

## 肝纤维化非创伤性诊断评估及其临床应用

陆伦根



**作者简介:** 陆伦根, 医学博士、主任医师、教授、博士生导师、上海交通大学附属第一人民医院消化科主任。中华医学会肝病学会副主任委员、上海市医学会肝病学会副主任委员、国家食品药品监督管理局新药审评专家委员会委员、中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精肝学组副组长。主编6部专著, 参编20余部专著, 发表论文300余篇, 其中SCI收录论文41篇, 包括《Hepatology》《Cell Res》《J Gastroenterol Hepatol》《Hepatol Res》等杂志, 总影响因子114.652。申请专利3项。获国家科技进步成果奖二等奖1项, 上海市科技进步奖一等奖1项、三等奖2项, 教育部科技成果奖二等奖2项, 上海医学科技奖二等奖1项, 中华医学科技奖三等奖2项。任《J Dig Dis》《World J Hepatol》《中华肝脏病杂志》《中华消化杂志》《肝脏》《胃肠病学》《世界华人消化杂志》等28种杂志副主编或编委。2009年入选上海市优秀学科带头人, 2011年入选上海市卫生系统新百人培养计划。主持或完成国家科技部“863”、“973”、“十一五”和“十二五”重大项目子课题6项, 国家自然科学基金项目3项, 上海市科委等课题8项。

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2013.05.001

肝纤维化是一种代偿修复反应, 呈慢性、渐进性过程。各种病因引起的慢性肝脏疾病都存在有肝纤维化, 其中25%~40%最终进展为肝硬化甚至肝癌。判断肝纤维化的程度对于预后评估、选择抗纤维化治疗药物及其疗效考核具有重要的临床意义。经皮肝穿刺活检仍然是诊断肝纤维化的“金标准”, 但因其存在有创性、取样误差及不同观察者间的偏倚, 特别是肝活检无法用于动态肝纤维化的观察及抗病毒治疗评估, 因此, 血清标志物、影像学等无创性肝纤维化诊断技术应运而生, 这些非创伤性诊断方法虽然离临床应用尚有一段距离, 但随着研究的不断深入以及新技术、新方法的开发和应用, 肝纤维化非创伤性诊断将成为可能。

### 1 肝纤维化的血清学诊断

血清学诊断可对肝纤维化进行早期诊断, 还可进行动态观察。血清生化指标用于判断肝纤维化程度主要包括: 直接肝纤维化标志物(如透明质酸和基质金属蛋白酶抑制因子等)和间接肝纤维化标志物(如FibroTest和FibroSpect等预测模型)。其中FibroTest的应用得到广泛关注, Poynard等<sup>[1]</sup>纳入1289例丙型肝炎病毒(HCV)感染患者评估FibroTest的检测效率, 其中25%经活检确诊为肝硬化, 结果显示在F2、F3期FibroTest的受试者工作特征曲线下面积(AUROC)为0.887, 在F4期为0.903。新近研究提示, 在慢性肝病进展中

FibroTest可估测纤维化的进展程度, 及时识别风险进而对疾病进行监测<sup>[2]</sup>。以上研究均来源于慢性丙型肝炎(CHC), 而慢性乙型肝炎(CHB)的研究相对较少。研究显示在CHB中,  $\alpha$ -2巨球蛋白、年龄、GGT和透明质酸形成的预测模型可使约40%患者不需要进行肝活检<sup>[3]</sup>。最新研究通过了解不同肝纤维化阶段肝病患者的蛋白质组、糖组和基因表达特征, 可用于区分肝纤维化的不同阶段。Poon等<sup>[4]</sup>在CHB肝纤维化患者血清中发现了独特的血清蛋白质印迹, 从而获得的人工神经网络纤维化指数能区分不同程度的肝纤维化, 可预测病理学Ishak评分 $\geq 3$ 的肝纤维化和肝硬化。Callewaert等<sup>[5]</sup>应用基于DNA序列分析的临床糖组学技术, 获得了一系列肝病患者的血清蛋白N-糖苷, 将其命名为GlycoCirrhoTest。GlycoCirrhoTest可用于诊断肝硬化, 与FibroTest联合时, 预测代偿期肝硬化的特异性达100%, 灵敏性达75%。微小RNA(miRNA)是近年发现的以序列特异性方式调控基因表达的一种非编码蛋白质的单链小分子RNA, miRNA对疾病的诊断具有重要的意义, 它的差异性表达可应用于疾病的诊断。Gramantieri等<sup>[6]</sup>比较了肝硬化与肝癌组织miRNA表达谱的差异, 发现有35个差异表达的miRNA, 准确率高达90%。Murakami等<sup>[7]</sup>对9例慢性病毒性肝炎活检组织标本进行miRNA表达谱分析, 发现慢性肝炎肝组织与肝硬化组织相比较, miR-182、pre-miR-199b、miR-224和miR-15b表达水平上调, 而miR-28、

miR-342、miR-126、miR-199a、miR-145b、miR-143、miR-368和 miR-372 表达水平下调。这些新的诊断方法需要更大规模的前瞻性临床研究来确定其临床效果,目前因费用高昂而无法推广。近期有研究进一步显示 GGT、凝血酶原时间和白蛋白所构成的 S 指数也有很好的诊断价值<sup>[8]</sup>,其对不同 HBeAg 阳性和阴性的 CHB 患者有不同的诊断价值,其差异及其价值有待进一步的研究<sup>[3, 9]</sup>。糖组学研究显示糖蛋白对肝纤维化的早期诊断价值不大,不建议在此方面再进行研究<sup>[10]</sup>。近年来蛋白质和多肽组学研究显示有一定的应用价值,但验证研究工作还在进行中,期望能找到更敏感和特异的标志物用于临床<sup>[11]</sup>。

理想的肝纤维化血清学诊断指标应满足以下条件<sup>[12]</sup>:(1)对肝脏特异性高;(2)不受肝、肾和网状内皮细胞廓清的影响;(3)能反映细胞外基质(ECM)合成和降解的动力学平衡;(4)有助于诊断临床显著性肝纤维化并监视其进程和治疗反应;(5)易测定并具有良好的重复性。但目前尚未发现能满足上述条件的血清学指标,还有待今后进一步的研究。

## 2 肝纤维化的影像学诊断

肝纤维化的影像学诊断在目前临床上研究和使用的主要包括瞬时弹性成像系统(FibroScan)、声脉冲辐射力成像技术(ARFI)和磁共振弹性成像技术(MRE)等,其中 FibroScan 因其无创伤性、可重复性、较高的准确性以及可应用于儿童,得到比较深入的研究。Tsochatzis 等<sup>[13]</sup>就 FibroScan 在诊断慢性肝病肝纤维化程度的准确性方面作了一个很好的 meta 分析。研究显示,在 30 项研究中,FibroScan 对肝硬化(Metavir F4)诊断的敏感性为 0.83(95% CI: 0.79-0.86),特异性为 0.89(95% CI: 0.87-0.91),Cut-off 值为  $15 \pm 4.1$  kPa(9.0~26.5 kPa);24 项研究评估了 F3 的诊断准确性,敏感性为 0.82(95% CI: 0.78-0.86),特异性为 0.86(95% CI: 0.82-0.89),Cut-off 值为  $10.2 \pm 1.9$  kPa(7.3~15.4 kPa);31 项研究评估了 F2 的诊断准确性,敏感性为 0.79(95% CI: 0.74-0.82),特异性为 0.78(95% CI: 0.72-0.83),Cut-off 值为  $7.3 \pm 1.4$  kPa(4.0~10.1 kPa);10 项研究评估了 F1 的诊断准确性,敏感性为 0.78(95% CI: 0.73-0.83),特异性为 0.83(95% CI: 0.72-0.90),Cut-off 值为  $6.5 \pm 1.1$  kPa(4.9~8.8 kPa)。研究结果显示,FibroScan 可以用于诊断肝硬化(F4),阳性预测值可达 90%,但对肝纤维化(F1~F3)诊断的准确性较差,阳性预测值在 78%~85%。研究也对引起肝纤维化的不同病因进行了分析和评估,显示在 CHB 和 CHC 患者中,FibroScan 诊断的准确性差异无统计学意义,而对于其他原因所致的肝纤维化尚待积累更多的资

料和数据。近期,国内同类产品 FibroTouch 也有应用于临床,但需要进一步验证评估。

常规超声对肝纤维化的诊断不甚敏感,二维声像图对肝纤维化和肝硬化无特异性表现,仅在肝硬化合并门脉高压、脾肿大、腹水等继发改变时才能作出诊断。有学者提出根据肝脏的灰阶声像图,通过对肝脏纹理的定量分析来挖掘图像信息,将肝纤维化分级。ARFI 是近期推出的无创评估肝组织弹性硬度的超声成像技术。成像时先确定需要进行弹性检测的感兴趣区域,探头发射推力脉冲,组织受力后产生纵向压缩和横向振动,收集这些细微变化并演算出横向剪切波速度值,可间接反映该区域组织的弹性程度。该方法也称为声触诊组织量化技术(VTQ),从一个全新的角度反映组织的弹性机械信息,无创性地获得深部组织的弹性特征;结合常规超声影像,检测特定区域肝组织的弹性硬度。由于肝纤维化为肝内胶原纤维逐渐增多而导致肝组织弹性增加的过程,因此 ARFI 技术可从横向弹性参数上间接反映肝组织的弹性硬度,从而推测肝纤维化的程度。近年来国内外研究显示该技术能明显提高肝纤维化的诊断能力,有研究提示其判断严重肝纤维化( $F \geq 3$ )的准确性(AUROC)为 0.91<sup>[14]</sup>。而该技术对早期肝纤维化的诊断尚有一些难度,因在 F1 和 F2 之间其检测值有部分重叠,区分其确切的纤维化分期有一定困难<sup>[15]</sup>。此外,目前验证的病例数尚少,进一步更大范围的检测和验证正在进行中。

影像学检查还包括应用 MRE 技术或弥散加权 MRI 来诊断肝纤维化,发现有较好的应用价值。MRE 的基本原理是利用 MR 技术检测体内组织在某种外力作用下产生的质点位移,通过运动敏感梯度的作用获取 MR 相位图像,以此为基础通过对弹性力学的逆求解,得出组织内各点的弹性系数的分布图(即磁共振弹性图),以组织弹性力学参数作为医学诊断的依据。除通用的磁共振成像设备外,MRE 还需要一套能够对成像部位施加剪切波(shear wave),即横波激励的机械装置。Hawart 等<sup>[16]</sup>在 CHC 患者中检查 MRE,结果显示 F0~F1、F2~F3 和 F4 患者的平均 MRE 弹性值分别是  $2.24 \pm 0.23$  kPa、 $2.56 \pm 0.24$  kPa、 $4.68 \pm 1.61$  kPa。MRE 诊断 CSF 的灵敏性和特异性分别达到 86% 和 85%<sup>[17]</sup>。Lewin 等<sup>[18]</sup>应用弥散加权 MRI 评估 CHC 肝纤维化,通过测定水表观弥散系数(ADC)来判断肝纤维化的程度,结果显示肝 ADC 值在巨噬细胞集落刺激因子(CSF)为  $1.10 \pm 0.11$ ,F0~F1 为  $1.30 \pm 0.12$ ,健康人群为  $1.44 \pm 0.02$ ,因此推论该检查对肝纤维化有很好的临床诊断应用价值。但

因该技术比较费时,需要横波激励的机械装置,铁和铜负荷较高的患者不适用及高成本等问题,还需要更大样本的临床验证,其目前的应用受到一定的限制,但仍具有一定的前景。

### 3 联合检测在肝纤维化诊断中的应用

目前就肝纤维化诊断而言,大多数学者建议首先对所有患者进行肝活检组织病理学分期,结合血清标志物、FibroScan 和影像学检查确立患者纤维化分期的基础水平;然后每年复查血清学生物指标,并进行 FibroScan 检查;当血清生物指标或 FibroScan 任何一项的纤维化分期出现增高,则必须再行肝活检以确诊<sup>[12, 19]</sup>。另一种诊断步骤是检测所有肝病患者的血清生物指标,或进行 FibroScan 或影像学检查,然后分3种不同的情况处理:(1)低风险者排除明显纤维化,无需肝活检,随访或按需治疗;(2)高风险者,提示肝纤维化 F3~F4 期,无需肝活检,进一步影像学检查以排除肝细胞肝癌和静脉曲张;(3)灰色区,若无法判断是否须治疗则行诊断性肝活检。此外,也有推荐将结合血清生化指标和影像学作为评估肝病的初步诊断,可显著减少肝活检。FibroScan 检查联合血清学指标可以增加肝纤维化诊断的准确性,联合检测可使诊断价值明显提高<sup>[12]</sup>。

肝纤维化的诊断涉及病原学、临床、生物化学、影像学及组织病理学等各方面的评定,目前仅依靠某种或某几类指标或方法诊断肝纤维化显然是不够全面的,还不能满足现今的临床需要。尽管在此领域已有不少的研究进展,但现有的资料表明,肝纤维化非创伤性诊断方法或预测模型对组织学分期诊断还未建立一个等价体系,尚不能完全取代肝活检,而两种或两种以上非创伤性检测方法和模型的联合应用将有助于提高肝纤维化及肝硬化的诊断率,避免临床肝活检的需要。相信在不久的将来,运用新的研究方法可探索特异性强、能反映肝纤维化不同程度的血清学指标,并建立简便易行和准确率高的诊断及评估体系,从而使慢性肝病肝纤维化的非创伤性诊断和评估迈上新台阶。

### 参 考 文 献

- 1 Poynard T, de Ledinghen V, Zarski JP, et al. Performances of Elasto-FibroTest (®), a combination between FibroTest (®) and liver stiffness measurements for assessing the stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2012, 36: 455-463.
- 2 Poynard T, Munteanu M, Deckmyn O, et al. Validation of liver fibrosis biomarker (FibroTest) for assessing liver fibrosis progression: proof of concept and first application in a large population. *J Hepatol*, 2012, 57: 541-548.
- 3 Zeng MD, Lu LG, Mao YM, et al. Prediction of significant fibrosis in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B by a

- noninvasive model. *Hepatology*, 2005, 42: 1437-1445.
- 4 Poon TC, Hui AY, Chan HL, et al. Prediction of liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B infection by serum proteomic fingerprinting: a pilot study. *Clin Chem*, 2005, 51: 328-335.
- 5 Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, et al. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nat Med*, 2004, 10: 429-434.
- 6 Gramantieri L, Fornari F, Callegari E, et al. MicroRNA involvement in hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med*, 2008, 12: 2189-2204.
- 7 Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, et al. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene*, 2006, 25: 2537-2545.
- 8 Zhou K, Gao CF, Zhao YP, et al. Simpler score of routine laboratory tests predicts liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25: 1569-1577.
- 9 Wang Y, Xu MY, Zheng RD, et al. Prediction of significant fibrosis and cirrhosis in hepatitis B e-antigen negative patients with chronic hepatitis B using routine parameters. *Hepatol Res*, 2013, 43: 441-451.
- 10 Qu Y, Gao CF, Zhou K, et al. Serum N-glycomic markers in combination with panels improves the diagnosis of chronic hepatitis B. *Ann Hepatol*, 2012, 11: 202-212.
- 11 Xu MY, Qu Y, Jia XF, et al. Serum proteomic MRM identify peptide ions of transferrin as new fibrosis markers in chronic hepatitis B. *Biomed Pharmacother*. 2013. doi: pii: S0753-3322 (13)00050-4.
- 12 Castera L. Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology*, 2012, 142: 1293-1302.
- 13 Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, et al. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol*, 2011, 54: 650-659.
- 14 Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, et al. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology*, 2009, 252: 595-604.
- 15 Ebinuma H, Saito H, Komuta M, et al. Evaluation of liver fibrosis by transient elastography using acoustic radiation force impulse: comparison with Fibroscan (®). *J Gastroenterol*, 2011, 46: 1238-1248.
- 16 Huwart L, Peeters F, Sinkus R, et al. Liver fibrosis: non-invasive assessment with MR elastography. *NMR Biomed*, 2006, 19: 173-179.
- 17 Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5: 1207-1213.
- 18 Lewin M, Poujol-Robert A, Boelle PY, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2007, 46: 658-665.
- 19 Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1670-1681.

(收稿日期:2013-09-02)

(本文编辑:周骏)