

血清 sFas 和 M30 对早期诊断慢性丙型肝炎患者肝纤维化的临床意义

黄祥丽(湖北省荆门市第一人民医院检验科 448000)

【摘要】 目的 分析慢性丙型肝炎(CHC)患者血清 sFas 和 M30 的变化,探讨其对 CHC 患者肝纤维早期诊断的临床意义。**方法** 纳入 75 例 CHC 患者(CHC 组)和 50 例健康对照者(健康对照组),通过 ELISA 方法测定血清 sFas 及 M30 水平,通过受试者工作曲线(ROC)分析其用于诊断早期肝纤维化的临床价值。**结果** CHC 组中血清 sFas 和 M30 均显著高于健康对照组($P < 0.001$);在肝纤维化程度不同的 CHC 患者组间比较中,血清 sFas 和 M30 差异具有统计学意义($P < 0.05$);sFas 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的曲线下面积(AUC)为 0.652,95%CI: 0.439~0.731, $P < 0.05$,当临界值为 15.38 ng/L 时,其诊断的灵敏度为 73.7%,特异度为 71.6%;血清 M30 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的 AUC 为 0.735,95%CI: 0.523~0.894, $P < 0.05$,临界值为 433.90 U/L 时,其诊断的灵敏度为 72.8%,特异度为 78.7%。**结论** 血清 sFas 与 M30 在 CHC 患者内均高表达,其中 M30 对于诊断早期肝纤维化具有较佳的指示价值。

【关键词】 丙型肝炎; 肝纤维化; 可溶性 Fas; 角蛋白 18; 早期诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.08.044 文章标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)08-1114-03

丙型肝炎一种由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的病毒性肝炎,主要经输血、针刺、吸毒等传播。丙型肝炎在全球范围内流行,全球约有 2 亿丙型肝炎患者,在我国 HCV 感染者约为 560 万例,新发人数逐年上升^[1]。据统计,约有 80% HCV 感染患者发展成为慢性丙型肝炎(CHC)^[2],其中 20%~30% 的患者发展成为肝硬化或者肝癌^[3]。由于我国人口基数大,HCV 感染群体庞大,如不采取相应的应对措施,不仅会使感染继续蔓延扩散,而且肝硬化、肝功能衰竭、肝癌等晚期并发症也将严重威胁患者生命安全,将成为社会医疗资源和经费的沉重负担^[4]。丙型肝炎发展成为肝硬化是一个逐渐肝纤维化的过程,对于丙型肝炎患者肝纤维化监测有助于了解肝病的进展状况,对预防及早诊断是否发展为肝硬化、原发性肝癌(HCC)及采取相应的治疗措施均具有重大的意义。尽管肝组织活检是评判肝纤维化的金标准,但由于其具有创伤性难以被患者接受,而血清学标志物因其具有无创、方便、快速的优点而备受青睐,成为体外诊断的发展热点。近年来有报道可溶性 Fas(sFas)和细胞角蛋白 18(CK18)片段 M30 在肝病患者血清中异常升高并与多种病毒型肝炎有关^[5],本文旨在考察 CHC 患者血清 sFas 和 M30 的变化,探讨其对 CHC 患者肝纤维早期诊断的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机纳入 2013 年 9 月至 2015 年 5 月于本院就诊的 CHC 患者共 75 例(CHC 组),CHC 诊断标准参照由中华医学会肝病学会和中华医学会传染病与寄生虫病学会联合制定的《中国丙型肝炎防治指南》,并排除以下患者:合并有其他类型肝炎病毒感染;患者前期已经过针对 HCV 的有关药物的治疗;长期饮酒或酒精肝的患者;伴有其他部位肿瘤。其中男性 46 例,女性 29 例,患者平均年龄为(43.82±8.62)岁。所有患者临床症状符合慢性肝炎症状,血清抗 HCV 抗体阳性,且经肝穿刺活检。另随机选取 50 例与 CHC 组年龄相仿、性别分布相同的健康志愿者作为健康对照组,两组间年龄、性别分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经过本院伦理委员会批准通过,且患者均签署知情同意书。

1.2 肝组织活检 肝活检操作在 B 超引导下进行穿刺,获取

不小于 1 cm 的肝组织,经中性福尔马林固定、脱水、石蜡包埋后连续切片,经苏木素-伊红(HE)染色和 Masson 三色染色。由 2 位不清楚患者病情的病理科医师在镜下判读染色结果,并根据中华医学会制定的标准^[6],将肝脏纤维化程度分为 S0~S4 级,有争议的标本不纳入本研究。

1.3 血清生化指标测定 研究对象于肝活检当天采空腹静脉血 5 mL,采用 Beckman Coulter 全自动生化仪对肝功能指标检测,检测项目包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)、谷氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ACP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)、总蛋白等;透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PⅢP)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)、层粘连蛋白(LN)等肝纤维化指标采用 ELISA 法测定;剩余血清样品转移至干净 EP 管,于-80℃超低温冰箱中保存,待收集一定批量时,采用固相夹心法 ELISA 检测 sFas 和 M30,试剂盒购自上海泛柯生物有限公司,操作按照说明书,每批实验均同时设立阳性对照和空白对照。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对所得数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间比较选用 t 检验;相关性分析采用 Pearson 相关分析,采用受试者工作曲线(ROC)分析血清 sFas 和 M30 用于诊断早期肝纤维化的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的肝功能指标资料 CHC 患者部分常规肝功能指标如表 1 所示,与健康人群相比,ALT、AST、胆红素均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.001$),而胆碱酯酶显著降低,差异有统计学意义($P < 0.001$);同时在 CHC 组中血清 sFas 和 M30 均显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。

2.2 不同肝纤维化程度的 CHC 患者的生化指标变化 将 75 例 CHC 患者肝活检结果分为 S0~S4 期,比较血清中肝纤维化四项指标及 sFas 和 M30 在不同肝纤维程度的 CHC 患者中的情况,见表 2。在肝纤维化程度不同的 CHC 患者组间比较中,血清 HA、sFas 和 M30 水平差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 血清 sFas 与部分生化指标的相关性分析 血清中 sFas

与肝功能指标 ALT、AST 呈正比,与肝纤维化指标 HA 和Ⅳ-C 呈正比,与其他指标无相关性,见表 3。

2.4 血清 M30 与部分生化指标的相关性分析 血清 M30 与肝功能指标 ALT、AST 呈正比,与清蛋白呈反比,与肝纤维化指标 HA、Ⅳ-C 和 LN 呈正比,与其他指标无相关性,见表 4。

2.5 血清 sFas 与 M30 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的可行性分析 通过 ROC 分析血清 sFas 与 M30 用于诊断早期肝纤维化(S1 期)的可行性,表 5。sFas 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的曲线下面积(AUC)为 0.652,95% CI:0.439~0.731, $P<0.05$,通过最佳切点值分析得到临界值为 15.38 ng/L 时,其诊断的灵敏度为 73.7%,特异度为 71.6%;血清 M30 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的 AUC 为 0.735,95% CI:0.523~0.894, $P<0.05$,临界值为 433.90 U/L 时,

其诊断的灵敏度为 72.8%,特异度为 78.7%。

表 1 CHC 组和健康对照组间部分肝功能指标的比较(±s)

肝功能指标	CHC 组($n=75$)	健康对照组($n=50$)	P
ALT(U/L)	65.72±23.10	18.64±8.82	<0.001
AST(U/L)	46.58±18.39	15.73±5.63	<0.001
胆红素(μ mol/L)	18.73±10.88	10.25±7.04	<0.001
清蛋白(g/L)	33.26±15.20	38.34±15.93	0.08
γ -GT(U/L)	30.53±11.82	28.02±8.17	0.24
胆碱酯酶(U/L)	5 619.22±2 089.95	7 829.38±2 289.74	<0.001
sFas(ng/L)	15.74±10.27	6.23±4.20	<0.001
M30(U/L)	534.93±382.05	112.43±93.93	<0.001

表 2 不同肝纤维化程度的 CHC 患者的生化指标的比较(±s)

肝纤维化分级	n	HA(ng/mL)	PⅢP(ng/mL)	Ⅳ-C(ng/mL)	LN(ng/mL)	sFas(ng/L)	M30(U/L)
S0	14	95.74±16.83	10.93±3.21	80.28±12.53	108.38±22.78	8.22±5.10	150.27±108.62
S1	20	118.93±19.82	15.39±3.80	110.95±20.53	120.78±29.03	11.83±6.83	282.85±130.74
S2	23	149.38±22.05	16.84±3.93	132.84±32.03	148.39±30.82	14.29±8.68	419.27±218.25
S3	14	218.42±30.84	18.37±4.12	159.28±62.72	158.92±41.20	21.83±9.07	578.72±310.94
S4	4	382.94±68.82	18.86±4.21	228.34±72.45	170.82±38.86	25.82±9.15	789.30±333.23
P		0.03	0.25	0.052	0.07	0.04	0.02

表 3 血清 sFas 与部分生化指标的相关性

项目	ALT	AST	γ -GT	胆红素	清蛋白	HA	PⅢP	Ⅳ-C	LN
r	0.32	0.25	0.19	0.28	-0.21	0.42	0.13	0.26	0.20
P	0.03	0.01	0.42	0.13	0.06	0.03	0.22	0.01	0.05

表 4 血清 M30 与部分生化指标的相关性

项目	ALT	AST	γ -GT	胆红素	清蛋白	HA	PⅢP	Ⅳ-C	LN
r	0.37	0.28	0.26	0.20	-0.13	0.49	0.18	0.25	0.25
P	0.02	0.02	0.37	0.10	0.046	0.01	0.11	0.01	0.02

表 5 血清 sFas 与 M30 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化(S1 期)

项目	AUC	95%CI	临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
sFas	0.652	0.439~0.731	15.38 ng/L	73.7	71.6
M30	0.735	0.523~0.894	433.90 U/L	72.8	78.7

3 讨 论

HCV 的感染会导致患者肝组织内弥漫性细胞外基质过度沉淀,即肝纤维化。肝纤维化是肝病发展为肝硬化的必经阶段,而其中有相当一部分人发展成肝癌。对肝纤维化程度及时监测有助于预测肝病发展趋势,预测预后,为临床治疗提供依据。目前我国临床上除肝组织活检外,常规肝纤维指标包括 HA、PⅢP、Ⅳ-C、LN 等也应用到诊断肝纤维化上,HA 在诊断早期肝纤维化具有一定的辅助价值,而 PⅢP、Ⅳ-C、LN 则对早期肝纤维化诊断价值并不突出^[7],亟需寻找新的标志物。近年来有研究报道了一些新型肝纤维化标志物,如 CK18、微小 RNA122(miR-122)和白细胞介素 18 等,给肝纤维化的早期诊

断提供了新思路。

Fas(又称 APO-1 或 CD95)是由 325 个氨基酸残基组成的 I 型跨膜糖蛋白,属于肿瘤坏死因子受体(TNFR)和神经生长因子受体(NGFR)超家族。其胞外区含有 2~6 个半胱氨酸富含区,称死亡信号激发域,通过与 Fas 配体结合,启动 Fas 介导的细胞凋亡,这是病毒性肝炎肝损伤的重要原因之一^[8]。sFas 是 Fas 基因转录过程中不同拼接所致跨膜区域缺失的产物或 Fas 抗原被清除过程中的游离产物,从而释放至血液中。姚航平等^[9]报道 sFas 在 CHC 患者体内高表达并与肝脏炎症活动性、肝损害程度及血清 HCV-RNA 滴度密切相关。本研究同样显示 sFas 在 CHC 患者中高表达,并且 sFas 与肝功能指标 ALT、AST 呈正比,提示 sFas 与肝损伤相关,其机制可能是随着肝细胞凋亡的增加,肝细胞损伤加重,表达 Fas 的肝细胞逐渐减少,血清 sFas 随之增多^[10]。值得注意的是,sFas 可竞争性的与免疫活性细胞膜上 Fas 配体结合,抑制其致凋亡能力,从而有利于肿瘤细胞逃避免疫细胞的监视,sFas 的高表达或许是导致部分病毒性肝炎患者发生肝癌的原因之一^[11]。通过 ROC 分析,sFas 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的 AUC 为 0.652,具有一定的诊断价值。

CK18 是一种细胞骨架中间丝蛋白,在肝脏、小肠等细胞中表达量丰富。CK18 除参与肝细胞骨架的支撑作用外,还通过多种途径参与肝细胞内损伤、凋亡、炎症等生理病理反应。当细胞启动凋亡时,半胱天冬酶(Caspase)凋亡途径中的 Caspase3 可将 CK18 的天冬氨酸 238(Asp238)和 Asp396 位置进行切割,其中作用 Asp396 位点后则生成 M30 片段释放到血液中^[12]。有关 M30 与肝病的研究较多,其中有不少研究表明血清中 M30 片段水平能较准确反映肝脏病理变化,甚至能反映肝纤维化程度^[13]。本研究中发现 M30 在 CHC 患者血清中表达量显著高于健康人群,同时在不同肝纤维化程度的

CHC 患者中血清水平差异也具有统计学意义,提示 M30 与肝纤维化程度有关。现已明确肝纤维化与肝细胞凋亡密切相关,肝细胞的凋亡可通过多种机制导致肝纤维化^[14],肝纤维化程度较严重的患者肝细胞凋亡数目相对较多,进而导致肝纤维程度越严重的患者血清 M30 水平越高。本研究同时分析发现 M30 与常规肝纤维化指标 HA、IV-C 和 LN 呈正比,进一步提示血清 M30 与肝纤维化的相关性,通过 ROC 发现血清 M30 用于诊断 CHC 患者早期肝纤维化的 AUC 为 0.735,当临界值为 433.90 U/L 时,其诊断的灵敏度为 72.8%,特异度为 78.7%,该结果提示 M30 对于早期诊断肝纤维化具有较佳的指示价值。值得注意的是,血清 M30 水平同样与 ALT、AST 呈正比,M30 或也能反映了肝脏受损程度。

综合本研究,血清 sFas 与 M30 在 CHC 患者内高表达,其中 M30 对于诊断早期肝纤维化具有较佳的指示价值,或可成为一种新型的早期肝纤维化血清指标。

参考文献

[1] 李杰,陈杰,庄辉. 丙型肝炎的流行病学[J]. 实用肝病杂志,2012,15(5):379-381.

[2] Lavanchy D. The global burden of hepatitis C[J]. Liver Int,2009,29(Suppl 1):74-81.

[3] Omata M, Kanda T, Yu ML, et al. APASL consensus statements and management algorithms for hepatitis C virus infection[J]. Hepatol Int,2012,6(2):409-435.

[4] 中华预防医学会医院感染控制分会. 中国丙型肝炎病毒肝炎医院感染防控指南[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):2-5.

[5] Bantel H, Lügering A, Heidemann J, et al. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver in-

jury[J]. Hepatology,2004,40(5):1078-1087.

[6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志,2000,8(6):324-329.

[7] 南月敏,张玉果. 丙型肝炎肝纤维化诊治进展[J]. 传染病信息,2013,26(3):141-145.

[8] Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, et al. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice[J]. Nature,1993,364(6440):806-809.

[9] 姚航平,夏大静,张立煌,等. 慢性丙型肝炎患者血清 sFas 和 sICAM-1 及 IL-18 水平与意义[J]. 浙江大学学报:医学版,2002,31(1):2-5.

[10] 宋修光,马立宪. 乙型肝炎患者肝细胞 Fas 和血清可溶性 sFas 与肝脏损伤的关系[J]. 临床检验杂志,2007,25(1):32-33.

[11] 宋卫青,吕维红,侯蔚,等. 慢性乙型重症肝炎及肝癌与血清可溶性 Fas/可溶性 Fas 配体的关系[J]. 中华检验医学杂志,2000,23(4):223-265.

[12] Caulín C, Salvesen GS, Oshima RG. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis[J]. J Cell Biol,1997,138(6):1379-1394.

[13] Valva P, De Matteo E, Galoppo MC, et al. Apoptosis markers related to pathogenesis of pediatric chronic hepatitis C virus infection; M30 mirrors the severity of steatosis[J]. J Medi Virol,2010,82(6):949-957.

[14] 周滔,刘成海. 肝细胞凋亡在肝纤维化中的作用[J]. 肝脏,2007,12(6):503-505.

(收稿日期:2015-11-25 修回日期:2016-01-15)

• 临床探讨 •

907 例妇女妊娠各期甲状腺激素水平变化分析

彭江游¹,谢家宁^{2△}(1. 重庆市长寿区妇幼保健院 401220;2. 重庆市中医院 400020)

【摘要】 目的 分析妇女妊娠早期、中期、晚期血清中的清游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、血清游离甲状腺素(FT4)和促甲状腺激素(TSH)水平及抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)水平变化,为临床诊断、治疗妊娠期甲状腺疾病提供实验依据。**方法** 采用化学发光法检测 907 例孕妇各期血清中的甲状腺激素水平,同时检测 150 例健康未孕妇女(对照组)血清中 FT3、FT4 和 TSH 及 TPO-Ab 水平,并进行统计学分析。**结果** 妊娠早期 FT3、FT4 和 TSH 水平与晚期相比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);妊娠各期孕妇血清甲状腺激素水平与对照组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$);TPO-Ab 阳性率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** TPO-Ab 可作为预测流产的重要指标;用 TSH 的水平来评估在妊娠的甲状腺功能是最灵敏和可靠的指标。

【关键词】 孕妇; 妊娠期; 甲状腺激素; 抗甲状腺过氧化物酶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.08.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)08-1116-03

妊娠时由于下丘脑-垂体-甲状腺轴系统处于一种特殊的应激状态,母体会发生一系列生理适应性变化,如甲状腺素结合球蛋白增高、绒毛膜促性腺激素对甲状腺的刺激作用等,而引起母体甲状腺激素的产生和代谢发生改变,结果甲状腺功能会表现出许多特殊的变化。妊娠早期甲状腺功能的异常,特别是抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)阳性可能会导致不明

原因复发性流产(RM)^[1-3],这些疾病无论对母体还是胎儿都会造成危害。本文分析了不同孕妇早期、中期、晚期血清的甲状腺激素水平变化,为临床诊断、治疗妊娠期甲状腺疾病提供实验依据,这对甲状腺疾病的诊断和治疗有十分重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 10 月至 2015 年 6 月来重庆市

△ 通讯作者,E-mail:316359357@qq.com。