

血清肝纤维化四项在肝豆状核变性肝硬化进展中的变化及临床价值

张波克¹, 周导¹, 朱俊¹, 王庆保¹, 张靖², 裴培³, 张娟³

1. 安徽中医药大学第一附属医院检验中心, 安徽 合肥 230031;
2. 安徽中医药大学第一附属医院超声科, 安徽 合肥 230031;
3. 安徽中医药大学第一附属医院脑病中心, 安徽 合肥 230031

摘要: **目的** 观察肝豆状核变性(HLD)肝硬化进展中血清肝纤维化四项水平的变化,探讨其在 HLD 肝硬化进展中的临床应用价值。**方法** 选择 2019 年 1 月至 8 月收治的 99 例 HLD 患者为对象进行回顾性研究。根据 B 超检查 HLD 患者肝硬化声像分为三组:肝正常组 18 例,肝纤维化组 61 例,肝硬化组 20 例。磁微粒化学发光法检测 HLD 患者血清透明质酸(HA)、IV 型胶原(CIV)、层粘连蛋白(LN)与 III 型前胶原 N 端肽(P III NP)水平。采用受试者工作曲线(ROC)分析与比较血清相关项目在 HLD 肝纤维化的早期发现与诊断中的临床应用价值。**结果** HLD 患者肝纤维化组血清 HA 水平依肝正常组→肝纤维化组→肝硬化组之序呈递增($P < 0.01$),肝硬化组血清 CIV 水平高于肝纤维化组和肝正常组(P 均 < 0.01),但血清 LN 和 P III NP 水平三组间差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);肝硬化腹水组血清 HA 水平明显高于无腹水组($P < 0.05$)。ROC 曲线分析发现,血清 HA 对 HLD 肝纤维化诊断的曲线下面积(AUC)为 0.828,其 cut-off 值、敏感度与特异度分别为 72.36 ng/ml、75.41% 和 88.89%。**结论** 肝纤维化四项中仅 HA 能够早期发现 HLD 患者肝纤维化及反映其肝硬化的进展情况,具有重要的临床应用价值。

关键词: 肝豆状核变性; 肝硬化; 腹水; 肝纤维化; 透明质酸

中图分类号: R 575.2⁺4 R 446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)07-0900-04

Changes and clinical value of serum four markers of liver fibrosis in the progression of liver cirrhosis in hepatolenticular degeneration

ZHANG Bo-ke*, ZHOU Dao, ZHU Jun, WANG Qing-bao, ZHANG Jing, PEI Pei, ZHANG Juan

*Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230031, China

Corresponding author: ZHANG Juan, E-mail: 1477210980@qq.com

Abstract: Objective To observe the changes of four serum markers of liver fibrosis in the progression of liver cirrhosis in hepatolenticular degeneration (HLD) to explore their clinical application values. **Methods** A total of 99 patients with HLD admitted from January to August 2019 were selected for a retrospective study. According to liver cirrhosis on ultrasonography, the patients were divided into normal liver group ($n = 18$), liver fibrosis group ($n = 61$) and cirrhosis group ($n = 20$). Magnetic particles-based chemiluminescence was used to detect the serum levels of hyaluronic acid (HA), collagen IV (CIV), laminin (LN) and N-terminal peptide of type III procollagen (P III NP) in HLD patients. The receiver operating characteristic(ROC) curve was used to analyze and compare the clinical value of serum related items in the early detection and diagnosis of hepatic fibrosis in HLD. **Results** The level of serum HA in HLD patients with liver fibrosis increased in the order of liver normal group, liver fibrosis group and liver cirrhosis group ($P < 0.01$), the level of serum CIV in liver cirrhosis group was higher than that in liver fibrosis group and liver normal group (all $P < 0.01$), and the level of serum LN and P III NP had no significant difference among the three groups (all $P > 0.05$). Serum HA level in liver cirrhosis group was statistically higher in patients without cirrhosis ascites ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that AUC of serum HA in the diagnosis of liver fibrosis in HLD was 0.828, and its cut-off value, sensitivity and specificity were 72.36 ng/ml, 75.41% and 88.89% respectively. **Conclusion** Among the four serum markers of liver fibrosis, only

HA can detect liver fibrosis in HLD patients early and reflect the pr
clinical application.

Key words: Hepatolenticular degeneration; Liver cirrhosis; Ascites; Liver fibrosis; Hyaluronic acid

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (81774299)

肝豆状核变性 (hepatolenticular degeneration, HLD) 又称威尔逊病 (Wilson disease), 是一种以铜代谢障碍为特征的常染色体隐性遗传性疾病。肝豆状核变性由于 13 号染色体长臂的 ATP 7B 基因突变, 引发铜蓝蛋白合成降低与胆道排铜障碍; 过量的铜沉积于肝脏、脑、角膜以及肾等组织中导致相应的组织病变, 其中以肝脏纤维化甚至肝硬化的发生最为普遍^[1-2]。早期发现肝纤维化对延缓肝硬化的发生显得尤为重要。血清肝纤维化四项 [透明质酸 (HA)、IV 型胶原 (CIV)、层粘连蛋白 (LN) 与 III 型前胶原 N 端肽 (PⅢNP)] 是目前检测肝纤维化发生的常用标志物。然而不同疾病 (如: 乙型肝炎、酒精性肝病等) 发病机制不同, 所引起的肝纤维化进展中血清肝纤维化四项的变化可能有所不同。因此, 本研究对 HLD 患者血清肝纤维化四项进行分析, 探讨何种标记物可最为敏感的诊断 HLD 肝纤维化以明确其临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取安徽中医药大学第一附属医院 2019 年 1 月至 8 月于脑病中心收治的 99 例 HLD 患者为对象进行回顾性研究。纳入标准: 全部病例结合患者家族史、神经系统症状、K-F 角膜环、血清铜蓝蛋白或铜氧化酶、24 h 尿铜排泄量均符合 HLD 诊断标准^[3]。排除标准: (1) 排除伴有乙型肝炎、丙型肝炎、酒精性肝病及自身免疫性肝病等引起肝损害的患者; (2) 排除伴有类风湿性关节炎、干燥综合征等引起血清肝纤维化四项水平增高的患者; (3) 排除合并有糖尿病等可能引起肝功能异常的患者。患者对所作各项检测均知情同意。99 例中, 男 51 例, 女 48 例, 年龄 2~49 (21.67 ± 12.03) 岁。分组标准: 根据腹部二维彩色超声检查 HLD 的肝实质声像结果, 分为三组: (1) 正常声像 (肝正常组, $n = 18$): 肝脏大小形态正常, 包膜光整, 内部回声均细, 分布均匀, 肝内血管清晰; (2) 肝纤维化声像 (肝纤维化组, $n = 61$): 肝脏大小形态正常, 包膜光整或不光整, 内部回声增密增强, 分布均匀或不均匀, 肝内血管清晰或欠清晰; (3) 肝硬化声像 (肝硬化组, $n = 20$): 肝脏体积缩小, 形态失常, 包膜不光整, 内部回声明显增粗增强, 分布不均匀, 肝内血管显示模糊。此外, 根据超声检查腹腔有

无液性暗区, 将肝硬化组分为无腹水组 ($n = 10$) 与有腹水组 ($n = 10$)。

1.2 方法 全部研究对象均于清晨空腹采集静脉血 3 ml 置真空管中, 以 3 500 r/min 离心 5 min 后取血清。血清 HA、CIV、LN 与 PⅢNP 采用磁微粒化学发光法检测 (郑州安图 AutoLumo A2000 化学发光检测仪检测及其配套试剂)。

1.3 HLD 患者血清标志物的观察 比较血清肝纤维化四项在 HLD 肝硬化进展中的变化趋势, 寻找其中最能反映 HLD 肝硬化进展的相关标志物, 评价其诊断 HLD 早期肝硬化 (肝纤维化) 的敏感度与特异性; 进一步比较 HLD 肝硬化合并腹水组与无腹水组相关标志物的水平, 探讨其监测肝硬化合并症的临床应用价值。

1.4 统计学方法 应用 SPSS22.0 软件。非正态分布的计量资料用中位数 (第 25 百分位数, 第 75 百分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 三组间的差异采用非参数比较的 Kruskal-Wallis H 检验及两两比较的 Dunn 检验; 两组间的比较采用 Mann-Whitney U 检验; 各组年龄构成比之间的差异比较采用 χ^2 检验。ROC 曲线下面积用于评价血清标志物水平对肝纤维化的诊断能力。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HLD 患者的临床特征 经二维彩色超声检查将 HLD 肝脏病变分为三组: 肝正常组、肝纤维化组、肝硬化组, 三组之间的男女性别构成比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 三组之间的年龄差异存在统计学意义 ($P < 0.01$), 然而两两比较发现肝正常组与肝纤维化组之间年龄并无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 HLD 肝正常组、肝纤维化组、肝硬化组血清肝纤维化四项水平 血清 HA 水平依 HLD 肝正常组 → 肝纤维化组 → 肝硬化组之序呈递增 ($P < 0.01$), 且两两比较差异均有统计学意义 (P 均 < 0.01), 见表 1、图 1; 肝硬化组血清 CIV 水平高于肝纤维化组和肝正常组 (P 均 < 0.01); 血清 LN 与 PⅢNP 水平三组间并无统计学差异 (P 均 > 0.05)。见表 1。

2.3 血清肝纤维化四项诊断 HLD 肝纤维化的 ROC 曲线分析 以肝正常组为对照, 采用 ROC 曲线分析血清肝纤维化四项对 HLD 肝纤维化的诊断效能, 结

表 1 HLD 肝硬化进展不同阶段患者一般资料及

组别	例数(男/女)	年龄(岁)	HA (ng/ml)	CIV (ng/ml)	LN (ng/ml)	PⅢNP (ng/ml)
肝正常组	18(9/9)	10.50(6.75,20.25)	60.68(40.31, 69.11)	46.46(38.22, 63.10)	121.90(86.15,163.30)	12.57(10.41,17.89)
肝纤维化组	61(31/30)	19.00(10.00,29.00)	114.20(70.60, 179.30) ^a	58.41(44.47, 78.84)	115.70(96.70,170.70)	12.49(8.85,21.69)
肝硬化组	20(11/9)	31.00(27.00,39.50) ^{ab}	816.30(360.00,1078.00) ^{ab}	129.10(97.03,196.40) ^{ab}	164.90(103.60,236.30)	12.81(11.08,14.69)
χ^2/H 值	0.131	26.59	54.80	38.38	3.626	0.369
P 值	0.939	<0.01	<0.01	<0.01	0.163	0.832

注:与肝正常组比较,^a $P < 0.01$;与肝纤维化组比较,^b $P < 0.01$ 。

表 2 HLD 肝硬化有、无腹水患者血清肝纤维化四项水平 [n = 10, ng/ml, M(P₂₅, P₇₅)]

组别	HA	CIV	LN	PⅢNP
肝硬化无腹水组	690.30(276.80, 844.70)	114.20(94.05,146.50)	137.3(100.40,249.20)	12.22(10.41,24.69)
肝硬化腹水组	1006.00(717.50,1481.00)	154.40(95.87,290.60)	166.80(100.40,230.40)	12.85(11.92,14.34)
U 值	23.00	32.00	48.00	42.00
P 值	0.043	0.190	0.912	0.579

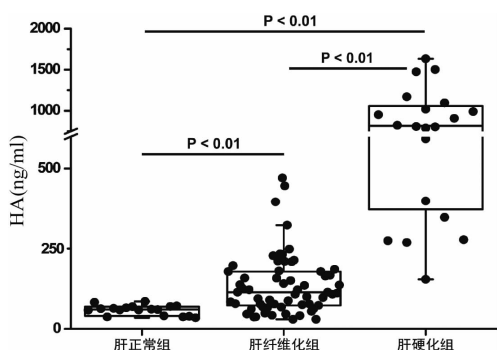


图 1 HLD 患者肝硬化进展不同阶段血清 HA 表达水平

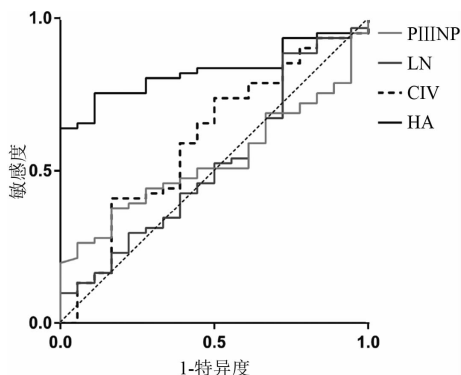


图 2 血清肝纤四项诊断 HLD 肝纤维化的 ROC 曲线

果显示仅血清 HA 对于判断 HLD 肝纤维化具有统计学意义 ($P < 0.01$), 其 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.828, 诊断临界值为 72.36 ng/ml, 其对应的敏感度与特异度分别为 75.41%、88.89%。见图 2。

2.4 HLD 肝硬化合并腹水组与无腹水组血清肝纤维化四项水平的比较 腹水是肝硬化最常见的并发症, 因此进一步分析 HLD 肝硬化是否并发腹水患者血清肝纤维化四项水平的差异, 结果仅血清 HA 在肝硬化合并腹水组水平高于无腹水组 ($P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

HLD(或 Wilson 病)是一种常染色体隐性遗传性

疾病, 主要由于 13 号染色体的长臂 ATP 7B 基因突变导致肝细胞铜蓝蛋白合成障碍及胆道排铜障碍, 导致过量的铜先后沉积于肝脏、脑、角膜及肾脏等全身各组织, 引起相应的组织病变和复杂多样的临床表现。在 Wilson 病患者中肝脏是铜代谢和累积最先及最主要的靶器官, 肝脏病变是 Wilson 病患者最常见的首发症状, 也是患者最主要的死亡原因之一^[2-4]。因此, 多数患者在初诊时即已发现肝功能损害甚至肝硬化。在发展到肝硬化的过程中预防和阻止肝纤维化已成为唯一可靠的治疗时机, 因此早期发现肝纤维化尤为重要。虽然诊断肝纤维化的金标准仍是肝脏穿刺活检, 但是由于 B 超检查具有无创、快速、易开展等优点, 常常被用来发现和诊断 HLD 肝纤维化及肝硬化^[5]。过量的铜沉积于肝脏, 引起脂肪变性与炎症等肝损伤, 进而导致肝纤维化与肝硬化的发生。在病变过程中, 彩色超声检查肝脏病变具有特征性的声像改变, 可为 HLD 肝纤维化的发现和诊断提供有价值的线索^[6]。本研究以彩色超声检查能够发现明显的肝纤维化及肝硬化的声像特征作为分组依据。

目前, 肝纤维化四项 (HA、CIV、LN 与 PⅢNP) 是诊断肝纤维化及肝硬化最常用的血清标志物。相关研究表明, 多种慢性肝病所引起的肝纤维化是其共同的病理基础与特征, 然而, 不同慢性疾病所导致的肝损伤及其纤维化的机制不同; 例如, 病毒性与酒精性肝损伤中, 肝星状细胞的反应可能表现出非常重要的差别, 这种差别与治疗存在着密切关系^[7-8]。因此, 在不同疾病所致肝纤维化的进程中, 血清肝纤维化四项的变化可能有所不同。例如, 有研究者发现非酒精性肝损伤引起的肝纤维化阶段血清 HA 与 PⅢNP 并无明显变化, 但在肝硬化阶段却有明显增高^[9]; 原发性胆汁性肝硬化患者肝纤维化阶段却以血清 HA 以及 CIV 增高为主^[10]。即使在同种疾病, 血清肝纤维

化四项在肝硬化进程中的水平变化也有所不同,例如,有研究发现乙型肝炎病毒所引起的肝硬化仅以 HA 水平增高为主^[11];但也有研究发现乙型肝炎患者肝硬化患者血清 HA、CIV 与 PⅢNP 三项水平均增高^[12]。目前,血清肝纤维化四项在 HLD 肝硬化进展中的变化仍未十分明确。本研究结果显示,Wilson 病所引起的肝纤维化是以 HA 增加为主,血清 CIV 在肝硬化时才增高,而 LN 与 PⅢNP 肝硬化过程中并未表现出明显变化;此外,血清 HA 对于发现与诊断 HLD 肝纤维化具有良好的敏感度与特异度。

腹水是肝硬化最常见的并发症,常常标志着肝硬化由代偿期向失代偿期转变。研究表明 10 年内发生腹水的肝硬化患者达 50%,1 年内发生腹水的死亡率约 15%,5 年的死亡率约 44%^[13]。因此,防治肝硬化患者并发症尤其是腹水的发生是临床治疗的重点。本研究中,血清肝纤维化四项中仅 HA 在 HLD 肝硬化并发腹水的患者中水平增加,进而可提示 HLD 患者肝硬化腹水的发生,其原因还需要作进一步探讨。

总之,HLD 由于肝脏铜代谢障碍导致铜最先沉积于肝脏,进而导致肝损伤甚至肝硬化的发生。肝纤维化的发生较为隐匿且治疗可逆,因而抑制肝纤维化向肝硬化发展是延缓 HLD 患者病情进展、改善患者生活质量的关键。本研究初步明确了血清 HA 在 HLD 肝硬化进展中的水平变化及其诊断效能。本文不足之处为未使用肝穿刺病理检查作为分组依据,且样本量较少,有待更大样本量的进一步研究。

参考文献

- [1] Kathawala M, Hirschfield GM. Insights into the management of Wilson's disease [J]. Therap Adv Gastroenterol, 2017, 10 (11) : 889 - 905.
- [2] Poujois A, Woimant F. Wilson's disease: a 2017 update [J]. Clin

- [3] European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease [J]. J Hepatol, 2012, 56 (3) : 671 - 685.
- [4] Zhong HJ, Sun HH, Xue LF, et al. Differential hepatic features presenting in Wilson disease-associated cirrhosis and hepatitis B-associated cirrhosis [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25 (3) : 378 - 387.
- [5] Gerstenmaier JF, Gibson RN. Ultrasound in chronic liver disease [J]. Insights Imaging, 2014, 5 (4) : 441 - 455.
- [6] Zhang GL, Zhao QY, Lin CS, et al. Transient elastography and ultrasonography: optimal evaluation of liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis B concurrent with nonalcoholic fatty liver disease [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019 : 3951574.
- [7] Gabele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell [J]. Front Biosci, 2003, 8 : d69 - 77.
- [8] Albanis E, Friedman SL. Hepatic fibrosis. pathogenesis and principles of therapy [J]. Clin Liver Dis, 2001, 5 (2) : 315 - 334, v - vi.
- [9] Lykiardopoulos B, Hagstrom H, Fredrikson M, et al. Development of serum marker models to increase diagnostic accuracy of advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: the new LINKI algorithm compared with established algorithms [J]. PLoS One, 2016, 11 (12) : e0167776.
- [10] Voumvouraki A, Koulentaki M, Notas G, et al. Serum surrogate markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis [J]. Eur J Int Med, 2011, 22 (1) : 77 - 83.
- [11] Hu L, Zhu Y, Zhang J, et al. Potential circulating biomarkers of circulating chemokines CCL5, MIP-1beta and HA as for early detection of cirrhosis related to chronic HBV (hepatitis B virus) infection [J]. BMC Infectious Disease, 2019, 19 (1) : 523.
- [12] Hu XR, Cui XN, Hu QT, et al. Value of MR diffusion imaging in hepatic fibrosis and its correlations with serum indices [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (24) : 7964 - 7970.
- [13] Pose E, Cardenas A. Translating our current understanding of ascites management into new therapies for patients with cirrhosis and fluid retention [J]. Dig Dis, 2017, 35 (4) : 402 - 410.

收稿日期:2019 - 12 - 07 修回日期:2020 - 02 - 16 编辑:石嘉莹