肝窦内无沉积。当肝纤维化发生时, 肝窦内LN明显沉积, 与CIV结合形成连续基底膜, 即“肝窦毛细血管瘤化”^[12-13]。PIIINP是在胶原纤维形成过程中, 氨基端前胶原肽被N-末端酶裂解后进入外周血中, 并随着肝纤维合成的活跃而增多, 其与肝纤维化形成的活动程度相关^[14]。CIV为肝血窦基底膜的主要成分, 在肝纤维过度增生时, CIV的合成和降解均处于较高水平, 但由于其合成和沉积更为明显, 其血清含量似乎更是反映胶原生成而非降解的指标^[15]。本文研究结果显示, 血清中HA的含量随着肝纤维化程度的增加而逐渐升高, 与肝纤维化分期呈正相关, 其用于诊断明显肝纤维化的准确性达83.18%。提示HA可为纤维化分期的诊断提供参考; LN的含量在S2期 (即汇管

区周围纤维化) 时开始显著升高, 其诊断的敏感性 (80.57%) 比HA的敏感性 (75.16%) 高, 可作为早期肝纤维化的诊断指标。但其特异性低, 仅为70.50%; PIIINP诊断的特异性较高, 但敏感性低, 在S3到S4期升高明显, 提示PIIINP的血清含量在肝硬化早期 (肝纤维化形成活跃时) 才明显增多; CIV的血清含量与肝纤维化程度呈正相关, 但其诊断的特异性和敏感性都较低, 单项检查时准确度也较低。4项联合检查的敏感性比单项检查都低, 但特异性比单项检查都高, 准确率也提高至86.44%。

综上, 血清肝纤维化指标在一定程度上反映了肝纤维化的病理改变程度, 作为一种非创伤性检查指标, 对于肝纤维化的早期诊断及动态监测具有一定的参考意义。然而, 血清肝纤维化指标还无法代替“肝组织活检”用于诊断肝纤维化病理分期, 且联合检查的模式尚未形成标准。因此, 仍需寻找更合理且简便易行的血清肝纤维化指标联合诊断模式, 以期提高其对肝纤维化分期的诊断效能。

参 考 文 献

- 1 周岳君, 姚海清主编. 肝病. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2009: 8.
- 2 洪小飞, 虞朝辉, 厉有名. 非酒精性脂肪性肝炎患者血清肝纤维化指标的变化. 中华肝病杂志, 2007, 15(3): 229-230.
- 3 Chen J, Liu C, Chen H, et al. Study on noninvasive laboratory tests for fibrosis in chronic HBV infection and their evaluation. J Clin Lab Anal, 2013, 27(1): 5-11.
- 4 阳吾君. 慢性乙型肝炎肝纤维化血清学指标的诊断效能评价. 检验医学与临床, 2012, 9(19): 2462-2463.
- 5 李红娟, 李庆. 血清肝纤维化四项检查在肝硬化诊断中的价值. 国际检验医学杂志, 2012, 33(12): 1532-1533.
- 6 李晓霞, 李彬, 李林, 等. 肝纤维化血清标志物的临床应用评价. 中国现代医生, 2012, 50(25): 75-76, 78.
- 7 雷晓燕, 王三萍, 孙永红, 等. 儿童慢性乙肝肝组织病理与相关标志物的研究. 中国循证儿科杂志, 2012, 7(5): 384-388.
- 8 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中国肝病杂志: 电子版, 2011, 3(1): 40-56.
- 9 刘晓强, 周海中, 吴靖珍. 肝病患者血清HA、PC-III、C-IV、LN测定的临床意义. 实用临床医药杂志, 2009, 13(6): 40-42.
- 10 El-Shabrawi MH, Zein El Abedin MY, Omar N, et al. Predictive accuracy of serum hyaluronic acid as a non-invasive marker of fibrosis in a cohort of multi-transfused Egyptian children with β -thalassaemia major. Arab J Gastroenterol, 2012, 13(2): 45-48.
- 11 Mehta P, Ploutz-Snyder R, Nandi J, et al. Diagnostic accuracy of serum hyaluronic acid, FIBROSpect II, and YKL-40 for discriminating fibrosis stages in chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol, 2008, 103(4): 928-936.
- 12 张萍, 李晓斐, 刘庆丽. 血清LN、CIVP HA对肝纤维化及肝硬化的诊断价值. 医学论坛, 2007, 5(1): 46-47.
- 13 龙大碧, 李晓兰, 李远, 等. 肝纤维化无创诊断与监测技术研究进展. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011, 25(11): 1045-1046.
- 14 王继贵. 肝纤维化生物标志物研究的进展. 实验与检验医

学,2011,29(2):138-141.

and therapeutic targets. J Cell Mol Med,2006,10(1):76-99.

- 15 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players

(收稿日期: 2013-03-17)

(本文编辑: 孙荣华)

魏梅娟, 魏开鹏, 张小曼, 等. 血清肝纤维化指标与肝纤维化病理改变的相关性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(6): 860-864.



中华医学会