

临床研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.019

联合非创伤性检查评估肝纤维化的临床研究

古 赛¹, 黄妙兴²

(1. 重庆医科大学附属第一医院消化内科, 重庆 400016; 2. 东莞市人民医院临床功能科, 广东 523059)

【摘要】目的:建立适合临床推广的联合非创伤性评估非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)肝纤维化程度的方法和评估体系。**方法:**104 例非酒精性脂肪性肝纤维化患者行病理分期,并测定肝纤维化相关标志物、金属蛋白酶 1 组织抑制剂(tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1),B 超及 MR 扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)。**结果:**B 超与肝脏纤维化病理分级的相关系数为 0.56,呈中等程度正相关,联合 DWI、肝纤维化相关标志物及 TIMP-1 的非创伤性评估方法有高达 84.69% 正判率。**结论:**该联合评估方法是目前可操作性和可重复性好,值得推广的肝纤维化临床诊断方法之一。

【关键词】非酒精性脂肪性肝病;肝纤维化;B 超;扩散加权成像;评估

【中国图书分类法分类号】R285.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-01-07

Evaluation on hepatic fibrosis by joint non-invasive method

GU Sai¹, HUANG Miaoxing²

(1. Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Clinical Functions, Dongguan People's Hospital)

【Abstract】Objective:To establish a joint non-invasive clinical method and system to assess and evaluate the severity of hepatic fibrosis of patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods:**Totally 104 patients with non-alcoholic fatty hepatic fibrosis were divided according to different histopathological stages. Hepatic fibrosis relation indexes, tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1), hepatic B ultrasonod and liver diffusion weighted imaging (DWI) were detected. **Results:**There were considerable correlations between hepatic ultrasonod and liver fibrosis grading, with a correlation coefficient of 0.56. Joint non-invasive method combining DWI, liver fibrosis markers and TIMP-1 corrected 84.69% of all trials. **Conclusions:**This joint non-invasive assessment method is practical and repeatable and is recommended to be a clinical method for diagnosing liver fibrosis.

【Key words】non-alcoholic fatty liver disease; hepatic fibrosis; B-ultrasonod; diffusion weighted imaging; estimation

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝细胞脂肪变性和脂肪蓄积为病理特征,但无过量饮酒史的临床综合征,包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎、脂肪性肝纤维化和肝硬化。该病平均累及世界人口的 10%~24%,在中国也已高达 15.35%^[1]。由于本病发病率高,危害极大,尤其是进展性肝纤维化是 NAFLD 患者发生肝硬化和肝癌的独立危险因素^[2],现已公认,肝纤维化是可逆性的病变,而肝硬化则难以逆转^[3],因此,早期评估肝纤维化程度,防治其进展尤为重要。

长期以来,肝纤维化程度主要靠肝穿刺活检病理分期,因其具有创伤性,不同个体所带来的肝脏标本的采样误差以及难以重复穿刺采样而限制了

在临床的广泛应用,为此,寻找易推广的非创伤性方法诊断和评估肝纤维化程度十分必要。由于目前对肝纤维化的非创伤性诊断尚未与组织学分期之间建立一个等价体系,不足以确切划分肝纤维化程度,尤其是 S₁~S₃ 期肝纤维化,仍有许多非创伤性评估肝纤维化程度的工作需要开展^[4]。高频超声诊断肝纤维化的研究已较为成熟,但对早期的纤维化程度判定仍十分局限^[5],而近来研究表明,MR 扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)能够在微观分子水平上反映肝纤维化的情况,能对肝纤维化形态学明显改变之前分子水平的结构变化、代谢和功能改变进行评估^[6-7],研究显示,随肝纤维化分期的进展,肝纤维化程度的加重,肝组织内水分子运动受限、弥散减低,表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值递减,具有定量肝纤维化严重程度的能力^[8-9]。本研究针对肝穿刺活检证实为肝纤维

作者介绍:古 赛,Email:saigu20042004@yahoo.com.cn,

研究方向:脂肪性肝病,胃肠动力。

基金项目:重庆市卫生局资助项目(编号:2008-2-26)。

化 $S_1 \sim S_3$ 期的患者,检测肝纤维化相关标志物:透明质酸(serum hyaluronic acid, HA)、Ⅲ型前胶原肽(amino-terminal propeptide of type Ⅲ collagen, PC Ⅲ)、Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, C Ⅳ)、层黏蛋白(laminin, LN)、金属蛋白酶 1 组织抑制剂(tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1),并进行无创高频超声和 DWI 检测,与肝脏病理学分期相对照,评估上述联合非创伤性检查的实际临床预测价值。

1 材料与方法

1.1 对象

参照 2006 年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学会会议制定的非酒精性肝病诊断标准^[10],排除了酒精性肝病、病毒性肝病、药物与中毒性肝病、先天性代谢性肝病以及自身免疫性肝病。选择 2008 年 7 月~2009 年 10 月我院住院及门诊 NAFLD 患者,经肝脏穿刺活检证实为肝纤维化 $S_1 \sim S_3$ 期的 104 例患者(年龄 30~59 岁,男 72 例,女 32 例)作为本实验的研究对象(本试验排除了 S_0 和 S_4 期患者,未同意做肝脏病理活检的 NAFLD 患者未包括在本实验中)。

1.2 方法

1.2.1 检测方法及指标 清晨空腹抽静脉血 5 ml,分离血清,放射免疫法检测肝纤维化相关标志物。

参考文献[11]方法进行肝穿刺活检,采用 2000 年全国病毒性肝炎防治方案中的肝纤维化分期标准,由指定有经验的病理学教授阅片。

参考文献[12]方法,将肝脏 B 超检测分为 4 个项目:肝脏包膜、肝实质回声、肝内血管走行,门静脉主干血流期相性。将检查结果按如下标准进行肝纤维化程度分 5 级:Ⅰ级:肝包膜光滑,肝实质回声细小或略粗,分布均匀,肝内血管走行清晰,门静脉主干血流期相性良好;Ⅱ级:肝包膜光滑,肝实质回声增粗增密,分布尚均匀,肝内血管走行尚清晰,门静脉主干血流期相性良好;Ⅲ级:肝包膜欠光滑,肝实质回声增粗增密,分布不均匀,肝内血管走行欠清晰,门静脉主干血流期相性减弱;Ⅳ级:肝包膜毛糙,肝实质回声粗糙,分布不均匀,肝内血管走行不清晰,门静脉主干血流期相性低平;Ⅴ级:肝包膜毛糙不平或锯齿状,肝实质回声粗糙,分布不均匀或结节状,肝内血管狭窄走行不清晰,门静脉主干血流期相性消失呈带状。

MR DWI 检测肝脏 ADC 的方法:采用 Signa HDxt 3.0 T 磁共振扫描仪体部线圈, DWI, SE T_2 WI(f/s), FSPGR T_1 , DWI: TR 2 000~5 000 ms, TE:58~65 ms, 层厚:6.0 mm, 间距:2.0 mm。视野(FOV)37.0 cm, 翻转角 90°, 激励次数(NEX)1, 矩阵(256~320)×(192~224), FATSAT 去除化学位移伪影, 1 次激励, 选用 b 值为 600 s/mm²。扫描时于肝脏上方及下方各加 1 个饱和带,以消除肺部气体、胃肠道气体及心脏搏动、胃肠蠕动对图像质量的影响,在 X、Y、Z 轴 3 个方向平均后形成的横断面 ADC 图上测定 ADC 值。选取肝门包括肝脏左右叶层

面,兴趣区(regions of interest, ROI)分别置于肝右叶和左叶,圆形,直径一致,约 1 cm,测量 3 次取平均值,采用 ROI 复制方法以保持测量部位及 ROI 大小一致,分别测量 b 值为 600 s/mm² 时肝脏 ADC 值。

1.2.2 仪器及试剂 肝纤维化相关标志物试剂盒购于北京北方生物技术研究所,采用放射免疫法检测,仪器为 DFM-96 型多管放射免疫计数器。B 超为 GE-logic。MR DWI 采用 Signa HDxt 3.0T 磁共振扫描仪。

1.3 统计学方法

所有数据采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,各项检测指标间的相关性采用等级相关分析、方差分析及两两比较的 SNK 法,并建立判别函数,行判别分析。

2 结果

2.1 肝脏病理切片 HE 染色

$S_1 \sim S_3$ 期见图 1~3。

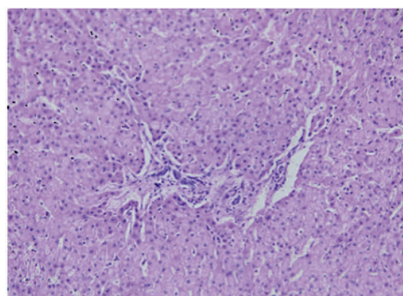


图 1 肝脏病理 S_1 期 (HE, 400 ×)

Fig.1 Liver biopsy at pathological S_1 stage (HE, 400 ×)

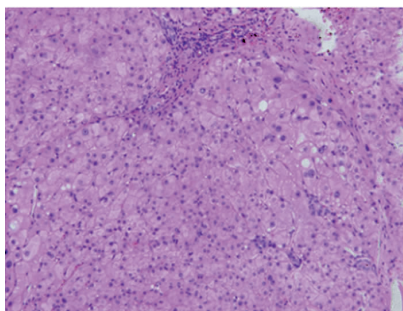


图 2 肝脏病理 S_2 期 (HE, 400 ×)

Fig.2 Liver biopsy at pathological S_2 stage (HE, 400 ×)

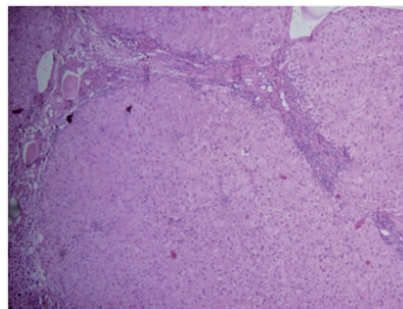


图 3 肝脏病理 S_3 期 (HE, 400 ×)

Fig.3 Liver biopsy at pathological S_3 stage (HE, 400 ×)

2.2 肝脏病理分期与 B 超影像分级间关系

内容详见表 1 (共 104 例)。

表 1 肝脏 B 超影像与肝脏病理分期的关系 (n)

Tab.1 Correlation between liver B-ultrasound and liver pathological stage (n)

病理分期 (期)	例数	肝脏 B 超各级人数 (n)				
		I 级	II 级	III 级	IV 级	V 级
S ₁	25	4	15	5	1	0
S ₂	51	2	9	23	15	2
S ₃	28	1	2	5	17	3

注:秩相关系数 $r_s=0.56$, $P<0.0001$, 病理分期与肝脏 B 超影像分级结果之间的秩相关系数为 0.56, 表明病理分期越高, 则肝脏 B 超影像分级越大, 两者呈中等强度的正相关

2.3 肝纤维化相关标志物、TIMP-1、DWI-ADC 的检测与肝脏病理分期关系

见表 2 (共 104 例)。

2.4 肝脏各纤维化期的 DWI-ADC 值

见图 4。

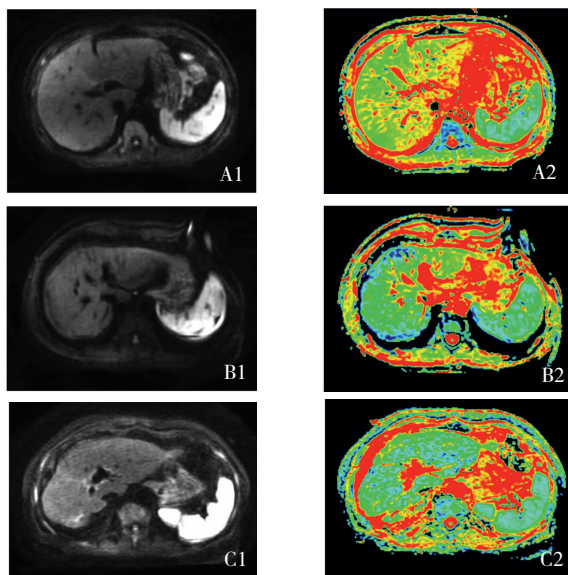


图 A1、A2 为 S₀ 期正常肝 DWI 图, 肝脏 ADC 值为 $1.52134 (\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$; 图 B1、B2 为 S₂ 期肝纤维化 DWI 图, 肝脏 ADC 值 $1.42789 (\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$; 图 C1、C2 为 S₃ 期肝纤维化 DWI 图, 肝脏 ADC 值为 $1.30545 (\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$

图 4 肝脏各纤维化期的 DWI-ADC 图

Fig.4 DWI-ADC values of liver fibrosis at each stage

3 讨论

肝纤维化在国际疾病分类中可作为一种病名, 但主要是一种组织病理学概念。为此, 国内外相应建立了病理诊断的组织学分期标准, 并将之作为判别肝纤维化程度的金标准。随着抗肝纤维化药物等治疗的不断发展, 需要对患者密切监测肝纤维化的进展情况来判断治疗的成败, 而创伤性监测方法则显示出临床的极大局限性, 因此, 近来国内外的学者不断探索完善一些非创伤性的评估手段, 建立非创伤性评定系统, 包括病原学、临床评估、纤维化血清标志物、相关肝功能、免疫学指标及影像学评估等。上海肝纤维化协作组的研究结果表明, 非创伤性多项指标的优势组合对诊断和预后评判有重要参考价值^[13]。

超声检查肝纤维化可有许多参数, 不同研究者重视不同的参数, 超声检查单项指标的敏感度和特异性有限, 而综合 2、3 种定量和定性指标分析, 诊断效果较好^[14-15]。本研究将肝脏 B 超检测按 4 个项目 (包括肝脏包膜、肝实质回声、肝内血管走行、门静脉主干血流期相性) 分级统计, 其结果显示病理分期越高, 则肝脏 B 超影像分级越大, 呈中等强度的正相关关系, 表明用超声测定这 4 项指标综合分析, 对判断肝纤维化的程度有较高的实用价值。

本研究通过对不同肝纤维化分期时 ADC 值变化发现, 随肝纤维化分期的进展, ADC 值递减, 说明随着肝纤维化的出现及程度增加, 肝组织内水分子运动受限、弥散减低, ADC 值具有定量肝纤维化程度的能力, 这与病理组织学上表现出来的肝胶原纤维和网状纤维的不断增多、肝窦毛细血管化逐渐形成等变化是密切相关的。从本研究的结果来看, $b=600 \text{ s}/\text{mm}^2$ 时可以将轻、中、重度纤维化 (S₁~S₃ 期) 鉴别出来, 这一点对于肝纤维化的治疗和预后相当重

表 2 肝纤维化相关标志物、TIMP-1、ADC 检测与肝脏病理分期关系 ($n, \bar{x} \pm s$)Tab.2 Correlations among liver fibrosis indicator, TIMP-1, ADC detector and liver pathological stage ($n, \bar{x} \pm s$)

病理分期	人数 (n)	HA ($\mu\text{g/L}$)	LN (mg/L)	PC III (mg/L)	CIV (mg/L)	TIMP-1 (ng/ml)	DWI-ADC ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)
S ₁	25	138.68 ± 22.01	99.98 ± 15.22	127.81 ± 17.45	84.31 ± 8.18	128.57 ± 25.78	1.524 ± 64.68
S ₂	51	188.40 ± 24.60	120.64 ± 13.21	147.66 ± 11.04	93.03 ± 7.02	162.36 ± 8.42	1.434 ± 45.79
S ₃	28	255.32 ± 39.17	163.16 ± 33.45	203.67 ± 22.87	115.15 ± 11.37	267.78 ± 46.38	1.312 ± 85.53

注: 肝纤维化相关标志物、TIMP-1、ADC 检测指标与肝脏 3 个病理分期间均有显著性差异, 其中任一项两两比较差异均有统计学意义。即, 随着肝脏病理分期从 S₁ 到 S₃ 期, 肝纤维化相关标志物 4 项指标均显著升高, TIMP-1 也显著升高, ADC 则显著下降 (图 4)。建立判别函数, 并行函数的优劣评价, 回代法结果显示: 误判率 = 11.45%, 正判率 = 88.55%; 交叉验证法结果: 误判率 = 15.31%, 正判率 = 84.69%

要,表明通过 DWI 对纤维化进行定量诊断是可行的。

本研究在 DWI 监测基础上,再结合能不同程度反应肝纤维化程度的肝纤维化相关标志物、TIMP-1,作为联合非创伤性诊断标准进行评估,结果显示此联合监测的正判率可高达 84.69%。因此有理由期待,该联合评估方法将成为目前可操作性和可重复性较好,值得推广的肝纤维化临床诊断方法之一。

参 考 文 献

- [1] 荀运浩,施军平,胡晨波,等.血清 AST 水平与非酒精性脂肪性肝病的进行性肝纤维化有关[J].中华肝脏,2010,15(3):160-163.
- Xun Y H, Shi J P, Hu C B, et al. Aspartate aminotransferase level and its association with progressive fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease [J]. Chinese Hepatology, 2010, 15(3): 160-163.
- [2] Chitturi S, Farrell G C, Hashimoto E, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in the Asia Pacific region: definitions and overview of proposed guidelines[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22(6): 778-787.
- [3] Raszeja-Wyszomirska J, Lawniczak M, Marlicz W, et al. Non-alcoholic fatty liver disease—new view[J]. Pol Merkur Lekarski, 2008, 24(144): 568-571.
- [4] 陆伦根,曾民德.肝纤维化的非创伤性诊断和评估[J].中华肝脏病杂志,2008,16(3):165-168.
- Lu L G, Zeng M D. Evaluation of noninvasive diagnoses of hepatic fibrosis[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2008, 16(3): 165-168.
- [5] 孟繁坤,郑颖,丁蕾,等.高频超声检查与病理肝纤维化分期相关性的半定量研究[J].中国超声医学杂志,2007,23(11):846-848.
- Meng F K, Zheng Y, Ding L, et al. Correlation between high-frequency ultrasonography and staging of pathological liver fibrosis: a semi-quantitative study[J]. Chinese Journal of Ultrasound in Medicine, 2007, 23(11): 846-848.
- [6] Girometti R, Furlan A, Bazzocchi M, et al. Diffusion-weighted MRI in evaluating liver fibrosis: a feasibility study in cirrhotic patients[J]. Radiol med, 2007, 112(3): 394-408.
- [7] Taouli B, Tolia A J, Losada M, et al. Diffusion-weighted MRI for quantification of liver fibrosis: preliminary experience[J]. Am J Roentgenol, 2007, 189(4): 799-806.
- [8] Koinuma M, Ohashi I, Hanafusa K, et al. Apparent diffusion coefficient measurements with diffusion-weighted magnetic resonance imaging for evaluation of hepatic fibrosis[J]. J Magn Reson Imaging, 2005, 22(1): 80-85.
- [9] Lewin M, Poujol-Robert A, Boelle P Y, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C[J]. Hepatology, 2007, 46(3): 658-665.
- [10] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组.非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J].中华肝脏病杂志,2006,14(3):161-163.
- Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease Study Group of the Chinese Liver Disease Association. Guidelines for diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver diseases[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2006, 14(3): 161-163.
- [11] 中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.
- Chinese Society of Epidemiology and Parasitology, Hepatology. Program for prevention and treatment of viral hepatitis[J]. Chinese Journal of Infectious Disease, 2001, 19(1): 56-62.
- [12] 许春梅,韦海明,万里凯,等.二维超声与超声引导下肝穿刺活检在肝弥漫性病变诊断中的比较[J].微创医学,2008,3(4):353-354.
- Xu C M, Wei H M, Wan L K, et al. Contrast study on hepatic puncture biopsy guided by two-dimensional ultrasound and ultrasound in diagnosis of diffuse hepatocellular disease[J]. Journal of Minimally Invasive Medicine, 2008, 3(4): 353-354.
- [13] 曾民德,王泰龄,王宝恩.肝纤维化诊断和疗效评估共识[J].诊断学理论与实践,2002,1(3):191-192.
- Zeng M D, Wang T L, Wang B E. Common understanding of diagnosis and effect of hepatic fibrosis[J]. Journal of Diagnostics Concepts and Practice, 2002, 1(3): 191-192.
- [14] 陈永鹏,戴琳,冯筱榕,等.超声波检查对肝脏纤维化分期的诊断价值[J].中华肝脏病杂志,2002,10(2):132-134.
- Chen Y P, Dai L, Feng X R, et al. Diagnostic value of ultrasonic examination in patients with different stages of liver fibrosis[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2002, 10(2): 132-134.
- [15] Mallat A, Dhumeaux D. Assessment of hepatic fibrosis: what is the role of non-invasive markers in 2003? [J]. Gastroenterol Clin Biol, 2003, 27(4): 367-370.

(责任编辑:冉明会)