

roschi, 2020, 14:169.

[19] ZILIO S, BICCIATO S, WEED D, et al. CCR1 and CCR5 mediate cancer-induced myelopoiesis and differentiation of myeloid cells in the tumor[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(1):003131.

[20] ODUM J D, STANDAGE S, ALDER M, et al. Candidate biomarkers for sepsis-associated acute kidney injury

mechanistic studies[J]. Shock, 2022, 57(5):687-693.

[21] YU Y, LI X, HAN S, et al. miR-181c, a potential mediator for acute kidney injury in a burn rat model with following sepsis[J]. Eur J Trauma Emerg Surg, 2023, 49(2):1035-1045.

(收稿日期:2023-11-25 修回日期:2024-04-20)

• 短篇论著 •

CD24 联合 TyG 指数对非酒精性脂肪性肝病的诊断价值*

李 闯^{1,2}, 王 侠³, 娄运伟^{4,5△}

1. 新乡医学院第三附属医院检验科, 河南新乡 453003; 2. 新乡市血液病理与免疫重点实验室, 河南新乡 453003; 3. 新乡医学院医学技术学院, 河南新乡 453003; 4. 河南省免疫与靶向药物重点实验室, 河南新乡 453003; 5. 新乡医学院医学技术学院/河南省分子诊断与检验医学协同创新中心, 河南新乡 453003

摘要:目的 探究 CD24 联合甘油三酯葡萄糖乘积指数(TyG 指数)对非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的诊断价值。方法 选取 2022 年 6 月至 2023 年 2 月在新乡医学院第三附属医院诊断为 NAFLD 的 50 例患者作为 NAFLD 组, 选取同期该院体检中心 27 例无 NAFLD 的体检健康者作为对照组。检测两组外周血中性粒细胞 CD24 的表达和其他实验室参数, 分析 NAFLD 发生的危险因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 CD24、TyG 指数对 NAFLD 的诊断价值。结果 NAFLD 组与对照组 CD24 和 TyG 指数比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CD24 和 TyG 指数均是 NAFLD 发生的独立危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示, CD24 联合 TyG 指数诊断 NAFLD 的曲线下面积(AUC)为 0.913, 显著大于 CD24 和 TyG 指数单一诊断(0.774、0.877)。结论 CD24 和 TyG 指数均是 NAFLD 的独立危险因素, CD24 联合 TyG 指数对 NAFLD 有较高的诊断价值。

关键词:非酒精性脂肪性肝病; CD24; 中性粒细胞; 甘油三酯葡萄糖乘积指数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.023

文章编号:1673-4130(2024)17-2155-04

中图法分类号:R446.1;R575.5

文献标志码:A

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是最常见的慢性肝脏疾病之一, 该疾病被定义为在没有大量饮酒或其他损伤因素的情况下肝脏中出现脂肪沉积过多^[1]。NAFLD 是一系列疾病的总称, 包括单纯的脂肪变性、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝纤维化、肝硬化和癌症。NAFLD 的发病机制尚未被完全阐明。但有研究显示, 该疾病与高血压、糖尿病和高脂血症等多种代谢因素密切相关^[2]。NAFLD 在亚洲的发病率为 29.6%^[3], 全球 NAFLD 的发病率为 25.2%^[4]。治疗 NAFLD 的关键是快速的诊断和预防。目前, 临床上诊断 NAFLD 主要依赖与肝活检和影像学。肝活检具有创伤性不容易被患者接受, 影像学主要依赖于肝脏超声, 而肝脏超声对轻度脂肪肝并不敏感。如果能找到更好的指标及预测模型将对 NAFLD 的诊断和治疗起到积极作用。CD24 是一种高度糖基化的糖基磷脂酰肌醇锚定表面蛋白, 它广泛表达于人体的各种

细胞, 包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和神经细胞等^[5]。同时, CD24 也参与多种疾病的发生和发展, 例如癌症^[6]、自身免疫性疾病^[7]和炎症性疾病^[8]。有研究显示, CD24 可作为 NAFLD 发生的危险因素^[9]。甘油三酯葡萄糖乘积指数(TyG 指数)被认为是比胰岛素抵抗(IR)更好地反映代谢紊乱的指标^[10], 其与糖尿病和动脉粥样硬化等多种疾病有着密切的关系^[11-12]。本研究旨在分析外周血中性粒细胞上 CD24 的表达和 TyG 指数与 NAFLD 的关系, 并建立 CD24 与 TyG 指数联合诊断模型, 为 NAFLD 的诊断和治疗提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2022 年 6 月至 2023 年 2 月在新乡医学院第三附属医院被诊断为 NAFLD 的 50 例患者作为 NAFLD 组。纳入标准:(1)彩超及实验室检查资料齐全;(2)NAFLD 的诊断符合中国肝脏协会

* 基金项目:河南省自然科学基金项目(222300420066)。

△ 通信作者, E-mail:ylou@xxmu.edu.cn。

脂肪肝研究组发布的《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 年更新版)》^[13]。排除标准:(1)男性每周饮酒量>140 g,女性每周饮酒量>70 g;(2)病毒性肝炎、自身免疫性肝炎或其他形式的慢性肝病;(3)肿瘤和急性慢性感染;(4)可能导致脂肪肝的其他疾病。另选取同期新乡医学院第三附属医院体检中心 27 例无 NAFLD 的体检健康者作为对照组。本研究获得所有受试者知情同意,并经医院伦理委员会批准(伦理审批号:K2022-002-01)。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 采集早晨空腹肘静脉全血标本用于血液学指标和生化指标检测及分析。所有标本均由经验丰富的实验室人员进行检测,实验室参数包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血尿酸(SUA)、血清肌酐(Scr)、白细胞计数(WBC)、甘油三酯(TG)、血红蛋白(Hb)和空腹血糖(FBG)。TyG 指数 = $\ln[\text{TG}(\text{mg/dL}) \times \text{FBG}(\text{mg/dL})/2]$,其中 TG 1 mmol/L = 88.5 mg/dL,FBG 1 mmol/L = 18 mg/dL。使用希森美康 XN-1000(日本)和贝克曼 AU5800 生化分析仪(美国)进行生化指标分析。

1.2.2 流式细胞术检测 将 40 μL 混匀的抗凝全血与适当质量浓度的单克隆抗体进行混合,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的黑暗环境中孵育 30 min 进行染色;然后,使用 2 mL 药物裂解液在黑暗中在室温下裂解红细胞 15 min。孵

育后,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次(300 \times g,每次 5 min),并将最终的细胞颗粒悬浮在 300 μL PBS 中。单克隆抗体 CD15(HI98)、CD16(eBioCB6)、CD24(SN3A5-2H10)和药物裂解液均购自美国 BD 公司。采用贝克曼 CytoFLEX 细胞分析仪(美国)收集细胞数据,每个样品至少采集 50 000 个细胞,根据细胞大小和颗粒度设置适当正向和侧向光散射参数后,对粒细胞进行门控分析。通过 CD15 和 CD16 表面标志物来鉴定中性粒细胞,通过平均荧光强度来评估 CD24 的表达。采用贝克曼 CytExpert 软件(美国)进行细胞测定及分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件对数据进行分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行比较,呈偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用 Mann-Whitney *U* 进行比较。计数资料以例数和百分率表示,采用 χ^2 检验进行比较。分析 NAFLD 发生的危险因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 CD24、TyG 指数和 CD24 联合 TyG 指数对 NAFLD 的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 NAFLD 组 ALT、AST、Scr、SUA、TG、WBC、Hb、CD24 和 TyG 指数明显高于对照组($P < 0.05$),两组性别、年龄和 FBG 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组一般资料比较 [n/n 或 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$]

项目	对照组 ($n=27$)	NAFLD 组 ($n=50$)	$\chi^2/t/Z$	<i>P</i>
性别(男/女)	37/13	17/10	1.020	0.313
年龄(岁)	48.03 \pm 10.07	50.62 \pm 10.43	1.049	0.298
ALT(U/L)	18(12,26)	24(18,35)	-2.672	0.008
AST(U/L)	18(17,23)	23(18,26)	-2.029	0.042
Scr($\mu\text{mol/L}$)	58(53,64)	68(58,77)	-2.666	0.008
SUA($\mu\text{mol/L}$)	285(231,328)	402(327,465)	-4.655	<0.001
TG(mmol/L)	1.09(0.68,1.36)	2.36(1.52,3.02)	-5.322	<0.001
FBG(mmol/L)	5.29(5.05,5.67)	5.43(4.93,6.08)	-0.977	0.328
WBC($\times 10^9/L$)	5.45(4.34,6.48)	5.96(5.33,7.43)	-2.194	0.028
Hb(g/L)	133.8 \pm 15.6	145.1 \pm 13.8	3.262	0.002
TyG 指数	8.38 \pm 0.45	9.18 \pm 0.53	6.492	<0.001
CD24	34 147 \pm 13 467	49 887 \pm 15 612	4.422	<0.001

2.2 NAFLD 发生的危险因素分析 单因素分析显示,ALT、Scr、SUA、TG、Hb、TyG 指数和 CD24 均是 NAFLD 发生的危险因素($P < 0.05$),见表 2。在调整了 ALT、Scr、SUA、TG 和 Hb 后,CD24 和 TyG 指数均是 NAFLD 发生的独立危险因素($P < 0.05$),见表 3。

表 2 单因素分析 NAFLD 发生的危险因素

变量	OR(95%CI)	<i>P</i>
年龄	1.025(0.979~1.074)	0.295
ALT	1.044(1.000~1.090)	0.048
AST	1.053(0.983~1.128)	0.143

续表 2 单因素分析 NAFLD 发生的危险因素

变量	OR(95%CI)	P
Scr	1.059(1.014~1.101)	0.010
SUA	1.016(1.008~1.024)	<0.001
TG	8.476(3.038~23.650)	<0.001
FBG	1.510(0.823~2.772)	0.183
WBC	1.325(0.983~1.784)	0.064
Hb	1.054(1.017~1.092)	0.004
TyG 指数	27.495(6.003~125.936)	<0.001
CD24	1.008(1.004~1.012)	<0.001

表 3 CD24 及 TyG 指数与 NAFLD 发生的关系

指标	β	标准误	Wald	OR	95%CI	P
CD24	0.008	0.003	9.147	1.008	1.003~1.014	0.002
TyG 指数	2.719	0.829	10.764	15.159	2.988~76.914	0.001

2.3 CD24、TyG 指数及联合诊断模型对 NAFLD 的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示,联合诊断模型诊断 NAFLD 的曲线下面积(AUC)最大,为 0.913。见表 4 及图 1。

表 4 CD24、TyG 指数及联合诊断模型对 NAFLD 的诊断效能

项目	AUC	95%CI	cut-off 值	灵敏度	特异度	约登指数
TyG 指数	0.877	0.794~0.960	8.730	0.800	0.852	0.652
CD24	0.774	0.662~0.886	31.720	0.920	0.519	0.439
联合诊断	0.913	0.846~0.980	—	0.920	0.815	0.735

注:—表示此项无数据。

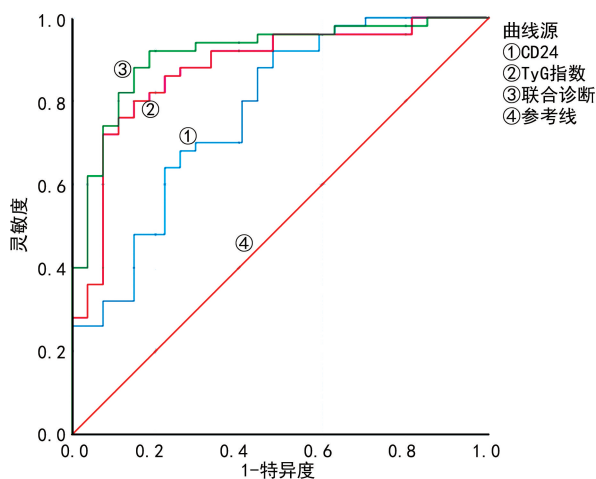


图 1 CD24、TyG 指数及联合诊断模型诊断 NAFLD 的 ROC 曲线

3 讨论

NAFLD 作为最常见的慢性肝脏疾病之一,影响着全球人类的身心健康。随着全球经济的持续发展,NAFLD 的发病率与与疾病相关的死亡病例还在不断

升高。有研究预测,从 2019 年到 2030 年,亚洲 NAFLD 病例将增加 6%~20%,而与 NAFLD 相关的死亡病例将增加 65%~100%^[14]。单纯的非酒精性脂肪肝相对比较稳定,仅有少数人会进展为 NASH,以及后期的严重肝脏疾病,而一旦进展为严重的肝脏疾病将对身体造成不可逆的损伤。寻找更好的诊断指标对 NAFLD 的及早诊断和治疗起到积极作用。

目前,关于 NAFLD 患者外周血中性粒细胞表面 CD24 表达上调的相关作用机制尚不清楚。然而,一些研究已经证明了二者可能存在潜在的关系。NAFLD 是一种与脂肪代谢异常相关的疾病,CD24 作为人体重要的免疫调节因子,在体内是前脂肪细胞的标志物,在体外是脂肪生成的特异性调节因子,并且 CD24 可以通过成熟脂肪细胞中的脂质积累和基因表达调节脂肪形成^[15]。由此可见,CD24 的表达可能与 NAFLD 在脂肪的产生和调节方面密切相关。中性粒细胞是人体重要的免疫细胞,有研究显示,在疾病发生时,中性粒细胞可以释放肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)和干扰素- γ (IFN- γ)等促炎细胞因子,而这些促炎细胞因子的释放增强了中性粒细胞的激活和存活,促进其对抗感染^[16]。一项脓毒症的研究显示,TNF- α 和 IFN- γ 单独或与粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)联合使用可以诱导中性粒细胞表面 CD24 表达的上调^[17]。有研究显示,NAFLD 患者血液中 TNF- α 和 GM-CSF 水平通常是升高的^[18-19]。这说明 NAFLD、促炎细胞因子和中性粒细胞 CD24 的表达密切相关。本研究结果中,NAFLD 组外周血中性粒细胞 CD24 的表达比对照组明显上调,是 NAFLD 的独立危险因素。这可能表明,NAFLD 可引起患者体内的促炎细胞因子增加,而患者体内促炎细胞因子的增加可以上调中性粒细胞表面 CD24 的表达。然而,本研究没有促炎细胞因子的数据,尚不能证明二者之间的因果关系。此外,有小鼠实验研究表明,CD24 可与唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 G(Siglecs-G)相互作用从而增强炎症,通过唾液酸酶抑制剂抑制 CD24 与 Siglecs-G 的相互作用,可以有效保护小鼠免受败血症的影响^[20]。这提示 CD24 表达的上调可能是对炎症的保护作用,然而这种保护作用是否与中性粒细胞表面 CD24 的表达密切相关还需要进一步验证。

在 NAFLD 患者中普遍存在 IR,其被认为是 NAFLD 发生和发展的关键因素。因此,评估 NAFLD 患者体内 IR 对疾病的诊断有着重要的作用。一直以来,高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术是公认的 IR 评估的金标准,但该技术实验费时且费用昂贵,临床应用较少。胰岛素抵抗的稳态模型评估(HOMA-IR)在临床上评估 IR 有着简单、廉价的优点,但该指标需

要测量血清胰岛素水平,无法进行大规模筛查。TyG 指数早在 2008 年被提出作为 IR 有价值的指标,该指标在评估 IR 时与 HOMA-IR 相比有着更好的特异度和灵敏度^[21]。另外,TyG 指数的计算时只需要有 TG 和 FBG 2 个指标,而这 2 个指标是日常体检时常用的指标,易被患者接受。本研究结果显示,TyG 指数是 NAFLD 的独立危险因素,CD24 与 TyG 指数联合诊断 NAFLD 的 AUC 明显大于 CD24 和 TyG 指数单项检测,对 NAFLD 的诊断价值更高。

NAFLD 影响全球人类的身体健康,给全球经济带来沉重负担,虽然目前已经提出了多种治疗 NAFLD 的可能性,但迄今为止还没有药物被批准用于疾病的治疗,NAFLD 最有效的治疗方法仍然是改善患者的生活方式、加强锻炼和减轻体重。本研究为 NAFLD 的发生和发展提供了基因方面的证据,也为 NAFLD 的诊断提供更好的指标。然而,本研究也有一些局限性:由于病例数限制,并未对疾病的严重程度来进行分组,并且研究只进行了相关性分析,未证明外周血中性粒细胞 CD24 表达上调和 NAFLD 发生之间的因果关系,也未能评估饮食习惯所带来的影响。

参考文献

[1] GOFTON C, UPHENDREN Y, ZHENG M H, et al. MAFLD: what is different from NAFLD[J]. *Hepatology*, 2023, 29(Suppl):S17-S31.

[2] AHADI M, MOLOOGHI K, MASOUDIFAR N, et al. A review of non-alcoholic fatty liver disease in non-obese and lean individuals[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 36(6):1497-1507.

[3] WONG S W, CHAN W K. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in Asia[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2020, 39(1):1-8.

[4] 丁雪娇,赵双清,李雅丽.非酒精性脂肪性肝病的流行病学及防治[J]. *中国临床保健杂志*, 2021, 24(6):742-746.

[5] WANG Y, YU H, YU M, et al. CD24 blockade as a novel strategy for cancer treatment[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121:110557.

[6] BARKAL A A, BREWER R E, MARKOVIC M, et al. CD24 signalling through macrophage Siglec-10 is a target for cancer immunotherapy[J]. *Nature*, 2019, 572(7769):392-396.

[7] XIONG H, TANG Z, XU Y, et al. CD19⁺ CD24^{high} CD27⁺ B cell and interleukin 35 as potential biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Adv Rheumatol*, 2022, 62(1):48.

[8] LIU Y, ZHENG P. CD24-Siglec interactions in inflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1174789.

[9] AMIN M A, RAGAB H M, ABD EL MAKSOUUD N, et al.

CD24 gene expression as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13(5):984.

[10] 李琦,李娇,陈雅芳,等. TyG 和 TyG-BMI 与冠心病患者颈动脉粥样硬化的相关性[J]. *心脏杂志*, 2024, 36(3):277-282.

[11] MUHAMMAD I F, BAO X, NILSSON P M, et al. Triglyceride-glucose (TyG) index is a predictor of arterial stiffness, incidence of diabetes, cardiovascular disease, and all-cause and cardiovascular mortality: a longitudinal two-cohort analysis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9(7):103-105.

[12] ZHANG C H, ZHOU B G, SHENG J Q, et al. Molecular mechanisms of hepatic insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease and potential treatment strategies[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 159:104984.

[13] 中华医学会肝病学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):177-186.

[14] ESTES C, CHANH L Y, CHIEN R N, et al. Modelling NAFLD disease burden in four Asian regions: 2019-2030[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 51(8):801-811.

[15] SMITH N C, FAIRBRIDGE N A, PALLEGAR N K, et al. Dynamic upregulation of CD24 in pre-adipocytes promotes adipogenesis[J]. *Adipocyte*, 2015, 4:89-100.

[16] MA Y, ZHANG Y, ZHU L. Role of neutrophils in acute viral infection[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(4):1186-1196.

[17] PARLATO M, SOUZA-FONSECA-GUIMARAES F, PH-ILIPPART F, et al. CD24-triggered caspase-dependent apoptosis via mitochondrial membrane depolarization and reactive oxygen species production of human neutrophils is impaired in sepsis[J]. *J Immunol*, 2014, 192(5):2449-2459.

[18] 朱书霞,孙旭彤,孔玲玲,等.非酒精性脂肪性肝病患者血清 IL-32、IL-6 与 TNF- α 的水平及意义[J]. *精准医学杂志*, 2023, 38(3):228-231.

[19] 邹辉鑫.非酒精性肝病患者血清中 G-CSF、sTREM1、TNF- α 水平和肠道菌群分布变化的关联性分析[J]. *实验与检验医学*, 2021, 39(6):1568-1572.

[20] CHEN G Y, CHEN X, KING S, et al. Amelioration of sepsis by inhibiting sialidase-mediated disruption of the CD24-SiglecG interaction[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(5):428-435.

[21] 罗伟刚,刘万虎,尹园园,等.甘油三酯-葡萄糖指数与缺血性脑卒中的研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2023, 40(12):1140-1144.