

临床血清学研究

DOI: 10.11699/cyxb20130518

HA、PⅢNP、LN、CIV 在慢性肝病及肝纤维化诊断中的
临床意义杜 伟¹, 单幼兰¹, 廖权利², 甘承文³, 郭海波³(1. 重庆医科大学附属第二医院肝病实验室, 重庆 400012; 2. 四川金域医学检验所, 成都 610000;
3. 重庆金域医学检验所, 重庆 400039)

【摘要】目的:观察肝硬化患者的透明质酸(hyaluronic acid, HA)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(type Ⅲ procollagen amino peptide, PⅢNP)、层黏蛋白(laminin, LN)及Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, CIV)血清水平变化,探讨其变化与肝纤维化及纤维化程度的关系。**方法:**对 2011 年 1 月至 2012 年 9 月送检至我中心的 204 例肝病患者血清标本进行分析。204 例肝病患者中,男 124 例,女 80 例,年龄 26~67 岁,平均年龄 48 岁;慢性肝炎轻度 44 例,中度 50 例,重度 31 例,肝炎后肝硬化 79 例。正常对照组 46 例,男 25 例,女 21 例,年龄 22~52 岁,平均年龄 38 岁,为我中心健康工作人员及健康体检者,无肝胆疾病史。用 γ 放射免疫计数器进行检测 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平。分析肝病各组与正常对照组的差异和各组间的水平变化。**结果:**肝病各组血清中 HA、PⅢNP、LN、CIV 含量与正常对照组比较均有升高,差异有统计学意义($P<0.01$);且随病情发展而逐渐升高,以 HA 升高最为明显。**结论:**通过对肝炎病患者和肝硬化患者血清中 HA、PⅢNP、LN 及 CIV 水平进行监测,可以观察病患者的肝纤维化及纤维化程度,并将此作为病人治疗后疗效观察的指标之一。

【关键词】肝纤维化;慢性肝炎;透明质酸;Ⅲ型前胶原氨基端肽;层黏蛋白;Ⅳ型胶原

【中国图书分类法分类号】R575.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-11-13

作者简介:杜 伟,Email:1360778347@qq.com,

研究方向:免疫学及分子生物学。

通信作者:单幼兰,Email:228770220@qq.com。

情严重程度及预后可能有较大的临床应用价值,值得进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Bruno C M, Sciacca C, Cilio D, et al. Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(29): 4566-4569.
- [2] Ohnishi A, Miyake Y, Matsushita H, et al. Serum levels of soluble adhesion molecules as prognostic factors for acute liver failure[J]. Digestion, 2012, 86(2): 122-128.
- [3] Fotis L, Giannakopoulos D, Stamogiannou L, et al. Intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children. do they play a role in the progression of atherosclerosis[J]. Hormones (Athens), 2012, 11(2): 140-146.
- [4] Douds A C, Lim A G, Jazrawi R P, et al. Serum intercellular adhesion molecule-1 in alcoholic liver disease and its relationship with histological disease severity[J]. J Hepatol, 1997, 26(2): 280-286.
- [5] Helaly G F, Abou Shamaa L A. Influence of hepatitis C virus infection on circulating levels of sICAM-1 and VEGF in patients with hepatitis C and hepatocellular carcinoma(HCC) and their role in enhancing detection of HCC[J]. Egypt J Immunol, 2006, 13(1): 27-38.
- [6] Sawires H K, Mohamed W A, Schaalan M F. High-flux and low-flux

dialysis membranes and levels of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children with chronic kidney failure[J]. Iran J Kidney Dis, 2012, 6(5): 366-372.

[7] 武寿荣. 肝硬化患者血清细胞间黏附分子-1 和肿瘤坏死因子- α 检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 489-490.

Wu S R. Clinical significances of serum ICAM-1 and TNF- α in patients with cirrhosis[J]. Int J Lab Med, 2012, 33(4): 489-490.

[8] Aslanidis S, Vassiliadis T, Pyrasopoulou A, et al. Inhibition of TNF alpha does not induce viral reactivation in patients with chronic hepatitis C infection; two cases[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(2): 261-264.

[9] Nie Z, Fryer A D, Jacoby D B. β 2-Agonists inhibit TNF- α -induced ICAM-1 expression in human airway parasympathetic neurons[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44780.

[10] Melotti P, Nicolis E, Tamanini A, et al. Activation of NF- κ B mediates ICAM-1 induction in respiratory cells exposed to an adenovirus-derived vector[J]. Gene Ther, 2001, 8(18): 1436-1442.

[11] Mirza A, Liu S L, Frizell E, et al. A role for tissue transglutaminase in hepatic injury and fibrogenesis, and its regulation by NF- κ B[J]. Am J Physiol, 1997, 272(2 Pt 1): G281-288.

[12] Yoshizaki A, Yanaba K, Iwata Y, et al. Cell adhesion molecules regulate fibrotic process via Th1/Th2/Th17 cell balance in a bleomycin-induced scleroderma model[J]. J Immunol, 2010, 185(4): 2502-2515.

(责任编辑: 关蕊良)

Clinical significances of HA, PⅢNP, LN and CⅣ in the diagnosis of chronic liver disease and liver fibrosis

DU Wei¹, SAN Youlan¹, LIAO Quanli², GAN Chengwen³, GUO Haibo³

(1. Department of Hepatopathy Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Kingmed Clinical Trial Service Center of Sichuan; 3. Kingmed Clinical Trial Service Center of Chongqing)

【Abstract】Objective: To observe changes in levels of serum hyaluronic acid(HA), type Ⅲ procollagen amino peptide(PⅢNP), laminin (LN) and collagen Ⅳ(CⅣ) in patients with liver cirrhosis and to explore the relationship between changes of above indexes and degrees of liver fibrosis. **Methods:** Blood samples of 204 patients with liver disease were collected in our center from January 2011 to September 2012. The 204 patients(experimental group) included 124 males and 80 females, aged from 26 to 67, 48 in average; 44 patients with mild chronic hepatitis, 50 with moderate chronic hepatitis, 31 with severe chronic hepatitis and 79 with posthepatic cirrhosis. Forty-six health controls from staffs and physical examination persons in our center were enrolled as normal control group, including 25 males and 21 females, aged from 22 to 52, 38 in average. Levels of HA, PⅢNP, LN and CⅣ were detected by γ -radiation immunity counter. Differences in levels of the indexes between each experimental group and normal control group were analyzed. **Results:** Levels of HA, PⅢNP, LN and CⅣ were elevated in each experimental group than in normal control group, with statistically significant differences($P<0.01$). Moreover, these indexes were increased gradually followed by the development of disease and the increase of HA levels was the most obvious. **Conclusions:** Serum levels of HA, PⅢNP, LN and CⅣ in patients could be used to indicate the occurrence of liver fibrosis and the degree of fibrosis and could also be used as one of the prognostic indicators after treatment.

【Key words】 liver fibrosis; hyaluronic acid; type Ⅲ procollagen amino peptide; laminin; collagen Ⅳ

我国是一个肝病高发地区,几乎任何造成慢性肝损害的病因都可导致肝纤维化,肝纤维化是慢性肝炎发展为肝硬变的必经阶段,新观点明确认为肝纤维化甚至肝硬化可逆转^[1],如能阻断、减轻乃至逆转肝纤维化,就能在很大程度上改善肝病的预后。因此,早期诊断肝纤维化显得尤为重要。

目前判断肝脏炎症和纤维化程度的诊断是肝穿刺病理组织学检查,但由于其创伤性、患者难以接受且需多次穿刺、取材部位及取样量存在局限性而不利于动态观察^[2];而 B 超对早期肝纤维化不够敏感,对于肝纤维化的诊断不能量化;CT、MRI 的检查费用又较为昂贵。因此简便易行的血清学指标在肝纤维化的诊断及观察其演变中具有较高的临床应用价值^[3]。本文通过回顾性分析 204 例肝炎、肝硬化患者透明质酸(hyaluronic acid, HA)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(type Ⅲ procollagen amino peptide, PⅢNP)、层黏蛋白(laminin, LN)及Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, CⅣ)在血清中的水平,探讨其与诊断肝纤维化及纤维化程度的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象

正常对照组 46 例,男 25 例,女 21 例,年龄 22~52 岁,平

均年龄 38 岁,为重庆金域医学检验所健康工作人员及健康体检者,无肝胆疾病史。实验组 204 例,男 124 例,女 80 例,年龄 26~67 岁,平均年龄 48 岁,为 2011 年 1 月至 2012 年 9 月送至重庆金域医学检验所检测血清标本的肝病患者;按 2003 年肝病协会审议修订标准分为:慢性肝炎 125 例(慢性肝炎轻度组 44 例,中度组 50 例,重度组 31 例),肝炎后肝硬化 79 例(肝炎后肝硬化组)。慢性肝炎的纤维化程度根据 2006 年第八次全国传染病寄生虫学术会议分为 0~4 期。

1.2 检测仪器

GC-2016 γ 放射免疫计数器进行检测分析,由科大创新股份有限公司中佳分公司提供。HA、PⅢNP、LN、CⅣ试剂盒由北京北方生物技术研究所提供

1.3 实验方法

受试者均清晨空腹采血,不能当日测定的标本经分离血清-20℃保存,4 d 内测定。

1.4 统计学处理

数据录入采用 EXCEL 表格,统计处理采用 SPSS 13.0 统计软件。对满足正态方差齐条件的连续变量(年龄)采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,单因素方差分析进行统计分析,若总体分布有差异则采用 LSD- t 检验进一步进行两两比较;对分类变量(性别)采用 χ^2 检验;对非正态分布的其他连续变量采用中位数、四分位数间距 $M(Q_1, Q_3)$ 描述,采用秩和检验对多组间指标分布情况进行分析,差异有统计学意义,则进一步用 Bonferroni 法两两比较平均秩和,检验水准 α 校正为 0.05/10=0.005。

2 结 果

2.1 均衡性比较

各组间性别($\chi^2=1.811$, $P=0.77$)分布及平均年龄($F=2.41$, $P=0.054$)差异无统计学意义,基本情况分布均衡。

2.2 各组血清中 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平比较

实验组各组血清中 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平与正常对照组比较均有升高,差异有统计学意义($P<0.01$)(表 1)。

2.3 各组血清 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平比较

各组以及正常对照组比较,各项指标在 5 组间总体分布有差异(HA: $\chi^2=103.4$, $P<0.001$; PⅢNP: $\chi^2=75.797$, $P<0.001$; LN: $\chi^2=60.227$, $P<0.001$; CIV: $\chi^2=60.673$, $P<0.001$)。慢性肝炎轻度组和慢性肝炎中度组与肝炎后肝硬变组比较,血清中 HA、LN、CIV 水平差异有统计学意义;慢性肝炎中度组与肝炎后肝硬变组比较, PⅢNP 水平差异无统计学意义;慢性肝炎重度组与肝炎后肝硬变组比较各项指标差异无统计学意义(表 2)。

3 讨 论

据统计,目前我国乙肝病毒携带者 1.2 亿,慢性乙肝患者 3 500 万,加上慢性丙肝、脂肪肝、免疫性肝病等,构成了庞大的潜在肝纤维化患者群。各种

原因导致的肝纤维化,表现为肝内结缔组织增生与降解失衡,合成及分泌大量的细胞外基质在肝内大量沉积,逐步形成肝硬化甚至癌变,有很高的致死性^[3-4]。而早期的纤维化是可以逆转的^[1],而临床上病理诊断成为判断肝纤维化的金标准,但是病人的损伤和痛苦会局限临床应用,所以人们一直不断探索肝纤维的血清指标变化与肝纤维的关系,以期发现病人的肝纤维化早期异动同时也能为病人减轻痛苦。

本研究对 204 例已明确分期的肝病患者进行了肝纤维 4 项指标的检测,可以看出 HA、PⅢNP、LN、CIV 作为肝纤维化的血清标志物,在肝纤维化进程各个阶段血清中的含量与正常对照组比较,差异均有统计学意义;HA 反映肝纤维化的进程较为敏感;PⅢNP 反映早期肝纤维化;而从重度到肝硬变各项指标变化差异无统计学意义,可能是由于在重度和肝硬化时期,机体的肝细胞损伤过多,产生的肝纤维化 4 项指标的水平达到峰值或动态平衡;也可能是例数不够多没有发现差异,与有的文献报道肝炎后肝硬变组相比慢性肝炎重度组仍有明显增高不符^[5],与有的文献一致^[6],有待进一步研究。

本文研究结果中发现慢性肝炎轻度组、中度组、

表 1 实验组各组血清中 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平与正常对照组比较

Tab.1 Comparison of serum levels of HA, PⅢNP, LN, CIV between different experimental groups and normal control group

组别	例数 (n)	HA (ng/ml)			PⅢNP (μg/L)			LN (ng/ml)			CIV (ng/ml)		
		M	Q ₁	Q ₃	M	Q ₁	Q ₃	M	Q ₁	Q ₃	M	Q ₁	Q ₃
正常对照组	46	26.32	20.19	57.88	72.04	61.22	96.25	110.52	105.29	115.93	60.38	48.10	72.68
慢性肝炎轻度组	44	116.58	95.68	193.53	152.21	109.43	195.02	129.04	124.94	140.64	88.00	61.26	116.35
慢性肝炎中度组	50	453.28	273.83	569.29	253.30	203.08	309.36	149.17	137.94	158.19	96.59	79.28	127.39
慢性肝炎重度组	31	842.23	697.72	894.53	295.32	225.19	477.86	153.68	149.75	178.60	163.49	84.88	228.82
肝炎后肝硬变组	79	841.25	806.08	867.48	271.38	226.85	418.48	178.24	142.12	242.83	158.24	117.52	220.70

表 2 实验各组血清 HA、PⅢNP、LN、CIV 含量比较

Tab.2 Comparison of serum levels of HA, PⅢNP, LN, CIV between different experimental groups

比较组	HA		PⅢNP		LN		CIV	
	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值
慢性肝炎轻度组 vs. 正常对照组	-5.440	<0.001	-5.111	<0.001	-4.382	<0.001	-3.113	0.0018
慢性肝炎中度组 vs. 正常对照组	-5.933	<0.001	-5.933	<0.001	-5.314	<0.001	-4.468	<0.001
慢性肝炎重度组 vs. 正常对照组	-4.796	<0.001	-4.796	<0.001	-4.726	<0.001	-4.223	<0.001
肝炎后肝硬变组 vs. 正常对照组	-6.469	<0.001	-6.469	<0.001	-5.580	<0.001	-6.439	<0.001
慢性肝炎中度组 vs. 慢性肝炎轻度组	-4.929	<0.001	-4.113	<0.001	-3.606	<0.001	-1.301	0.1930
慢性肝炎中度组 vs. 慢性肝炎重度组	-4.542	<0.001	-1.428	0.153	-1.687	0.092	-1.979	0.0480
慢性肝炎重度组 vs. 慢性肝炎轻度组	-4.715	<0.001	-3.930	<0.001	-3.817	<0.001	-2.395	0.0160
慢性肝炎轻度组 vs. 肝炎后肝硬变组	-6.286	<0.001	-5.250	<0.001	-4.004	<0.001	-4.684	<0.001
慢性肝炎中度组 vs. 肝炎后肝硬变组	-6.608	<0.001	-1.916	0.055	-2.992	0.003	-4.054	<0.001
慢性肝炎重度组 vs. 肝炎后肝硬变组	-0.023	0.981	-0.279	0.780	-1.093	0.275	-0.697	0.4850

重度组血清 HA 含量增高两两比较均有显著性差异,说明在肝纤维化进程中 HA 含量变化最为灵敏。与文献报道 HA 是现有血清肝纤维化指标中最有临床价值的指标一致,文献也无争议^[7-8]。

PⅢNP 是Ⅲ型胶原的前体,主要在活化的肝星状细胞内合成并释放,能反映Ⅲ型胶原的合成代谢及肝纤维化的程度,其在纤维化早期即可增高。本研究结果显示慢性肝炎轻度组 PⅢNP 含量分别和中度、重度、肝炎后肝硬变组具有显著性差异,而且和正常对照组也有显著性差异;但是中度组和重度组、肝硬变组差异无统计学意义,可以认为病人的血清 PⅢNP 水平出现异常增高提示有早期肝纤维的信号^[9]。

LN 是一种非胶原结构糖蛋白,分布于基底膜的透明层,与 CⅣ一起参与基底膜的形成与发展,在肝硬化中起重要作用,可作为肝纤维增生的指标之一。从表 2 比较结果可以看出,肝炎后肝硬变组中 LN 含量变化分别与慢性肝炎轻度组、中度组均有显著性差异,而且中度组和轻度组之间也有显著性差异,故相较于其他 3 项指标,LN 可作为晚期肝纤维化和肝硬化较灵敏的指标^[10-11]。

本文研究结果显示,CⅣ在表达肝纤维化程度上没有前 3 个指标灵敏。肝炎后肝硬变组与慢性肝炎轻度组、中度组 CⅣ含量差异有统计学意义;中度组与轻度组差异也有统计学意义;重度组和中度组差异无统计学意义;说明 CⅣ是反映肝纤维化活动程度的较为良好指标,能在一定程度上反映肝纤维化的程度^[12]。

综上所述,HA、PⅢNP、LN、CⅣ在慢性肝病的不同时期均有不同的表现,以 HA 含量在肝纤维化早期进程中变化最为灵敏;PⅢNP 与早期肝纤维化信号有关;LN 可作为晚期肝纤维化和肝硬化较灵敏的指标。故联合检测血清肝纤维化指标可对观察肝纤维化的病情演变及判断疗效有一定的临床意义,本研究有待于病例数的进一步扩大和探索与其他血清学指标的关系。

参 考 文 献

[1] Schiff E R, Lee S S, Chao Y C, et al. Long-term treatment with entecavir induces reversal of advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(3): 274–

276.

[2] 陆伦根. 肝纤维化的诊断和评估[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(8): 603–604.

Lu L G. Diagnosis and evaluation of hepatic fibrosis[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2005, 13(8): 603–604.

[3] Friedman S L. Mac the knife? macrophages—the double-edged sword of hepatic fibrosis[J]. J Chin Invest, 2005, 115(1): 29–32.

[4] Tsukada S, Parsons C J, Rippe R A. Mechanisms of liver fibrosis[J]. Clin Chim Acta, 2006, 364(1–2): 33–60.

[5] 李晓虹, 杨蒲芳, 戚红霞, 等. 血清 TGF-β1 及 VEGF 在慢性乙型肝炎肝硬化患者的临床变化及其意义[J]. 临床消化病杂志, 2011, 23(3): 144–145.

Li X H, Yang P F, Qi H X, et al. Changes and significance of serum TGF-β1, VEGF in patients with chronic hepatitis B, liver fibrosis and liver cirrhosis[J]. Chinese Journal of Clinical Gastroenterology, 2011, 23(3): 144–145.

[6] 张妍琴, 唐银江, 王御琚. 慢性肝炎肝纤维化四项与 ALT、AST 的相关性研究[J]. 中国现代养生, 2011, 4(24): 135–136.

Zhang Y Q, Tang Y J, Wang S J. Relationship of the four indices and ALT, AST in liver fibrosis[J]. Chinese Journal of Modern Health, 2011, 4(24): 135–136.

[7] Cales P, Oberti F, Miehiaik S, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis[J]. Hepatology, 2005, 42(6): 1373–1381.

[8] Zeng M D, Lu L G, Ma Y M, et al. Prediction of significant fibrosis in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis by anon-invasive model[J]. Hepatology, 2005, 42(14): 37–45.

[9] 彭捷, 冯菲, 潘桂霞, 等. 血清学指标在兔肝纤维化模型中的实验研究[J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(5): 321–324.

Pen J, Fen F, Pan G X, et al. Experimental study on fibrosis biomarkers in hepatic fibrosis rabbit model[J]. J Shanxi Med Univ, 2012, 43(5): 321–324.

[10] 赵洪昌. 慢性乙肝患者血清学标志物与肝纤维化的关系[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(12): 2021–2022.

Zhao H C. Relationship between serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2010, 14(12): 2021–2022.

[11] 胡兴荣. 血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(14): 1501–1503.

Hu X R. Correlation between serum fibrosis markers and the degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2010, 18(14): 1501–1503.

[12] 陈保国, 王静, 李昌明. 血清 HA、PCⅢ、CⅣ和 LN 联检在慢性乙肝中的价值[J]. 中国医学工程, 2010, 18(2): 84–86.

Chen B G, Wang J, Li C M. Value of serum level of HA, PCⅢ, CⅣ and LN in the diagnosis of chronic hepatitis B[J]. China Medical Engineering, 2010, 18(2): 84–86.

(责任编辑: 唐秋姗)