

• 临床检验研究论著 •

自身免疫性肝病患者肝纤维化血清标志物检测的意义

李 巍, 曹文艳, 孟存仁, 包建玲, 朱有森[△]

(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆乌鲁木齐 830054)

摘要:目的 探讨血清透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(CⅣ)和层粘连蛋白(LN)对自身免疫性肝病(ALD)患者肝纤维化诊断及鉴别意义。方法 采用增强化学发光免疫分析法对 37 例原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者、25 例自身免疫性肝炎(AIH)患者、33 例肝硬化患者、37 例病毒性肝炎患者及 20 例健康体检者血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 进行检测,并对部分患者在治疗 6 个月后再次检测上述指标,同时和部分肝功能指标进行相关性分析。结果 ALD 患者 4 项肝纤维化指标均高于健康对照组(均 $P < 0.05$);AIH 组 4 项指标均高于病毒性肝炎组(均 $P < 0.01$),ROC 曲线下面积分别为 0.823、0.849、0.824 和 0.830;PBC 组 CⅣ和 LN 低于肝硬化组($P < 0.05$);两组 ALD 患者在经治疗 6 个月后,上述指标均明显下降(均 $P < 0.05$)。结论 肝纤维化血清标志物 HA、PCⅢ、CⅣ和 LN 对于 ALD 患者肝纤维化的诊断及和病毒性肝炎的鉴别具有一定价值,并能间接反映肝脏炎症的情况。

关键词:肝炎,自身免疫性; 肝硬化,胆汁性; 透明质酸; Ⅲ型前胶原; Ⅳ型胶原; 层粘连蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)17-2062-03

The significance of liver fibrosis serum markers determination in patients with autoimmune liver diseases

Li Wei, Cao Wenyan, Meng Cunren, Bao Jianling, Zhu Yousen[△]

(Department of Medical Testing Center, the First Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China)

Abstract: Objective To investigate the value of hyaluronic acid(HA), type Ⅲ procollagen(PCⅢ), typeⅣ collagen(CⅣ) and laminin(LN) to liver fibrosis diagnosis and identification in patients with autoimmune liver disease(ALD). **Methods** Serum samples from 37 patients with primary biliary cirrhosis(PBC), 25 patients with autoimmune hepatitis(AIH), 33 patients with cirrhosis, 37 patients with viral hepatitis and 20 healthy people were collected to detect HA, PCⅢ, CⅣ and LN using enhanced chemiluminescence immunoassay. The four indexes of partial patients with ALD were detected again after 6 months therapy. **Results** The levels of four serum markers in patients with ALD were significantly higher than those in normal control group($P < 0.05$). The four indicators in AIH were higher than those in viral hepatitis group($P < 0.01$). The areas under the ROC curves were 0.823, 0.849, 0.824 and 0.830, respectively. The levels of CⅣ and LN in PBC group were lower than those in cirrhosis group($P < 0.05$). The four indexes of the two ALD groups reduced significantly after 6-month treatment($P < 0.05$). **Conclusion** Detection of liver fibrosis serum markers has certain value to diagnosis of liver fibrosis in patients with ALD and to identification with viral hepatitis, which can even be used to indirectly reflect the liver inflammation.

Key words: hepatitis, autoimmune; cirrhosis, biliary; hyaluronic acid; type Ⅲ procollagen; type Ⅳ collagen; laminin

自身免疫性肝病(ALD)是以累及肝脏为主的一类自身免疫性疾病,主要包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化(PBC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)及一些三者中任两者的重叠综合征。这些疾病的共同特点是机体免疫系统攻击自身肝组织造成肝脏病理损害,后期均可发生纤维化进而进展为肝硬化^[1]。肝组织学检查是判断肝纤维化及其程度的金标准,但由于该项检查的有创性,限制了其在临床上的常规应用。已有研究表明肝纤维化血清标志物透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(CⅣ)和层粘连蛋白(LN)与肝纤维化分期存在一定的量化关系^[2]。本研究旨在探讨 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 对于 ALD 患者肝纤维化的诊断及与其他肝病鉴别的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 9 月至 2011 年 6 月在新疆医科大学第一附属医院诊断的 ALD 患者 62 例。其中 AIH 患者 25 例,

男 6 例,女 19 例,平均年龄 48.1 岁,诊断依据 2002 年美国肝脏病学会发表的诊疗指南中的 AIH 诊断积分系统^[3]。AIH 患者包括 3 个亚型:1 型(抗 SMA 阳性)19 例,2 型(抗 LKM-1 阳性)4 例,3 型(抗 SLA/LP 阳性)2 例。PBC 患者 37 例,男 2 例,女 35 例,平均年龄 56.0 岁,全部符合美国肝脏病学会 2000 年诊断标准^[4],自身抗体检测为 AMA 或 AMA-M2 阳性,病理分期属早期者(I 期、II 期)22 例,晚期(III 期、IV 期)者 15 例。33 例肝硬化患者均经肝活检确诊,其中代偿期 18 例,失代偿期 15 例;包括肝炎后肝硬化 13 例,酒精性肝硬化 12 例,不明原因者 8 例。37 例慢性病毒性肝炎患者(慢性乙型肝炎 31 例,慢性丙型肝炎 6 例)均进行了肝组织活检,其中 S1~S2 期 21 例, S3~S4 期者 16 例。上述病例及 20 例健康者均为同期在本院就诊的患者和健康体检者。

1.2 血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 水平检测 采用增强化学发光

[△] 通讯作者, E-mail: zys428@163.com。

免疫分析法,仪器及试剂盒由北京泰格科信生物科技有限公司提供,采集静脉血后分离血清置冰箱保存待检,按说明书进行操作。

1.3 肝功能指标测定 血清 ALT、AST、ALP、GGT、TBIL、TBA 均用美国贝克曼公司生产的 DXC-800 全自动生化分析仪和配套试剂检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 分析软件,计量资料的比较采用 *t* 检验,灵敏度和特异度计算使用 ROC 曲线并计算曲线下面积,治疗前后的比较用配对 *t* 检验,相关性分析采用线

性相关检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ALD 患者与病毒性肝炎、肝硬化患者及健康对照组的血清纤维化标志物比较 AIH 组、PBC 组、病毒性肝炎组与肝硬化组 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 水平均显著高于健康对照组 (*P*<0.05);肝硬化组的 CⅣ、LN 水平高于 PBC 组 (*P*<0.05),而 HA 和 PCⅢ水平差异无统计学意义 (*P*>0.05);AIH 组 4 项指标均明显高于病毒性肝炎组 (*P*<0.01);AIH 组和 PBC 组 4 项指标均差异无统计学意义 (*P*>0.05),见表 1。

表 1 各组肝纤维化血清标志物比较(̄x±s,ng/mL)

组别	<i>n</i>	HA	PCⅢ	CⅣ	LN
健康对照组	20	57.77±11.88△	67.88±21.77△	54.68±12.14△	82.82±23.55△
慢性肝炎组	37	85.44±57.17	85.13±43.59	81.93±42.34	111.52±52.03
肝硬化组	33	216.06±124.77	178.61±67.00	198.80±102.53	238.57±116.34
AIH 组	25	196.19±179.30▲	168.24±91.42▲	139.93±67.55▲	192.38±94.35▲
PBC 组	37	201.85±114.42	184.80±124.80	134.41±57.23*	175.78±124.00*

△:*P*<0.05,与其他各组相比;▲:*P*<0.01,与慢性肝炎组相比;*:*P*<0.05,与肝硬化组相比。

2.2 4 项纤维化指标用于 AIH 和病毒性肝炎鉴别的 ROC 曲线 见图 1。以灵敏度和特异度之和最大时所对应的变量值为临界值,得到各指标对二者鉴别的灵敏度、特异度和曲线下面积(AUC),见表 2。

表 2 肝纤维化血清标志物用于 AIH 和病毒性肝炎鉴别的评价指标

指标	临界值 (ng/mL)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	AUC 95%置信区间	
					下限	上限
HA	85.02	84.0	71.3	0.823	0.713	0.933
PCⅢ	88.74	88.0	78.4	0.849	0.750	0.947
CⅣ	89.13	84.0	75.7	0.824	0.712	0.936
LN	114.16	80.0	81.1	0.830	0.724	0.936

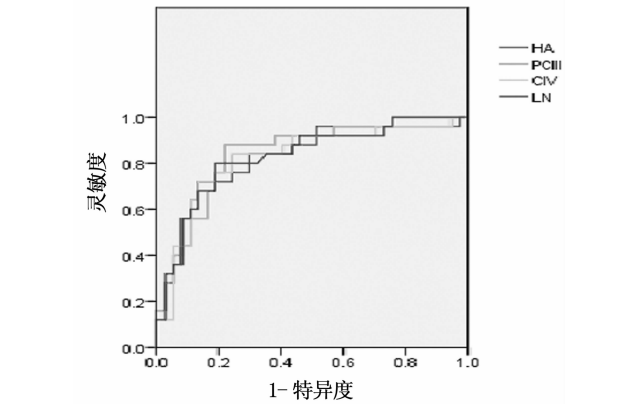


图 1 4 项肝纤维化指标用于 AIH 和病毒性肝炎鉴别的 ROC 曲线

2.3 AIH 患者和 PBC 患者治疗前和治疗 6 个月后血清标志物比较 无论是 AIH 患者还是 PBC 患者,在经过 6 个月治疗后各项标志物水平均有明显下降(*P*<0.01),见表 3。

表 3 AIH 患者和 PBC 患者治疗前和治疗 6 个月后各标志物配对 *t* 检验结果

指标 (ng/mL)	AIH(<i>n</i> =18)			PBC(<i>n</i> =20)		
	̄x±Sd	配对 <i>t</i>	<i>P</i>	̄x±Sd	配对 <i>t</i>	<i>P</i>
HA	151.00±151.08	4.24	<0.01	83.07±52.17	7.12	<0.01
PCⅢ	111.23±66.00	7.16	<0.01	92.20±102.53	4.02	<0.01
CⅣ	105.81±58.63	7.66	<0.01	66.31±50.62	5.86	<0.01
LN	141.58±79.37	7.57	<0.01	125.91±137.58	4.09	<0.01

̄x:为治疗前后的差值的均值;Sd:为差值的标准差。

3 讨 论

ALD 病因和发病机制目前尚未完全阐明。AIH 病理表现以界面性肝炎为要特点,表现为门静脉周围大量浆细胞浸润和肝细胞中、重度碎屑样坏死,后期最终发展成肝硬化[5];PBC 的病理特征是进行性的非化脓性小胆管炎、汇管区周围炎症、纤维化乃至肝硬化[6]。不论是 AIH 还是 PBC,其发生纤维化的前提都是慢性持续或反复的炎症坏死,是产生胶原的肝脏间质细胞被激活从而发生增殖并合成、分泌大量细胞外基质的结果。

肝脏活检是对肝纤维化进行诊断和分级、分期的“金标准”,但由于其属于有创操作,难以反复多次进行,并且存在取样误差、不同阅片者的个体差异等缺点[7]。研究已证实,肝纤维化或肝硬化发生时,血清中的胶原、非胶原糖蛋白和蛋白多糖等成分明显增加。血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 已经被作为肝纤维化血清标志物用于慢性肝病肝纤维化的诊断、纤维化程度估计和预后判断,显示了较好的灵敏度和特异性[8]。由于 ALD 的炎症反应以自身免疫反应为基础,致病机制和慢性病毒性肝炎及肝硬化有所不同,其纤维化的进程和程度也可能有所不同。Voumroulaki 等[9]通过检测 PBC 早期和晚期患者血清纤维化标志物水平,表明 HA 在 PBC 不同分期差异显著,可

用于两者的鉴别。

本研究中 AIH 组、PBC 组和病毒性肝炎组及肝硬化组血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 均高于健康对照组,同时 AIH 组的四项指标均明显高于病毒性肝炎组。虽然病毒性肝炎和 AIH 的炎症都是免疫介导的肝细胞损伤,但自身免疫反应损伤较重,肝细胞坏死较多,纤维化进展较快^[10]。肝硬化组的 CⅣ、LN 高于 PBC 组,可能是因为肝硬化患者中晚期患者比例较多,纤维化程度较重,而 PBC 患者病程进展较慢,早期主要以胆管炎和胆汁淤积为主,肝实质损害较轻。本研究因未对患者严格按病理分级和分期进行分组,因此尚不能确定 4 项血清标志物与 ALD 病理变化之间的对应关系。

肝纤维化是一个可逆的过程,一旦炎症坏死消失,过多的细胞外基质被降解,纤维化便可逆转。骆定海等^[11]的研究显示肝纤维化谱指标反映了 AIH 患者病情的轻重程度,可以指导治疗及预后。本研究通过对 AIH 和 PBC 患者治疗前与治疗 6 个月后纤维化标志物的配对比较显示治疗后 4 项指标均明显下降,表明以上标志物与纤维化程度及病情存在一定相关性。

AIH 患者血清纤维化标志物与部分肝功能指标的相关性分析显示其与 AST、ALP 和 TBA 具有较好的相关性,说明该 4 项指标不仅可反映肝纤维化的程度,同时也反映了肝实质细胞损害的程度和肝内胆汁淤积的程度,但 TBIL 除与 PCⅢ存在相关关系外,与其他 3 项指标未显示出统计学相关,其原因是在除急性黄疸性肝炎和慢性活动性肝炎以外的其他肝病中,TBIL 反映肝脏损害的敏感性较差,而 TBA 则较为敏感^[12]。

综上所述,检测血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 有助于 ALD 患者肝纤维化的诊断及与病毒性肝炎、肝硬化的鉴别,在 ALD 的治疗过程中动态监测 4 项纤维化标志物水平,可间接反映肝脏炎症和纤维化的程度。

参考文献

[1] Manns MP, Strassburg CP. Autoimmune hepatitis: clinical chal-

lenges[J]. Gastro enterology, 2001, 120: 1502-1505.

[2] 丁贤君,李世波,李绍佐,等. 慢性肝病患者肝纤维化血清指标与肝组织纤维化分期的量化关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13 (12): 911-914.

[3] Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2002, 36(2): 479-497.

[4] Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Disease practice guidelines[J]. Hepatology, 2000, 31(4): 1005-1013.

[5] Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 2193-2213.

[6] 尤欣,刘炜,张恒,等. 原发性胆汁性肝硬化和原发性干燥综合征患者血清中不同抗核抗体型别的分析[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(3): 168-170.

[7] Martinez SM, Crespo G, Navasa M, et al. Noinvasive assessment of liver fibrosis[J]. Hepatology, 2011, 53(1): 325-335.

[8] 吴正林,吴意,叶军,等. 血清中肝纤维化指标测定在肝病中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 31-32.

[9] Voumrouraki A, Koulentaki M, Notas G, et al. Serum surrogate markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis[J]. Eur J Intern Med, 2011, 22(1): 77-83.

[10] 牟君成,赵昕,王文昕. 肝抗原自身抗体检测对自身免疫性肝病的诊断价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 451-454.

[11] 骆定海,吴建胜,贾国葆,等. 自身免疫性肝炎合并纤维化指标异常对疾病预后的判断意义[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(5): 97-100.

[12] 唐丽英. 血清总胆汁酸与胆红素在肝胆疾病中的相关关系探讨[J]. 南华大学学报:医学版, 2009, 30(3): 296-297.

(收稿日期:2012-02-12)

(上接第 2061 页)

outcomes[J]. Am J Transplant, 2009, 9(3): 536-542.

[3] 贾保祥,武俊杰,孙利宁,等. 2 429 例尿毒症患者致敏因素的分析[J]. 中华器官移植杂志, 2010, 31(7): 429-432.

[4] El-Awar N, Terasaki P, Lazda V, et al. Almost all patients who are waiting for a regraft of a kidney transplant have anti-HLA antibodies[J]. Transplant Proc, 2002, 34(7): 2531-2532.

[5] Thompson JS, Thacker LR, Krishnan G. Human leukocyte antigens DR and AB and kidney retransplantation[J]. Transplantation, 2003, 75(5): 718-723.

[6] Marrari M, Duquesnoy RJ. Detection of donor-specific HLA antibodies before and after removal of a rejected kidney transplant [J]. Transpl Immunol, 2010, 22(3/4): 105-109.

[7] Paramesh AS, Zhang R, Baber J, et al. The effect of HLA mis-

match on highly sensitized renal allograft recipients [J]. Clin Transplant, 2010, 24(6): E247-252.

[8] 贾保祥,唐雅望,马威然,等. HLA 配型和 PRA 对移植肾功能的影响研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16): 1802-1804.

[9] 贾保祥,孙立宁,田野. 亲属肾移植患者术后群体反应性抗体与肾功能的比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 675-676.

[10] Barba Abad J, Robles Garcia JE, Saiz Sansi A, et al. Impact of renal retransplantation on graft and recipient survival[J]. Arch Esp Urol, 2011, 64(4): 363-370.

[11] Ishida H, Hiral T, Kohei N, et al. Significance of qualitative and quantitative evaluations of anti-HLA antibodies in kidney transplantation[J]. Transpl Int, 2011, 24(2): 150-157.

(收稿日期:2012-02-03)