

• 论 著 •

非酒精性脂肪性肝病患者早期纤维化无创检测指标及其诊断价值分析*

钟柏涛, 王鹏云[△]

华中科技大学同济医学院附属梨园医院检验科, 湖北武汉 430077

摘要:目的 探讨血清纤维化标志物透明质酸(HA)、层黏连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(ColⅣ)和Ⅲ型前胶原 N 末端前肽(PⅢNP)与非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)早期纤维化的相关性及其诊断价值。方法 选取该院经 B 超诊断为 NAFLD 的患者 268 例作为研究对象, 根据 B 超诊断结果分为 108 例 NAFLD 非肝硬化组和 160 例 NAFLD 相关性肝硬化组。采用磁微粒化学发光法检测 HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 4 项指标, 贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪检测其他生化指标, 肝脏纤维化采用 B 超评估。结果 NAFLD 相关性肝硬化组血清 HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其受试者工作特征曲线下面积(AUC)分别为 0.811、0.749、0.721 和 0.698。4 项指标联合检测准确性最高, 灵敏度和特异度分别为 90.6% 和 84.3%。NAFLD 非肝硬化患者组 HA、PⅢNP、ColⅣ也显著高于对照组, LN 水平与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$), HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 的 AUC 分别为 0.786、0.707、0.657、0.602, 4 项联合检测诊断 NAFLD 非肝硬化组肝纤维化准确性最高, AUC 为 0.817, 灵敏度和特异度分别为 60.2% 和 91.3%。结论 HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 4 种血清纤维化标志物联合检测是预测 NAFLD 患者肝纤维化的可靠无创方法, 可作为 NAFLD 人群肝硬化风险筛查的重要依据。

关键词:血清纤维化标志物; 非酒精性脂肪性肝病; 诊断价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.14.010

中图法分类号:R587.2

文章编号:1673-4130(2022)14-1709-04

文献标志码:A

Noninvasive detection index and diagnostic value of early fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease*

ZHONG Botao, WANG Pengyun[△]

Department of Clinical Laboratory, Liyuan Hospital, Tongji Medical College,
Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430077, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation and diagnostic value of serum fibrosis markers hyaluronan(HA), procollagen type Ⅲ N-terminal peptide(PⅢNP), type Ⅳ collagen(ColⅣ) and laminin(LN) in fibrosis of non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD). **Methods** 268 patients with NAFLD diagnosed by B-ultrasound in a hospital were selected as the study subjects. According to the diagnosis results of B-ultrasound, they were divided into 108 cases of NAFLD non-cirrhosis group and 160 cases of NAFLD-associated cirrhosis group. HA, PⅢNP, ColⅣ and LN were detected by magnetic particle chemiluminescence method, and other biochemical indexes were detected by Beckman AU5800 automatic biochemical analyzer. **Results** The levels of serum HA, PⅢNP, ColⅣ and LN in NAFLD-associated cirrhosis group were significantly higher than those in control group, and the difference was statistically significant($P < 0.05$); The area under the receiver operating characteristic curve(AUC) was 0.811, 0.749, 0.721 and 0.698, respectively. The sensitivity and specificity were 90.6% and 84.3%. The level of HA, PⅢNP and ColⅣ levels in NAFLD non-cirrhosis group were also significantly higher than those in control group. There was no significant difference in LN levels between the control group and NAFLD non-cirrhosis group($P > 0.05$). The AUC of HA, PⅢNP, ColⅣ, and LN were 0.786, 0.707, 0.657 and 0.602 respectively. The accuracy of the four combined tests in the diagnosis of NAFLD non-cirrhosis group liver fibrosis was the highest, with an AUC of 0.817, sensitivity and specificity of 60.2% and 91.3%, respectively. **Conclusion** The combination of the 4 serum markers is a reliable noninvasive method to predict significant liver fibrosis in patients with NAFLD, and can be used as an important basis

* 基金项目:湖北省卫生健康委员会青年人才项目(WJ2019Q037)。

作者简介:钟柏涛,男,主管技师,主要从事免疫学检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: wpy0110@126.com。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220629.1756.002.html\(2022-06-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220629.1756.002.html(2022-06-30))

for NAFLD screening.

Key words:serum liver fibrosis markers; non-alcoholic fatty liver disease; diagnostic value

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是全世界普遍的肝病,全球患病率为 25%,其与胰岛素抵抗、肥胖、代谢综合征及遗传易感性密切相关^[1-2]。NAFLD 可从非酒精单纯性脂肪肝发展为非酒精性脂肪性肝炎(NASH),而 NASH 患者处于肝脏炎症的慢性状态,可导致星状细胞转化为成纤维细胞,这些细胞产生细胞外基质,导致肝纤维化,持续和进行性纤维化可引起终末期肝病,如肝硬化、失代偿肝病,甚至肝癌;也常引发肝外并发症,包括心血管疾病、糖尿病和非肝脏恶性肿瘤^[3]。多项研究表明纤维化是 NASH 病死率的主要决定因素,纤维化已成为 NASH 患者预后的最重要预测指标^[4-5]。因此,早期筛查 NAFLD 人群及明确是否进展为 NASH 具有重要的临床意义。透明质酸(HA)、层黏连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(ColⅣ)和Ⅲ型前胶原 N 末端前肽(PⅢNP)是 4 种主要的无创性评估肝纤维化的直接生物标志物,它们反映了细胞外基质在肝脏内的沉积或消除^[6]。本研究的目的在于探讨以上 4 种血清纤维化标志物与 NAFLD 纤维化的关系及其诊断意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取华中科技大学同济医学院附属梨园医院经 B 超诊断为 NAFLD 的患者 268 例作为研究对象,根据 B 超诊断结果分为 108 例 NAFLD 非肝硬化组和 160 例 NAFLD 相关性肝硬化组,依据文献^[7]排除大量饮酒者,合并病毒性肝炎、自身免疫性肝病、药物性肝病等其他诊断明确的肝脏疾病者,合

并肿瘤、严重心脑血管疾病、肾功能严重异常等患者。另选取同期来本院体检的健康者 122 例作为对照组。本研究经过本院伦理委员会批准。

1.2 方法 肝纤维化指标 HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 采用磁微粒化学发光法检测(安图生物),生化指标采用贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪,各项指标同时检测质控标本。

1.3 统计学处理 采用统计软件 Graph Pad Prism6,正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 one-way ANOVA 分析;诊断效力分析采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线),曲线下面积(AUC)接近 1 表示诊断价值高,与 AUC=0.500 比较, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料及实验室指标水平比较 NAFLD 非肝硬化组平均年龄为(62.86±11.98)岁,NAFLD 相关性肝硬化组平均年龄为(58.58±13.74)岁,对照组平均年龄为(55.40±15.68)岁。NAFLD 相关性肝硬化组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)及总胆固醇(TC)均高于对照组和 NAFLD 非肝硬化组,NAFLD 非肝硬化组 TC 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);而 3 组总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 各组一般资料比较

项目	对照组($n=122$)	NAFLD 非肝硬化组($n=108$)	NAFLD 相关性肝硬化组($n=160$)
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	55.45±15.68	62.86±11.98	58.58±13.74
女性比[$n(\%)$]	57(46.72)	47(43.52)	69(43.13)
ALT[$M(P_{25}, P_{75})$,U/L]	29.90(8.30,36.10)	32.70(21.90,38.80)	47.10(30.60,73.53) ^{ab}
AST[$M(P_{25}, P_{75})$,U/L]	29.40(20.15,37.40)	30.10(23.28,38.85)	46.90(25.52,60.70) ^{ab}
TBIL[$M(P_{25}, P_{75})$,U/L]	13.70(12.10,18.20)	18.42(14.50,21.80)	19.25(14.68,28.20) ^{ab}
TC[$M(P_{25}, P_{75})$,mmol/L]	4.48(3.90,5.01)	4.90(4.06,5.94) ^a	5.45(4.50,6.36) ^{ab}
TG[$M(P_{25}, P_{75})$,mmol/L]	1.41(10.5,1.72)	1.24(0.97,1.44)	1.44(0.99,1.82)
LDL-C[$M(P_{25}, P_{75})$,mmol/L]	2.61(1.89,3.44)	2.60(1.95,3.12)	2.63(1.96,3.22)
HDL-C[$M(P_{25}, P_{75})$,mmol/L]	1.08(0.91,1.35)	1.06(0.85,1.29)	1.08(0.88,1.37)

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 NAFLD 非肝硬化组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 不同纤维化程度 NAFLD 患者血清纤维化标志物水平比较 NAFLD 相关性肝硬化组患者 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 水平[依次为 174(133.01,382.51)ng/mL、13.64(7.88,17.12)ng/mL、103.79(52.48,151.76)ng/mL、64.39(25.31,124.74)ng/L]均显著

高于对照组[依次为 53.87(32.85,58.65)ng/mL、3.96(2.37,6.58)ng/mL、46.22(29.54,60.74)ng/mL、36.25(10.35,65.05)ng/L],差异有统计学意义($P<0.05$);NAFLD 非肝硬化组 HA、PⅢNP、ColⅣ水平[依次为 147.22(116.04,230.01)ng/mL、10.59

(6.88,13.97)ng/mL、70.24(44.67,120.89)ng/mL]也显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 LN 水平[50.37(25.03,96.25)ng/L]与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。NAFLD 相关性肝硬化组除 PⅢNP 外,HA、ColⅣ及 LN 水平显著高于 NAFLD 非肝硬化组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 对 NAFLD 相关性肝硬化组患者的肝纤维化预测价值 血清标志物 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 对 NAFLD 相关性肝硬化组患者的肝纤维化预测 AUC 依次为 0.805、0.800、0.749、0.728,AUC 均 >0.500 且与 AUC=0.500 相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。其中,HA 是最有价值的预测因子,最佳截断值为 100.30 ng/mL,灵敏度为 73.9%,特异度为 94.3%。4 项联合检测诊断 NAFLD 非肝硬化组患者肝纤维化的 AUC 为 0.909,灵敏度和特异度分别达到 90.6%和 84.3%,见图 1、表 2。

2.4 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 对 NAFLD 非肝硬化组患者的肝纤维化预测价值 进一步分析了 4 种血清纤维化指标在 NAFLD 非肝硬化组患者中的诊断性能,HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 的 AUC 分别为 0.786、0.707、0.657、0.602,4 项指标 AUC 均 >0.500 且与 AUC=0.500 相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。HA、PⅢNP、ColⅣ特异度均高于 90%,而 LN 检测灵敏度较其他 3 项高。4 项联合检测诊断 NAFLD 非肝

硬化组肝纤维化准确性最高,AUC 为 0.817,灵敏度和特异度分别为 60.2%和 91.3%,见图 2、表 3。

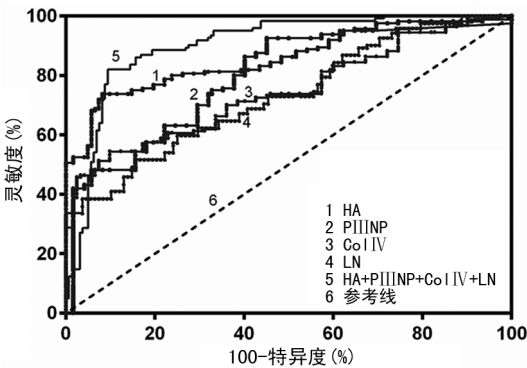


图 1 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 预测 NAFLD 相关性肝硬化组患者肝纤维化的 ROC 曲线

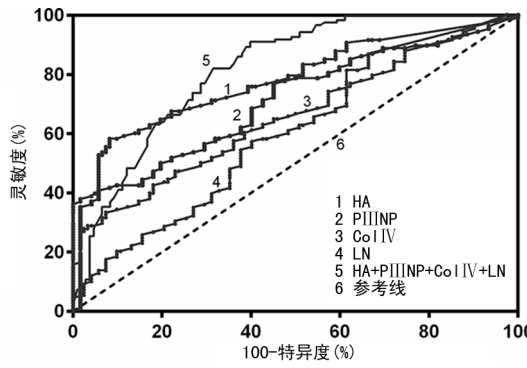


图 2 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 预测 NAFLD 非肝硬化组患者肝纤维化的 ROC 曲线

表 2 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 预测 NAFLD 相关性肝硬化组患者肝纤维化的 AUC、灵敏度及特异度

变量	AUC	95%CI	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
HA	0.852	0.803~0.900	100.30 ng/mL	73.9	94.3
PⅢNP	0.800	0.739~0.561	80.17 ng/mL	92.5	57.1
ColⅣ	0.749	0.687~0.811	78.62 ng/mL	54.4	90.0
LN	0.728	0.661~0.794	71.05 ng/L	50.0	87.1
HA+PⅢNP+ColⅣ+LN	0.909	0.870~0.949	—	90.6	84.3

注:灵敏度运用 Delong's 方法计算;最佳截断值用约登指数判断;—表示无数据。

表 3 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 预测 NAFLD 非肝硬化组患者肝纤维化的 AUC、灵敏度及特异度

变量	AUC	95%CI	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
HA	0.786	0.726~0.846	100.26 ng/mL	58.3	91.8
PⅢNP	0.707	0.639~0.774	8.41 ng/mL	40.7	94.3
ColⅣ	0.657	0.586~0.728	83.86 ng/mL	33.3	92.6
LN	0.602	0.530~0.675	85.91 ng/L	87.0	33.6
HA+PⅢNP+ColⅣ+LN	0.817	0.762~0.873	—	60.2	91.3

注:灵敏度运用 Delong's 方法计算;最佳截断值用约登指数判断;—表示无数据。

3 讨 论

肝纤维化过程是肝细胞发生炎症或受到坏死刺激进而发生创伤修复反应,使得细胞外基质在肝脏中无序、过度的积累,导致正常肝细胞功能丧失^[8]。肝纤维化是唯一可预测肝内及肝外不良结局的肝脏病理学变化,肝穿刺活检仍然是评价肝脏组织学变化的

金标准,但因其侵入性、风险性及并发症等因素使得它不适合作为 NAFLD 初步筛查的手段。B 超是最普遍用于诊断 NAFLD 的影像学技术,对中重度脂肪肝诊断灵敏度较高,但当肝内脂肪变性小于 30%和(或)体重指数大于 40 kg/m² 时,B 超对 NAFLD 肝纤维化诊断灵敏度受到限制^[9]。38%~45%的肝硬化患

者直到失代偿期肝衰竭后才被诊断,而在单纯性脂肪变性患者中,5 年内有 32% 发展为 NASH,24% 发展为桥接纤维化^[10]。因此,寻找预示 NAFLD 纤维化进展的血清学指标对患者后续的治疗及预后判断尤为重要。已有相关研究显示血清 HA、PⅢNP、ColⅣ、LN 是病毒性肝炎纤维化进行的预测因素^[11-12],而对 NAFLD 纤维化预测的报道较少见。

本研究基于 B 超检测结果,比较了 NAFLD 患者 4 种血清纤维化标志物与其肝脏纤维化的关系。研究结果显示,NAFLD 相关性肝硬化组患者血清 HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),对 NAFLD 患者肝纤维化鉴别具有较好的预测价值,用于评估肝纤维化的最重要血清标志物依次为 HA、PⅢNP、ColⅣ和 LN。HA 由间质细胞合成,在肝脏损伤和炎症反应时合成明显增加,即 HA 水平可反映肝纤维化活动和肝损伤状况^[13-14];PⅢNP 被认为是肝硬化的独立预测因子,与坏死和炎症的组织学特征相关;ColⅣ反映基质降解,与患者的纤维化和肝硬化呈正相关,LN 反映了基底膜的转化,与门静脉高压有一定的关系^[15-16];本研究结果提示,HA、PⅢNP 灵敏度较高,可有效筛查 NAFLD 肝纤维化;HA、ColⅣ、LN 特异度较高,对于排除 NAFLD 非纤维化群体有较高价值;联合 4 项指标检测准确性最高,AUC 为 0.909,灵敏度和特异度分别为 90.6% 和 84.3%,提示 4 种血清纤维化标志物联合检测对非酒精性脂肪肝病肝纤维化有较好的诊断准确性和合理的预测价值,优于单一检测诊断效力。

本研究还显示,NAFLD 非肝硬化组血清 HA、PⅢNP、ColⅣ水平也显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),联合指标的诊断价值 AUC 达到 0.817,灵敏度为 60.2%,特异度为 91.3%。上述结果显示,在 B 超检出明显纤维化之前,肝脏损伤和肝硬化的慢性进程已经开始影响血清学标志物。血清纤维化标志物的水平可以反映 B 超未检出明显纤维化 NAFLD 患者肝脏损伤病程。

综上所述,HA、PⅢNP、ColⅣ及 LN 4 种血清纤维化标志物联合检测可作为 NAFLD 人群筛查的重要依据,尤其是早期 NAFLD 患者,进而监控病情、评估疗效,防止其进展为 NASH。

参考文献

- [1] HUANG D Q, EL-SERAG H B, LOOMBA R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(4): 223-238.
- [2] 崔姗姗, 刘英, 江霞. 非酒精性脂肪性肝病与胰岛素抵抗的研究进展[J]. 医学信息, 2022, 35(10): 66-69.
- [3] 南月敏, 付娜, 李文聪, 等. 2017 年美国非酒精性脂肪性肝病

诊断与管理指南解读[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(9): 687-694.

- [4] DANFORD C J, LAI M. NAFLD: a multisystem disease that requires a multidisciplinary approach[J]. Frontline Gastroenterol, 2019, 10(4): 328-329.
- [5] VILAR-GOMEZ E, CALZADILLA-BERTOT L, WAI-SUN W V, et al. Fibrosis severity as a determinant of cause-specific mortality in patients with advanced nonalcoholic fatty liver disease: a multi-national cohort study[J]. Gastroenterology, 2018, 155(2): 443-457.
- [6] PAPASTERGIOU V, TSOCHATZIS E, BURROUGHS A K. Non-invasive assessment of liver fibrosis[J]. Ann Gastroenterol, 2012, 25(3): 218-231.
- [7] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(5): 947-957.
- [8] HUANG T D, BEHARY J, ZEKRY A. Non-alcoholic fatty liver disease: a review of epidemiology, risk factors, diagnosis and management[J]. Intern Med J, 2020, 50(9): 1038-1047.
- [9] LEE S S, PARK S H, KIM H J, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations[J]. J Hepatol, 2010, 52(4): 579-585.
- [10] PAIS R, BARRITT A T, CALMUS Y, et al. NAFLD and liver transplantation: current burden and expected challenges[J]. J Hepatol, 2016, 65(6): 1245-1257.
- [11] LIAO Y, GONG J, ZHOU W, et al. Serum liver fibrosis markers discriminate significant liver inflammation in chronic hepatitis B patients with normal or near-normal alanine aminotransferase[J]. J Med Virol, 2019, 91(4): 642-649.
- [12] DONG H, XU C, ZHOU W, et al. The combination of 5 serum markers compared to FibroScan to predict significant liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B virus[J]. Clin Chim Acta, 2018, 483(1): 145-150.
- [13] YANG X Z, GEN A W, XIAN J C, et al. Diagnostic value of various noninvasive indexes in the diagnosis of chronic hepatic fibrosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(2): 479-485.
- [14] LOOMBA R, ADAMS L A. Advances in non-invasive assessment of hepatic fibrosis[J]. Gut, 2020, 69(7): 1343-1352.
- [15] ZHU C, KIM K, WANG X, et al. Hepatocyte Notch activation induces liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis[J]. Sci Transl Med, 2018, 10(468): eaat0344.
- [16] SCHWABE R F, TABAS I, PAJVANI U B. Mechanisms of fibrosis development in nonalcoholic steatohepatitis[J]. Gastroenterology, 2020, 158(7): 1913-1928.