

论著·临床研究

壳多糖酶 3 样蛋白 1、层粘连蛋白、Ⅳ型胶原在乙型肝炎病毒相关肝硬化中的诊断价值*

黎村艳¹,段 贞¹,朱雅祺³,张柏银⁴,曹友德¹,谭黎明¹,钟 婕²,周兵飞^{1△}

(湖南省人民医院/湖南师范大学第一附属医院:1. 检验科;2. 科研部,湖南长沙 410005;

3. 湖南师范大学医学院医学检验系,湖南长沙 410006;4. 湖南省脑科医院麻醉科,湖南长沙 410007)

摘 要:目的 探讨血清壳多糖酶 3 样蛋白 1(CHI3L1)与透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PⅢNP)、层粘连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(CⅣ)和纤维连接蛋白(FN)水平(以下简称“肝纤五项”)在乙型肝炎病毒相关肝硬化中的诊断价值。**方法** 将湖南省人民医院 2016 年 6 月至 2017 年 6 月住院的慢性乙肝患者 62 例、肝硬化患者 28 例、原发性肝癌患者 21 例纳入研究(均为乙肝表面抗原阳性)。选取同期在该院进行体检且各项指标未见异常者 30 例作为对照组。用酶联免疫吸附测定检测血清 CHI3L1 水平,用化学发光法检测血清肝纤五项水平。**结果** 不同组别间 CHI3L1 和肝纤五项水平比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。肝硬化组的 CHI3L1 水平明显高于原发性肝癌组、慢性乙肝组 and 对照组($P<0.05$)。肝硬化组的肝纤五项部分项目水平明显高于慢性乙肝组 and 对照组($P<0.05$)。logistic 回归模型显示,CHI3L1、LN 和 CⅣ纳入模型。ROC 曲线分析显示,CHI3L1、LN 和 CⅣ用于区分非肝硬化和肝硬化患者的曲线下面积分别为 0.799、0.794 和 0.888,以 CHI3L1:215.34 pg/mL、LN:124.01 ng/mL 和 CⅣ:84.27 ng/mL 为诊断界值点时,敏感度分别为 82.1%、71.4%和 92.9%,特异度分别为 69.0%、84.1%、76.1%。CHI3L1、LN 和 CⅣ联合检测时,敏感度和特异度分别提高至 82.1%和 85.8%。**结论** 血清 CHI3L1、LN 和 CⅣ水平对肝硬化的诊断有一定价值;血清 CHI3L1、LN 和 CⅣ联合检测可提高对肝硬化的诊断效能。

关键词:壳多糖酶 3 样蛋白 1; 慢性乙肝; 肝硬化; 原发性肝癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.15.004 **中图法分类号:**R446.11

文章编号:1673-4130(2019)15-1807-04 **文献标识码:**A

The diagnostic value of chitinase 3-like 1, LN and CⅣ in liver cirrhosis caused by hepatitis B virus*

LI Cunyan¹, DUAN Zhen¹, ZHU Yaqi³, ZHANG Baiyin⁴, CAO Youde¹,

TAN Liming¹, ZHONG Jie², ZHOU Bingfei^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, 2. Research Section, Hunan Provincial People's Hospital/The first affiliated hospital of Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410005, China;

3. Hunan Normal University School of Medicine, Changsha, Hunan 410006, China;

3. Department of Anesthesiology, Brain Hospital of Hunan, Changsha, Hunan 410007, China;

4. Department of Anesthesiology, Hunan Brain Hospital, Changsha, Hunan 410005, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of chitinase 3-like 1 (CHI3L1), hyaluronate (HA), procollagen Ⅲ N-terminal peptide(PⅢNP), laminin(LN), collagen type Ⅳ (CⅣ) and fibronectin(FN) in liver cirrhosis caused by hepatitis B virus. **Methods** There were four groups: chronic hepatitis B group (62 cases), cirrhosis group (28 cases), liver cancer group (21 cases), and healthy control group (30 cases). Except the healthy control group, the patients were positive for hepatitis B virus. The serum level of CHI3L1 was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and the serum levels of HA, LN, CⅣ, PⅢNP and FN were detected by chemiluminescent immunoassay. **Results** The levels of serum CHI3L1, HA, LN, CⅣ, PⅢNP and FN were significantly different in four groups ($P<0.05$). The levels of part items in CHI3L1, HA, LN, CⅣ, PⅢNP and FN were higher in liver cirrhosis group than those in control group, chronic hepatitis B group

* 基金项目:湖南省科技厅技术创新引导计划临床医疗技术创新引导项目(2017TT96);湖南省中医药科研计划项目(201635)。

作者简介:黎村艳,女,副主任技师,主要从事抗感染免疫研究。 △ 通信作者, E-mail: zbh2006190547@126.com。

本文引用格式:黎村艳,段贞,朱雅祺,等.壳多糖酶 3 样蛋白 1、层粘连蛋白、Ⅳ型胶原在乙型肝炎病毒相关肝硬化中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(15):1807-1810.

and liver cancer group ($P < 0.05$). The area under curve (AUC) for CHI3L1, LN and CⅣ in distinguishing liver cirrhosis were 0.799, 0.794, 0.888. When CHI3L1: 215.34 pg/mL, LN: 124.01 ng/mL and CⅣ: 84.27 ng/mL were used as diagnostic thresholds, sensitivity and specificity of CHI3L1, LN and CⅣ were 82.1%, 71.4%, 92.9% and 69.0%, 84.1%, 76.1% respectively. When CHI3L1, LN and CⅣ were combined, the sensitivity and specificity increased to 82.1% and 85.8% respectively. **Conclusion** Serum CHI3L1, LN and CⅣ level are valuable in the diagnosis of liver cirrhosis. The combined detection of serum CHI3L1, LN and CⅣ can improve the diagnostic efficacy of liver cirrhosis.

Key words: chitinase 3-like 1; chronic hepatitis B; liver cirrhosis; liver cancer

肝纤维化是由病毒感染、酒精的滥用、毒素等多种病因导致肝慢性损伤后的一类损伤再修复过程,晚期可进展为肝硬化^[1]。慢性乙型肝炎是导致肝纤维化、肝硬化的一个重要病因。肝组织活检是肝纤维化诊断和分期的金标准,但该法因具有侵入性病可能导致严重并发症而应用受限。因此寻找一个敏感度和特异度较高的无创肝纤维化早期诊断指标,对于临床及时治疗尤为关键。壳多糖酶 3 样蛋白 1 (CHI3L1) 是由人类 CHI3L1 基因编码的一种分泌型糖蛋白,属于哺乳动物几丁质酶样蛋白家族,也称几丁质酶 3 样蛋白 1^[2]。肝细胞、成纤维细胞、软骨细胞、肿瘤细胞、中性粒细胞和巨噬细胞等等多种细胞表达 CHI3L1^[3],以肝细胞表达最丰富,其表达量是其他组织器官的 15~227 倍^[4],当其在肝脏库普弗细胞中被诱导表达后激活肝脏星状细胞,可能参与肝纤维化的形成和维持^[5]。研究显示,血液中的 CHI3L1 蛋白水平与丙型肝炎病毒相关肝纤维化有关^[6],但是在乙型肝炎病毒 (HBV) 感染相关疾病中的表达情况鲜有报道。本研究拟通过评估 HBV 感染相关的各类肝脏疾病患者的血清 CHI3L1 水平,探讨其在 HBV 相关的肝硬化中的诊断价值。同时检测血清透明质酸 (HA)、Ⅲ型前胶原 (PⅢNP)、层粘连蛋白 (LN)、Ⅳ型胶原 (CⅣ) 和纤维连接蛋白 (FN) 水平 (以下简称“肝纤五项”),比较血清 CHI3L1 与肝纤五项单独或联合检测对于鉴别诊断 HBV 相关肝硬化的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将湖南省人民医院 2016 年 6 月至 2017 年 6 月入院的患者 111 例纳入研究,包括慢性乙型肝炎患者 62 例 (慢性乙肝组),男 50 例、女 12 例,年龄 (48.4±12.9) 岁;肝硬化患者 28 例 (肝硬化组),男 20 例、女 8 例,年龄 (54.3±9.6) 岁;原发性肝癌患者 21 例 (原发性肝癌组),男 14 例、女 7 例,年龄 (50.9±11.6) 岁。慢性乙肝诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南》(2015 年版)^[7],肝硬化和肝癌均符合第 7 版《内科学》诊断标准^[8]。以上患者在检测前 1 个月均未使用干扰素或核苷 (酸) 类等抗病毒药物。排除标准: (1) 药物性肝损伤、自身免疫性肝病、酒精性肝

病或合并其他肝炎病毒感染等的患者; (2) 恶性肿瘤或心、肺、肾等其他脏器功能严重损伤者; (3) 妊娠或哺乳期女性。另外,选取同期 30 例在湖南省人民医院体检且各项指标未见异常者作为对照组,男 21 例、女 9 例,年龄 (48.5±14.8) 岁。各组间年龄、性别比例比较差异均无统计学意义 ($P < 0.05$)。

1.2 方法 入院后采集上述人群空腹静脉血 3 mL, 30 min 内 3 000×g 离心 10 min, 分离血清, -80℃ 冰箱保存, 待测。用酶联免疫吸附法 (美国 Bio-Tek 公司 ELX800 型酶标仪) 检测血清 CHI3L1 水平, 按定量测定试剂盒 (杭州普望生物技术有限公司) 说明书进行操作。用化学发光法检测血清 HA、PⅢNP、LN、CⅣ和 FN 水平, 按试剂盒 (潍坊市康华生物技术有限公司产品) 和 SMART3000S 全自动化学发光仪 (科斯迈公司) 说明书进行操作。

1.3 统计学处理 用 SPSS18.0 统计软件处理数据。计数资料用百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。用 Kolmogorov-Smirnov 法对计量数据进行正态分布检验。正态分布的计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间的比较采用单因素方差分析; 偏态分布的资料以 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示, 多组数据间的比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 两组数据间的比较采用 Kruskal-Wallis H 检验平均秩多重比较。用 Spearman 法进行相关性分析, 用 logistic 回归分析进行多因素分析。采用 ROC 曲线下面积 (AUC) 判断预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组血清肝纤五项水平 各组间血清 CHI3L1 和肝纤五项的水平呈偏态分布, 见表 1。Kruskal-Wallis 检验显示, 不同组别患者的 CHI3L1 和肝纤五项水平明显不同 (CHI3L1: $H = 36.16, P = 0.000$; HA: $H = 34.85, P = 0.000$; LN: $H = 28.82, P = 0.000$; CⅣ: $H = 55.89, P = 0.000$; PⅢNP: $H = 65.12, P = 0.000$; FN: $H = 41.33, P = 0.000$)。Kruskal-Wallis H 检验平均秩多重比较显示, 肝硬化组患者的 CHI3L1 水平明显高于原发性肝癌组 ($P = 0.039$)、慢性乙肝组 ($P = 0.000$) 和对照组 ($P = 0.000$); 原发性

肝癌组患者 CHI3L1 水平与慢性乙肝组比较,差异无统计学意义($P=0.306$),见表 2。肝硬化组的肝纤五项部分项目水平均明显高于慢性乙肝组(HA: $P=0.000$,LN: $P=0.000$,CⅣ: $P=0.000$,PⅢNP: $P=$

0.011,FN: $P=0.000$)、原发性肝癌组(CⅣ: $P=0.002$)和对照组(HA: $P=0.000$,LN: $P=0.000$,CⅣ: $P=0.000$,PⅢNP: $P=0.000$,FN: $P=0.002$)。

表 1 四组患者 CHI3L1 和肝纤五项的检测水平[M(P_{25} , P_{75})]

组别	n	CHI3L1(pg/mL)	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)	CⅣ(ng/mL)	PⅢNP(ng/mL)	FN(μg/mL)
对照组	30	82.5(71.3,138.7)	55.6(46.1,71.4)	60.2(43.8,82.3)	15.0(15.0,51.4)	2.1(1.5,3.7)	121.6(111.8,133.4)
慢性乙肝组	62	126.0(72.2,305.6) ^b	73.5(28.2,124.4) ^b	84.9(47.5,111.7) ^b	62.5(18.9,92.4) ^{ab}	8.9(5.9,20.9) ^{ab}	110.7(102.6,119.4) ^b
肝硬化组	28	366.8(238.7,910.0) ^a	251.5(126.2,655.3) ^a	182.1(98.5,288.2) ^a	153.8(101.4,241.5) ^a	28.8(14.2,39.8) ^a	155.6(137.0,215.2) ^a
原发性肝癌组	21	224.7(106.9,465.5) ^{ab}	104.3(48.9,218.4)	98.7(52.9,166.8)	70.5(25.8,96.4) ^{ab}	16.7(7.6,27.6) ^a	130.6(119.2,149.2) ^c

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与肝硬化组比较,^b $P<0.05$;与慢性乙肝组比较,^c $P<0.05$

2.2 肝硬化组患者 CHI3L1 与肝纤五项水平的 Spearman 相关分析 Spearman 相关分析显示,肝硬化组患者 CHI3L1 与肝纤五项水平间的等级相关系数无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 肝硬化组患者 CHI3L1 与肝纤五项水平的 Spearman 相关分析

统计值	HA	LN	CⅣ	PⅢNP	FN
r_s	0.015	-0.163	0.121	0.108	0.070
P	0.938	0.407	0.540	0.583	0.723

表 3 两组 ROC 曲线分析结果

项目	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	最佳诊断界值	总体 AUC 的 95%CI
CHI3L1	82.1	69.0	0.511	0.799	215.34 pg/mL	0.706~0.891
LN	71.4	84.1	0.555	0.794	124.01 ng/mL	0.681~0.908
CⅣ	92.9	76.1	0.690	0.888	84.27 ng/mL	0.815~0.944
预测概率 P	82.1	85.8	0.680	0.923	0.2001	0.876~0.969

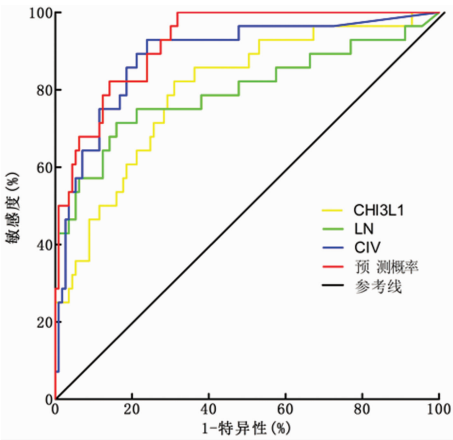


图 1 CHI3L1、CHI3L1、LN 和 CⅣ 及由 logistic 回归所得预测概率 P 的 ROC 曲线

2.3 肝硬化诊断的 ROC 曲线 将对照组、乙肝组和肝癌组纳入参照,血清 CHI3L1 鉴别肝硬化患者的 AUC 为 0.799,以 215.34 pg/mL 为最佳诊断界值

点,敏感度为 82.1%,特异度为 69.0%。以是否肝硬化为应变量,以血清 CHI3L1 与肝纤五项的浓度为自变量,建立 logistic 回归模型,结果 CHI3L1、LN 和 CⅣ 纳入模型,计算预测概率 P,得到预测概率 P 的诊断界值为 0.2001 时,敏感性和特异性分别提高至 82.1%和 85.8%。见表 3 和图 1。

3 讨论

肝纤五项是诊断肝纤维化的 5 种良好的生物标志物。HA 是基质成分之一,由间质细胞合成,是肝纤维化和肝硬化的敏感指标。LN 是基底膜中特有的非胶原性结构蛋白,与肝纤维化活动程度呈正相关。CⅣ是构成基底膜主要成分,其含量的增高可较灵敏反映肝纤维化的病程,是肝纤维化的早期标志之一。PⅢNP 是反映肝内Ⅲ型胶原合成的指标,其血清含量与肝纤维化的程度一致。FN 主要参与肝细胞损伤修复、胶原代谢、调节网状内皮系统功能,其水平随纤维化程度加重而增加。本研究发现,与对照组相比,肝硬化患者血清中的肝纤五项水平明显升高。

CHI3L1 是一类与炎症有关的生物标志物,是结缔组织细胞的生长因子,在组织重塑、癌细胞增殖、抗凋亡、血管异常等过程中可能起到重要作用^[9]。CHI3L1 血清水平升高与炎症性肠病、肝纤维化、类风湿性关节炎和各类肿瘤相关^[10,11]。本研究结果显示,肝硬化患者血清中 CHI3L1 水平明显高于慢性乙肝组,可能与慢性乙肝病程发展转化成肝硬化的过程中,持续的炎症导致肝实质大量破坏,CHI3L1 相应的增加促进机体自我修复有关。肝癌组的 CHI3L1 水平低于肝硬化组,猜测可能与癌细胞破坏正常肝细胞的功能,导致 CHI3L1 的分泌量相对下降有关。本研究相关分析结果显示,CHI3L1 与肝纤五项水平无显著相关性,六项指标不同时产生变化,这可能与 CHI3L1 和肝纤五项产生的机制不同有关^[12]。

使用单个标记物来诊断疾病具有许多限制,适当选择多个标记物联合检测可以提高诊断价值^[13]。文

献报道,CHI3L1 是一种优于 HA、PCⅢ、LN 和 CⅣ的可检测大量肝纤维化的血清标志物^[4]。本研究 logistic 回归分析显示,仅 CHI3L1、LN 和 CⅣ纳入模型。本研究 ROC 结果进一步显示,血清 CHI3L1、LN 和 CⅣ水平从非肝硬化患者中鉴别肝硬化患者的 AUC 分别为 0.799、0.794 和 0.888。使用 CHI3L1、LN 和 CⅣ三项指标联合检测的预测概率 P 作为独立的诊断指标,AUC 达到 0.923,敏感度和特异度分别达到 82.1%和 85.8%,显著高于各项指标单独检测时的诊断效能,对肝硬化的诊断具有重要价值。由于本研究为单中心研究,样本量仍有限,后续需多中心大样本量的试验来论证。

4 结 论

血清 CHI3L1 水平的监测在 HBV 相关肝硬化的诊断中有重要意义,CHI3L1、LN 和 CⅣ水平联合检测,能提高对肝硬化的诊断效能,为临床对肝硬化患者做出诊断和及时进行相应治疗提供依据。

参考文献

[1] PELLICORO A,RANMCHANDRAN P,IREDALE J P, et al. Liver fibros repair: immune regulation of wound healing in a solid organ[J]. Rev Immunol,2014,14(3): 181-194.

[2] CAPONE M,MAGGI L,SANTARLASCI V,et al. Chitinase 3-like-1 is produced by human Th17 cells and correlates with the level of inflammation in juvenile idiopathic arthritis patients[J]. Clin Mol Allergy,2016,8(14):16.

[3] HUANG HAI-JUN,WU T,MAO JIAN,et al. CHI3L1 is a Liver-Enriched,noninvasive biomarker that can be used to stage and diagnose substantial hepatic fibrosis [J]. OMICS,2015,19(6):339-345.

[4] MYERS R P,POMIER-LAYRARGUES G,KIRSCH R,

et al. Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients[J]. Hepatology,2012,55(1): 199-208.

[5] 马莹莹,王麟,邬田港,等. 壳多糖酶 3 样蛋白 1 在肝纤维化诊断中的研究进展[J]. 中华传染病杂志,2017,35(8): 1000-6680.

[6] KAMAL S M,TURNER B,HE QI,et al. Progression of fibrosis in hepatitis C with and without schistosomiasis: correlation with serum markers of fibrosis[J]. Hepatology,2006,43(4):771-779.

[7] 中华医学会肝病学会和感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. 肝脏,2015,31(12):915-932.

[8] 陆再英,钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:437-453.

[9] YAMAMORI H,HASHIMOTO R,OHI K,et al. A promoter variant in the chitinase 3-like 1 gene is associated with serum YKL-40 level and personality trait[J]. Neurosci Lett,2012,513(2):204-208.

[10] KZHYSHKOWSKA J,GRATCHEV A,GOERDT S. Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer[J]. Biomark Insights, 2007,2(1):128-146.

[11] SHUHUI L,MOK Y K,WONG W. Role of mammalian chitinases in asthma [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2009,149(4):369-377.

[12] 谢而付,张丽霞,张巧娣,等. 肝细胞癌患者壳多糖酶 3 样蛋白 1 与甲胎蛋白的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2017,24(2):159-161.

[13] 李春海. 加强肿瘤生物学标志的研究和评价[J]. 中华检验医学杂志,2000,23(1):6-8.

(收稿日期:2019-01-18 修回日期:2019-04-16)

(上接第 1806 页)

[20] RUTTER M D,NICKERSON C,REES C J,et al. Risk factors for adverse events related to polypectomy in the English Bowel Cancer Screening Programme[J]. Endoscopy,2014,46(2):90-97.

[21] 汤军,欧俐苹,陈玲,等. 4 种血清肿瘤标志物及粪便隐血的联合检测在 Dukes B 期结肠癌诊断中的应用[J]. 重庆医学,2017,46(22):3073-3076.

[22] 谢军花. 肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的价值与应用[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(8):1123-1125.

[23] 唐威,吴宁,欧阳汉,等. 超高场强磁共振成像和多层螺旋 CT 扫描在非小细胞肺癌术前 T 分期中的应用价值[J].

中华肿瘤杂志,2015,37(8):617-621.

[24] 陈舒颖,邱芳华,李秋明,等. 血清 DCD、CA199、CA724 和 CEA 联合检测对大肠癌的诊断价值[J]. 实用医学杂志,2017,33(15):2482-2485.

[25] 鄢明果,王农荣,谢桂生,等. 肿瘤标记物 CEA、CA724 对大肠癌的诊断价值[J]. 实用临床医学,2013,14(6):43-44.

[26] 龙华婧,夏阳,刘道利,等. 血清 TNF-α 在结直肠癌患者中的临床价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(10):1319-1321.

(收稿日期:2019-01-16 修回日期:2019-04-28)