

慢性乙型肝炎肝纤维化患者血浆 NRG4 水平及与肝纤维化严重程度的关系

鲁 峻 黄 鑫 王 剑

【摘要】 目的 探究慢性乙型肝炎肝纤维化患者的血浆神经调节蛋白 4(NRG4)水平及与肝纤维化严重程度的关系。方法 前瞻性选取 2016 年 4 月至 2019 年 4 月在青岛市市立医院就诊的 211 例慢性乙型肝炎患者作为研究对象。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平,并分析其诊断肝纤维化程度的效能。结果 211 例慢性乙型肝炎患者中肝纤维化分期 S1 期 110 例(52.13%),S2 期 38 例(18.01%),S3 期 26 例(12.32%),S4 期 37 例(17.54%)。随着纤维化程度的加重,慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平降低。NRG4 与肝纤维化分期呈负相关($P<0.05$)。NRG4 诊断肝纤维化程度 \geq S2 期、 \geq S3 期和 S4 期的受试者工作特征曲线下面积(AUC)分别为 0.916、0.954、0.968,均高于天冬氨酸氨基转移酶和血小板比率指数(APRI 评分)以及肝纤维化指数(FIB-4 指数)。结论 慢性乙型肝炎患者血浆 NRG4 水平随肝纤维化程度加重而降低,检测其水平有助于肝纤维化程度的评估。

【关键词】 慢性乙型肝炎;肝纤维化;神经调节蛋白 4;严重程度

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2020.04.013

Plasma NRG4 level in patients with chronic hepatitis B fibrosis and its relationship with the severity of liver fibrosis LU Jun, HUANG Xin, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, China; WANG Jian, Department of Pharmacy, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, China

【Abstract】 Objective This paper intends to investigate the plasma neuregulin 4 (NRG4) level and its relationship with the severity of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B liver fibrosis. **Methods** A total of 211 patients with chronic hepatitis B who were treated in Qingdao Municipal Hospital from April 2016 to April 2019 were selected prospectively as the research subjects. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the plasma NRG4 level in patients with chronic hepatitis B, and to analyze its efficacy in diagnosing liver fibrosis. **Results** Of the 211 patients with chronic hepatitis B, 110 cases (52.13%) of liver fibrosis were in the S1 stage, 38 cases (18.01%) in the S2 stage, 26 cases (12.32%) in the S3 stage, and 37 cases (17.54%) in the S4 stage. As the severity of fibrosis increased, the level of NRG4 in plasma in patients with chronic hepatitis B decreased. There was a negative correlation between NRG4 and the stage of liver fibrosis ($P<0.05$). The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) of NRG4 for the diagnosis of liver fibrosis \geq S2, \geq S3, and S4 were 0.916, 0.954, and 0.968, respectively, which were all higher than the APRI score and FIB-4 index. **Conclusions** The level of plasma NRG4 in patients with chronic hepatitis B decreases with the degree of liver fibrosis. The detection of its level is helpful for the evaluation of liver fibrosis.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Liver fibrosis; Neuregulin 4; Severity

慢性乙型肝炎是影响全球健康的公众问题。目前全球约有 20 亿人感染过乙型肝炎病毒(HBV),其中 3~4 亿人为慢性 HBV 感染,15%~40%的慢性 HBV 感染患者可发展为肝硬化、肝细胞癌,最终死亡^[1]。中国目前约有 9 000 万 HBV 携带者,其中慢性 HBV 感染者约 3 000 万人^[2]。针对慢性乙型肝炎患者进行抗病毒干预治疗可有效逆转早期肝纤维化^[3]。及时评估慢性乙型肝炎患者的肝纤维化程度尤为重要。目前肝活组织病理检查是判断肝纤维化程度的金标准,但因其为创伤性,且在评价肝纤维化程度过程中难免存在标本误差及观察者误差等^[4],因此需寻找客观、准确的指标来评价肝纤维化程度。神经调节蛋白 4(NRG4)是含有表皮生长因子类似区域的一种蛋白,主要在棕色脂肪细胞中表达及分泌^[5]。有研究表明 NRG4 可通过调控肿瘤坏死因子受体 1(TNFR1)信号转导抑制糖尿病肾病大鼠的肾小管间质纤维化^[6]。TNFR1 与慢性乙型肝炎活动度有关,在肝纤维化发生、发展过程中发挥着重要作用^[7-8]。本研究探讨了不同肝纤维化分期患者的 NRG4 水平及与肝纤维化分期的关系,以期阐明 NRG4 在肝纤维化分期评估中的价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

前瞻性选取 2016 年 4 月至 2019 年 4 月在青岛市市立医院就诊的 211 例慢性乙型肝炎患者作为研究对象。慢性乙型肝炎的诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)》^[9]中慢性乙型肝炎诊断标准。纳入标准:(1)诊断为慢性乙型肝炎;(2)乙型肝炎表面抗原阳性 6 个月及以上;(3)暂未接受抗病毒或抗纤维化治疗;(4)接受肝活组织病理检查。排除标准:(1)除乙型肝炎外的其他类型病毒性肝炎;(2)酒精性肝炎或非酒精性脂肪性肝炎;(3)药物性肝损伤;(4)合并自身免疫性疾病,如自身免疫性肝病、炎症性肠病等;(5)合并恶性肿瘤;(6)人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者;(7)失代偿期肝硬化患者。211 例慢性乙型肝炎患者中,男性 149 例,女性 62 例,平均年龄(45.61 ± 10.72)岁,肝纤维化分期 S1 期 110 例(52.13%),S2 期 38 例(18.01%),S3 期 26 例(12.32%),S4 期 37 例(17.54%)。所有患者均签署知情同意书,本研究经医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集所有患者的年龄、性

别、肝活组织检查前 1 天或当天的天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、血小板计数(PLT)等临床资料。根据上述数据计算 AST 和 PLT 比率指数(APRI 评分)以及肝纤维化指数(FIB-4 指数)。APRI = (AST/ULN) \times 100/PLT ($10^9/L$),FIB-4 = 年龄 \times AST/PLT \times ALT^{1/2}。

1.2.2 肝活组织检查 在超声引导下肝穿刺,取长度 >1 cm 的肝活组织,用 10%甲醛溶液浸泡,然后送病理检查。肝纤维化程度检查由 1 名经验丰富的病理科副主任医师负责,采用 S 分期评价肝纤维化程度。

1.2.3 NRG4 水平检测 抽取慢性乙型肝炎患者肝活组织检查前 1 天或当天的空腹外周静脉血 10 mL,室温下离心 15 min(3 500 r/min),提取上清液,低温环境下保存。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平,试剂盒购自美国 R&D 公司。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。正态分布的计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 S-N-K 检验。不服从正态分布的计量资料用中位数和四分位数间距[M(Q_R)]表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。计数资料用例(%)表示,比较采用卡方检验。NRG4 与肝纤维化分期的关系采用 Spearman 相关分析。用受试者工作特征(ROC)曲线评价 APRI 评分、FIB-4 指数和 NRG4 诊断肝纤维化程度的效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组的一般资料比较

4 组的年龄、性别相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);4 组的 AST、ALT、PLT、ARPI 评分、FIB-4 指数、NRG4 相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AST、ALT、ARPI 评分、FIB-4 指数随肝纤维化程度的加重呈升高趋势,PLT、NRG4 随肝纤维化程度的加重呈降低趋势。见表 1。

2.2 NRG4 与肝纤维化分期的关系

采用 Spearman 相关分析,结果显示 NRG4 与肝纤维化分期呈负相关($r_s = -0.795, P < 0.001$)。见图 1。

表 1 4 组的一般资料比较

指标	S1 期(<i>n</i> = 110)	S2 期(<i>n</i> = 38)	S3 期(<i>n</i> = 26)	S4 期(<i>n</i> = 37)	统计值	<i>P</i> 值
年龄/岁	45.43 ± 11.45	44.34 ± 11.10	45.93 ± 8.89	47.23 ± 9.46	<i>F</i> = 0.474	0.701
性别/例(%)					χ^2 = 0.406	0.939
男	79(71.82)	26(68.42)	19(73.08)	25(67.57)		
女	31(28.18)	12(31.58)	7(26.92)	12(32.43)		
AST/U · L ⁻¹	25.0(14.3)	32.3(14.3) ^a	31.0(12.2) ^a	41.0(34.3) ^{abc}	<i>H</i> = 40.038	<0.001
ALT/U · L ⁻¹	32.0(27.7)	37.0(35.2)	38.0(10.8) ^a	47.8(33.0) ^{abc}	<i>H</i> = 12.206	<0.001
PLT/×10 ⁹ · L ⁻¹	177(65)	158(50) ^a	136(81) ^{ab}	101(65) ^{abc}	<i>H</i> = 52.388	<0.001
APRI/ng · mL ⁻¹	0.40(0.24)	0.65(0.44) ^a	0.57(0.67) ^a	0.98(1.15) ^{abc}	<i>H</i> = 55.353	<0.001
FIB-4/ng · mL ⁻¹	0.39(0.26)	0.58(0.40) ^a	0.65(0.69) ^a	0.74(1.23) ^a	<i>H</i> = 18.297	<0.001
NRG4/pg · mL ⁻¹	6.81 ± 1.48	4.98 ± 1.39 ^a	3.45 ± 1.29 ^{ab}	1.80 ± 1.06 ^{abc}	<i>F</i> = 139.572	<0.001

注:与 S1 期组比较,^a*P*<0.05;与 S2 期组比较,^b*P*<0.05;与 S3 期组比较,^c*P*<0.05

2.3 NRG4、APRI 评分和 FIB-4 指数在肝纤维化程度评价方面的价值比较

APRI 评分、FIB-4 指数和 NRG4 诊断肝纤维化程度≥S2 期的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.755、0.663 和 0.916。NRG4 诊断肝纤维化程度≥S2 期的效能高于 APRI 评分和 FIB-4 指数(*Z* = 4.419, *P*<0.001; *Z* = 5.936, *P*<0.001)。APRI 评分、FIB-4 指数和 NRG4 诊断肝纤维化程度≥S3 期的 AUC 分别为 0.766、0.651 和 0.954。NRG4 诊断肝纤维化程度≥S3 期的效能高于 APRI 评分和 FIB-4 指数(*Z* = 4.715, *P*<0.001; *Z* = 6.195, *P*<0.001)。APRI 评分、FIB-4 指数和 NRG4 诊断肝纤维化程度为 S4 期的 AUC 分别为0.836、0.659和 0.968。NRG4 诊断肝纤维化程度 S4 期的效

能高于 APRI 评分和 FIB-4 指数(*Z* = 3.740, *P*<0.001; *Z* = 5.120, *P*<0.001)。见表 2、图 2。

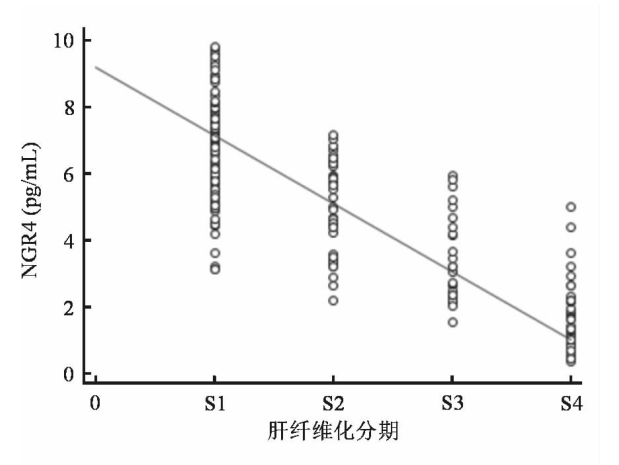


图 1 NRG4 与肝纤维化分期关系的散点图

表 2 NRG4、APRI 评分和 FIB-4 指数诊断肝纤维化程度的效能比较

指标	AUC	95%CI	SE 值	cut-off 值	敏感度/%	特异度/%
≥S2 期						
APRI	0.755	0.691~0.811	0.035	0.59	62.38	83.64
FIB-4	0.663	0.595~0.727	0.039	0.56	54.46	79.09
NRG4	0.916	0.870~0.950	0.018	4.98	78.22	87.27
≥S3 期						
APRI	0.766	0.703~0.822	0.039	0.78	57.14	89.86
FIB-4	0.651	0.583~0.715	0.048	0.89	41.27	95.95
NRG4	0.954	0.917~0.978	0.013	4.40	88.89	88.51
S4 期						
APRI	0.836	0.779~0.883	0.035	0.83	64.86	89.66
FIB-4	0.659	0.591~0.723	0.059	1.04	40.54	94.83
NRG4	0.968	0.934~0.987	0.013	2.94	89.19	91.38

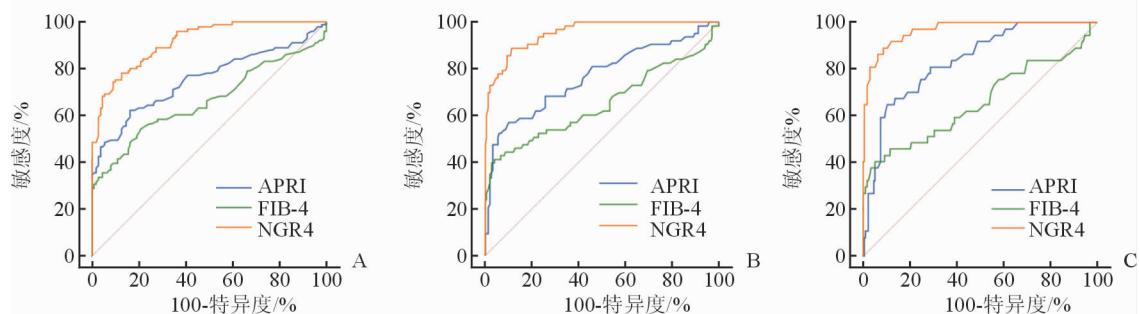


图 2 NRG4、APRI 评分和 FIB-4 指数评价肝纤维化程度的 ROC 曲线 A 肝纤维化程度 \geq S2 期 B 肝纤维化程度 \geq S3 期 C 肝纤维化程度为 S4 期

3 讨论

肝纤维化是肝损伤后机体的代偿性修复反应,主要表现为肝内沉积过多的细胞外基质及胶原纤维^[10-11]。近年来有研究表明肝纤维化及早期肝硬化是可以逆转的^[12-15]。因此,早期诊断肝纤维化程度对逆转早期肝硬化及预防肝纤维化进展具有重要意义。

哺乳动物的 NRG 包含 NRG1、NRG2、NRG3 和 NRG4,均可编码相应的细胞间信号转导的表皮生长因子与 ErbBs 胞外区域结合,进而激活细胞内的信号转导,参与细胞增殖、凋亡及修复等病理生理活动^[16]。NRG4 基因位于 15q24 上,与 NRG 家族其他成员类似,具有刺激细胞增殖、抑制细胞凋亡及改善细胞能量代谢的功能^[17]。目前 NRG4 与肿瘤、糖脂代谢相关疾病、上皮细胞相关疾病及心脏疾病等密切相关,但其与肝纤维化的关系尚未见报道。抗凋亡反应蛋白 BRE 可通过结合 TNFR1 调控 TNF 参与肝纤维化发展^[8],而 NRG4 可调控 TNFR1^[6],因此笔者猜想 NRG4 通过调控 TNFR1/TNF 通路参与肝纤维化进展。

本研究通过比较 S1、S2、S3 和 S4 期慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平,发现随着肝纤维化程度进展,慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平呈降低趋势,表明 NRG4 可能与慢性乙型肝炎患者的肝纤维化进展有关。本研究采用 Spearman 相关分析,结果显示慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平与肝纤维化分期呈负相关,进一步证实 NRG4 参与了慢性乙型肝炎患者的肝纤维化进展,但其病理生理机制有待进一步研究明确。检测慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平可能可以评估其肝纤维化分期。

APRI 评分诊断肝纤维化模型包含 AST 和 PLT 两项指标,计算较为简单。有研究显示 APRI

评分预测肝纤维化 \geq F2 期和 F4 期的效能较低^[18]。FIB-4 指数诊断肝纤维化模型包含年龄、AST、ALT 和 PLT 4 项指标,计算相对简单,广泛应用于肝纤维化程度的评估。但有研究显示 FIB-4 指数在评价肝纤维化 \geq S2 期、 \geq S3 期和 S4 期的效能较低^[19]。本研究构建了 APRI 评分、FIB-4 指数和 NRG4 诊断慢性乙型肝炎患者肝纤维化分期的 ROC 曲线,结果显示 NRG4 诊断肝纤维化程度 \geq S2 期、 \geq S3 期和 S4 期的 AUC 分别为 0.916、0.954、0.968,均大于 APRI 评分和 FIB-4 指数诊断肝纤维化程度 \geq S2 期、 \geq S3 期和 S4 期的 AUC。上述结果表明 NRG4 在诊断慢性乙型肝炎患者肝纤维化分期方面的价值较高,其效能优于 APRI 评分和 FIB-4 指数,可辅助评价慢性乙型肝炎患者的肝纤维化分期。

综上所述,慢性乙型肝炎患者的血浆 NRG4 水平随肝纤维化程度加重而降低,检测其水平有助于肝纤维化程度的评估。本研究仅分析了肝活组织检查时 NRG4 与肝纤维化程度的关系,未研究治疗过程中其动态变化,此外尚未探究其参与肝纤维化进展的病理生理机制。今后将开展基础研究,以探明 NRG4 参与慢性乙型肝炎患者肝纤维化进展的病理生理机制,同时开展多中心研究,动态观察慢性乙型肝炎患者治疗过程中血浆 NRG4 水平的变化,探究其在疗效评估中的价值。

参 考 文 献

- 1 丁荣蓉,陆伟,王雁冰,等. 采用瞬时弹性成像技术和血清标志物预测丙氨酸转氨酶轻度升高的慢性乙型肝炎患者肝纤维化程度[J]. 中华传染病杂志, 2019, 37(2): 72-76.
- 2 李明慧,胡蕾苹,张璐,等. HBeAg 阳性慢性乙型肝炎用核苷(酸)类似物治疗部分病毒学应答患者转换聚乙二醇干扰素 α -2a 治疗的研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(11): 826-831.

- (2014 版)[J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2015, 4(3): 195-196.
- 12 Shi H, Chen X, Jiang H, et al. miR-148a suppresses cell invasion and migration in gastric cancer by targeting DNA methyltransferase 1[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 4944-4950.
 - 13 Jiang C, Gong F. MiR-148a promotes myocardial differentiation of human bone mesenchymal stromal cells via DNA methyltransferase 1 (DNMT1)[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(8): 913-922.
 - 14 翟文君, 聂玉哲, 滕春波. miR-148a 过表达抑制胰腺祖细胞增殖及其机制研究[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(6): 969-976.
 - 15 Miao B, Qi WJ, Zhang SW, et al. miR-148a suppresses autophagy by down-regulation of IL-6/STAT3 signaling in cerulein-induced acute pancreatitis[J]. *Pancreatol*, 2019, 19(4): 557-565.
 - 16 张东, 杨艺敏, 段奥淞, 等. AGI 分级系统引入 SOFA 评分对重症急性胰腺炎患者预后预测价值的研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24(10): 1118-1121.
 - 17 Huang L, Jiang Y, Sun Z, et al. Autophagy strengthens intestinal mucosal barrier by attenuating oxidative stress in severe acute pancreatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2018, 63(4): 910-919.
 - 18 Xiao J, Feng X, Huang XY, et al. Spautin-1 ameliorates acute pancreatitis via inhibiting impaired autophagy and alleviating calcium overload[J]. *Mol Med*, 2016, 22: 643-652.

(收稿日期:2019-12-06)

(本文编辑:周骏)

(上接第 268 页)

- 3 Idilman R. The summarized of EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2017, 28(5): 412-416.
- 4 Liang XE, Chen YP. Clinical application of vibration controlled transient elastography in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2017, 5(4): 368-375.
- 5 杨帆, 李晓南. 神经调节蛋白 4 生物学功能的研究进展[J]. *生理学报*, 2017, 69(3): 351-356.
- 6 Shi J, Xu W, Zheng R, et al. Neuregulin 4 attenuate tubulointerstitial fibrosis and advanced glycosylation end products accumulation in diabetic nephropathy rats via regulating TNF-R1 signaling [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 5501-5513.
- 7 陈昊, 白玲, 张昶, 等. TNF- α mRNA、TNF-R1 mRNA 在慢性肝病肝组织中的表达及意义[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2003, 24(12): 1321-1322.
- 8 李莲莲, 陈若翰, 陈淑珍, 等. 抗凋亡蛋白 BRE、TNFR1 和自噬吞噬蛋白 Beclin1 在小鼠肝纤维化的表达及 Reversine 对其的影响[J]. *广东医学*, 2011, 32(15): 1941-1944.
- 9 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2015, 33(12): 888-905.
- 10 熊盼盼, 刘菲. 上皮间质转化相关信号通路在肝纤维化中作用的研究进展[J]. *国际消化病杂志*, 2016, 36(3): 153-155, 196.
- 11 Toosi AE. Liver fibrosis: Causes and methods of assessment, a review[J]. *Rom J Intern Med*, 2015, 53(4): 304-314.
- 12 郑虹, 肖海, 吴雄健. 肝纤维化的发病机制及治疗的最新进展[J]. *赣南医学院学报*, 2019, 39(3): 298-302, 308.
- 13 夏翊夫, 张春清. 抗凝治疗抑制肝纤维化进程的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(10): 2224-2226.
- 14 李军, 陈攀, 陈孝, 等. 以 DJ-1 蛋白为靶点治疗肝纤维化的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(3): 309-312.
- 15 邓灿, 叶波平. 肝纤维化发生机制及治疗研究进展[J]. *药物生物技术*, 2017, 24(5): 454-458.
- 16 Wansbury O, Panchal H, James M, et al. Dynamic expression of Erbb pathway members during early mammary gland morphogenesis [J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(4): 1009-1021.
- 17 Gumà A, Martínez-Redondo V, López-Soldado I, et al. Emerging role of neuregulin as a modulator of muscle metabolism[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(4): E742-E750.
- 18 Seo YS, Kim MY, Kim SU, et al. Accuracy of transient elastography in assessing liver fibrosis in chronic viral hepatitis: A multicentre, retrospective study [J]. *Liver Int*, 2015, 35(10): 2246-2255.
- 19 赵文. FibroTouch 联合 FIB-4、APRI 及 GPR1 评估肝纤维化的临床研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2018.

(收稿日期:2020-03-06)

(本文编辑:林磊)