

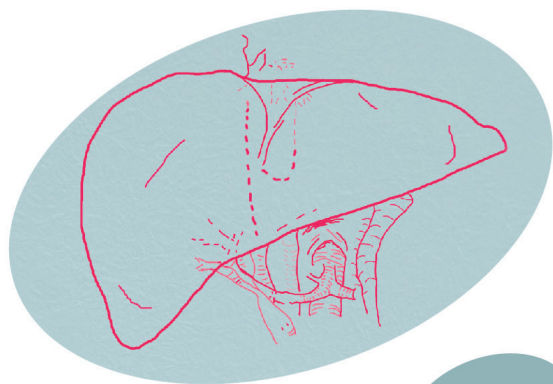
致 力 于 人 类 的 健 康 与 幸 福

第 10 期
2018/12

华医通讯
www.hybiome.com

肝纤维化血清学指标

Hepatic fibrosis and serum biomarkers





CG 比谷丙转氨酶、胆红素等试验更为敏感，CG 已被公认为反映肝脏损伤的灵敏可靠指标。用于极早期、急性肝炎早期诊断及预后判断，CG 是一项无创敏感的肝功能指标，其反应肝脏早期受损程度，动态观察肝脏受损情况。CG 升高程度与急慢性肝炎的活动程度及肝硬化的病理发展过程密切相关，急性肝炎、慢性活动性肝炎、原发性肝癌、肝硬化、慢迁肝患者血 CG 均明显高于正常人，且呈递性增高。餐后 2 小时，肝脏负担最大，故餐后测定 CG 较空腹时更为敏感，当肝脏摄取或清除 CG 功能下降时，CG 浓度明显高于其他常规肝功能项目，因此，对 CG 正常或接近正常的可疑患者应进行餐后 CG 测定，可提高轻型、极早期肝病检出率。

胆石症伴黄疸患者胆管、胆囊排泄功能障碍引起血清 CG 显著升高。梗阻性肝病、肠肝循环障碍血清 CG 水平高于正常人。CG 是妊娠晚期血清中最主要的胆汁酸组分，正常妊娠时孕妇血清 CG 水平随孕周逐步增高，至足月妊娠 CG 值较非孕时增加 30%-60%。

肝纤维化血清标志物检测注意事项

(1) 有文献报道血清 LN、PIIINP、CIV 在甲状腺功能亢进时含量明显升高，其具体的机制尚待阐明，可能与甲状腺激素直接刺激 LN、PIIINP、CIV 的分泌作用，引起组织的合成增加，或由于甲状腺本身是一富含基底膜的器官，甲亢时引起 LN、PIIINP、CIV 基因表达异常，以及甲亢时体内过多的甲状腺激素对肝细胞直接的毒性损伤有关。在评价肝纤维化时须排除甲亢。

(2) 部分肝硬化患者发病时肝功能正常且血中乙型肝炎病毒 DNA 阴性，但活检时仍发现有病毒复制，因此肝功能正常的乙型肝炎患者仍需检测肝纤维化指标。

(3) 有研究显示，4 项 ECM 指标平均值随急性肝炎，慢性肝炎轻度，慢性肝炎中、重度，活动性肝炎肝硬化及重型肝炎依次递增，说明它们与肝组织炎性反应和坏死程度以及纤维化程度密切相关。4 项 ECM 指标等被认为是较好的诊断肝纤维化的血清学指标，但须考虑到炎性反应的影响，应结合患者的临床表现和肝功能情况，同时应进行甲胎蛋白检测和 B 超检查来综合评价。

(4) 血清肝纤维化指标有助于抗肝纤维化药物疗效的考核。但抗肝脏炎性反应与抗肝脏损伤药物也能使肝纤维化指标明显好转，故 4 项 ECM 指标有其局限性。

(5) CG 为肝功能的敏感指标,但单独检测缺乏特异性。CG 与 4 项 ECM 指标联合应用,可提高检测的特异性,有助于早期肝硬化的诊断,为临床治疗提供必要的实验依据。

(6) 目前临床应用血清纤维化指标尚不能完全反映肝脏的组织病理学变化,需要寻找新的指标,还需进行综合研究,才能获得确切的评价。

参考文献

1. Bataller, R. and D.A. Brenner, Liver fibrosis. The Journal of Clinical Investigation, 2005. 115(2): p. 209-218.
2. Gressner, A.M., C. Gao, and O.A. Gressner, Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: A short survey. World Journal of Gastroenterology, 2009. 15(20): p. 2433-2440.
3. Friedman, S.L., Hepatic fibrosis -- overview. Toxicology, 2008. 254(3): p. 120-9.
4. Gressner, O.A., et al., Changing the pathogenetic roadmap of liver fibrosis? Where did it start; where will it go? Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2008. 23(7): p. 1024-1035.
5. Liu, T., et al., Molecular serum markers of liver fibrosis. Biomark Insights, 2012. 7: p. 105-17.
6. Manning, D.S. and N.H. Afdhal, Diagnosis and quantitation of fibrosis. Gastroenterology, 2008. 134(6): p. 1670-81.
7. Pares, A., et al., Serum hyaluronate reflects hepatic fibrogenesis in alcoholic liver disease and is useful as a marker of fibrosis. Hepatology, 1996. 24(6): p. 1399-403.
8. Halfon, P., et al., Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. Comparative Hepatology, 2005. 4(1): p. 6-6.

下期预告

骨代谢血清标志物

主编：常立峻 副主编：廉倩倩 编委：徐海伟、张娜娜、何春燕、欧赛英、胥法伟、潘杨滨



苏州长光华医生物医学工程有限公司

SUZHOU HYBIOME BIOMEDICAL ENGINEERING CO., LTD

地址: 苏州高新区锦峰路8号4号楼

Address: Building 4, No. 8, Jinfeng Road, Suzhou 215163, China

电话: 400 928 0111

Email: hybiome@hybiome.com www.hybiome.com





肝纤维化

肝脏是机体最大的代谢器官和消化腺体。各种致病因子作用于肝组织后，可直接导致肝细胞不同程度的损害。慢性肝损伤的病因很多，包括病毒感染（HBV、HCV）、酒精滥用、非酒精性脂肪肝、寄生虫、自身免疫性肝炎、代谢紊乱和胆汁淤积性肝病等，几乎所有病因导致的慢性肝损伤都会引起肝纤维化（表 1）^[1]。

肝纤维化（Hepatic fibrosis）是指肝细胞发生坏死或炎症刺激时，引起的肝脏持续的创伤修复反应而导致的细胞外基质（Extracellular matrix，ECM）过度沉积、肝脏内纤维结缔组织异常增生的病理过程，是各种慢性肝病的共同病理学基础，随着各种不同慢性肝脏疾病的进展可发展为肝硬化和肝癌（图 1）。

表1 肝纤维化与肝硬化的病因

肝纤维化与肝硬化的病因	
病毒	慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、慢性丁型肝炎
药物和毒素	酒精性肝病、甲基多巴、双醋酚酞、扑热息痛、甲氨蝶呤等中毒
寄生虫	血吸虫性肝病
自身免疫	自身免疫性肝病
胆汁郁积	原发性胆汁性肝硬化、继发性胆汁性肝硬化
代谢/遗传异常	肝豆状核变性（Wilson病）、血色病、 α 1抗胰蛋白酶缺乏症、脂肪肝



图1 肝损伤的疾病进展

肝纤维化是肝硬化的前期，肝硬化是肝纤维化进一步发展所致，也是肝病的终末期。一般来说，肝纤维化是可逆的，而到了肝硬化阶段，纤维组织则很难逆转。肝纤维化程度是慢性肝病诊断和预后评估最重要的指标之一。

肝纤维化的发生机制

肝星形细胞（Hepatic stellate cells, HSC）是肝损伤时细胞外基质（Extracellular matrix, ECM）的主要产生细胞，是肝纤维化的主要效应细胞，HSC 的活化是肝纤维化的中心环节（图 2）^[2, 3]。

正常状态下,HSC 位于窦周间隙(Disse 间隙),其形态不规则,胞体呈卵圆形或不规则形,常有数个星状突起并嵌入相邻肝细胞的凹陷内,其突起包绕肝窦边界的内皮细胞,胞质内富含维生素 A（VitA）和甘油三酯,在正常肝中,与肝细胞之比为 1:20,其总体积占肝体积的 1.4%。



肝脏在受到各种损伤因素影响后,原处于静止期的 HSC 受同类细胞或其它细胞(如损伤的肝细胞、活化的枯否细胞、裂解的血小板、不同种类的白细胞)分泌的细胞因子的影响,在旁分泌和自分泌的作用下被激活,发生表型改变,转化为肌成纤维细胞;激活后的 HSC 丢失 VitA 脂滴,粗面内质网或核糖体扩张增生,细胞增殖、游动、收缩能力增强,同时大量合成细胞因子和 ECM。转化生长因子(TGF)- β 、血小板源生长因子(PDGF)、内皮素-1(ET-1)、血管内皮生长因子(VEGF)等可诱导活化的 HSC 转化为肌成纤维细胞,是重要的促纤维生成介质。

除肝细胞邻近区域 HSC 激活外,骨髓来源的纤维细胞可经循环系统汇集进入肝脏、循环中的单核细胞在 TGF- β 作用下可分化为成纤维细胞、肝细胞及胆管上皮细胞经上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)可转化为成纤维细胞,这些途径对纤维化的贡献大小取决于疾病种类及纤维化的阶段^[4]。

肝细胞损伤时,ECM 大分子物质(主要是结构与黏附功能相关的纤维蛋白,如胶原蛋白与蛋白聚糖)大量产生。同时,肝内的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)活性下降,金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)产生过多,使得 ECM 的降解减少,导致 ECM 在肝脏中大量沉积,最终导致肝纤维化的发生。

肝纤维化是慢性肝炎向肝硬化发展的必经阶段。此阶段,肝脏最主要的病理改变是 ECM(胶原、非胶原糖蛋白、蛋白多糖)大量形成并沉积在肝脏内。早期沉积只出现在肝细胞间质,但后期纤维增生则向肝实质细胞间隙延伸,并逐渐形成纤维索及纤维间隔,以至最后阶段纤维间隔连接形成纤维包裹,导致典型的肝硬化的病理特征出现——假小叶生成,此时就是肝硬化期。

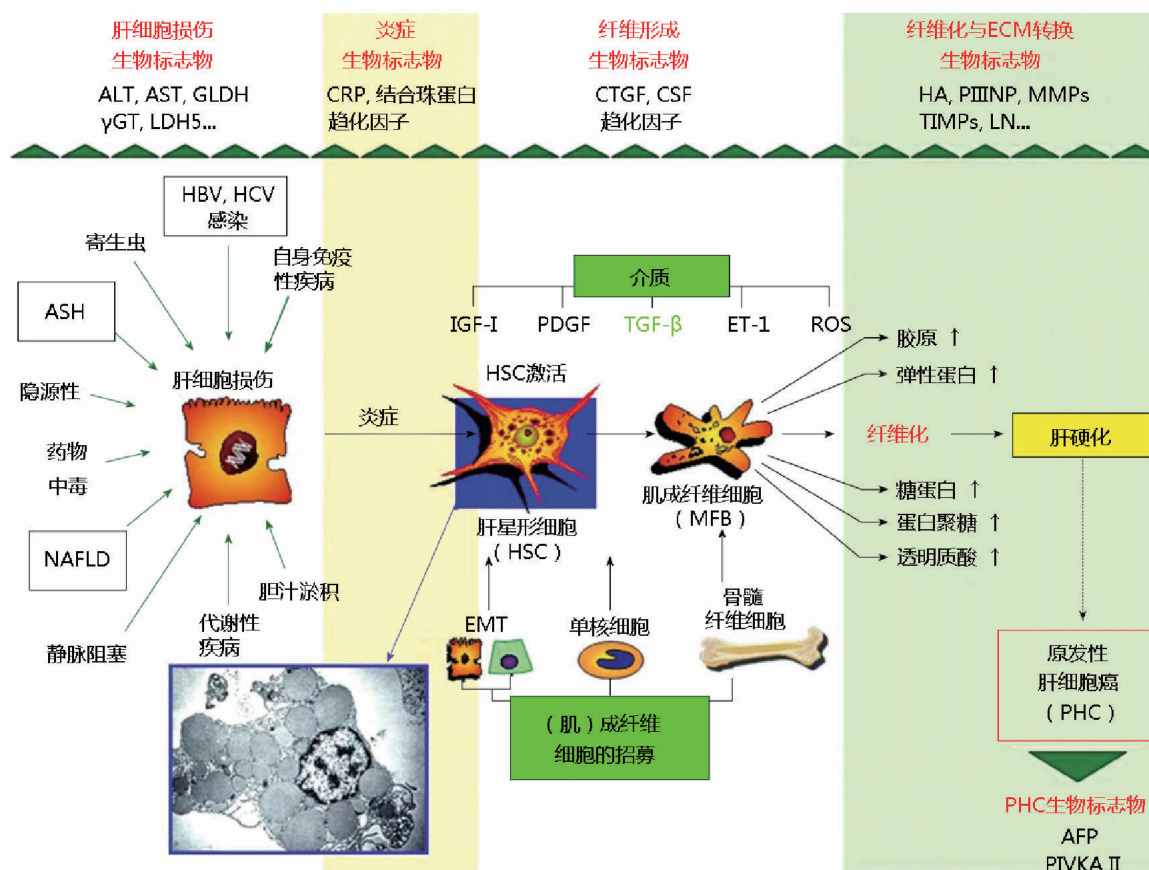


图 2 肝纤维化的发病机制及血清学指标^[2]。激活的肝星形细胞 (HSC) 及其转化生成的肌成纤维细胞 (MFB) 合成不同的细胞外基质 (ECM) 组分 (胶原、糖蛋白、蛋白聚糖、透明质酸等) 增加, 导致肝纤维化继而导致肝硬化的发生。公认的发病机制包括: (i) 骨髓来源的纤维细胞经循环系统汇集进入肝脏; (ii) 循环中的单核细胞在 TGF-β 作用下分化为成纤维细胞; (iii) 肝细胞及胆管上皮细胞经上皮 - 间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 转化为成纤维细胞。此三种互补机制增加了基质合成细胞 (肌) 成纤维细胞的量。重要的促纤维生成介质包括转化生长因子 (TGF)-β、血小板源生长因子 (PDGF)、胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、内皮素 -1 (ET-1) 及活性氧 (ROS)。ASH: 酒精性脂肪性肝炎; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病。



肝纤维化ECM相关标志物^[2, 5, 6]

肝纤维化与 ECM 的含量及组成的改变相关。在肝纤维化的晚期，肝脏中 ECM 组分（包括 I/III/IV 型胶原、层粘连蛋白、透明质酸、纤连蛋白、弹性蛋白和蛋白聚糖）含量约是正常肝脏 ECM 含量的 6 倍以上。因此，与 ECM 合成增加相关的某些指标可用作肝纤维化的标志物。最常用的 ECM 标志物包括透明质酸、层粘连蛋白、IV 型胶原和 III 型前胶原氨基端肽。

透明质酸

透明质酸（Hyaluronic acid, HA）是一种糖胺聚糖，是由 N- 乙酰氨基葡萄糖及 D- 葡萄糖醛酸的重叠结构组成的线形多糖，是 ECM 的组成成分。HA 是一种多功能基质，广泛分布于人体各部位。在体内，HA 由组织中成纤维细胞合成，经淋巴系统入血，除少量滞留于脾脏、淋巴结和骨髓外，大多数由肝窦内皮细胞摄取并降解为乙酸和乳酸，并主要由肾脏过滤排出。当肝脏发生损伤时，肝间质增生，活化的 HSC 合成 HA 增加，而肝窦内皮细胞受损使血液中 HA 的摄取及降解减少，导致血中 HA 水平增高，其增高程度与肝损害程度平行。

因 HA 由活化的 HSC 合成，肝窦内皮细胞摄取降解，血液循环中半衰期只有 2-9 min，所以 HA 是与反映 ECM 浓度相关的最敏感、最有价值的血清学指标。肝纤维化时 HA 变化最大，明显升高，是反映慢性肝病肝纤维化和炎性改变最敏感的指标。在肝病患者特别是肝硬化患者中，高水平的 HA 与肝窦内皮细胞功能紊乱相关，可以反映纤维化程度的增加。研究表明，HA 水平与慢性丙型肝炎患者肝纤维化的程度呈相关性（图 3）。在酒精性肝病中，HA 的水平与纤维化程度及炎症的严重程度呈相关性^[7]。在区分酗酒者有无肝纤维化发生时，HA 与 PIIINP 具有相似的性能并呈线性相关性。

在非肝源性的慢性炎症过程中（如类风湿性关节炎）及饭后或引用含糖饮料后，HA 水平可能升高。

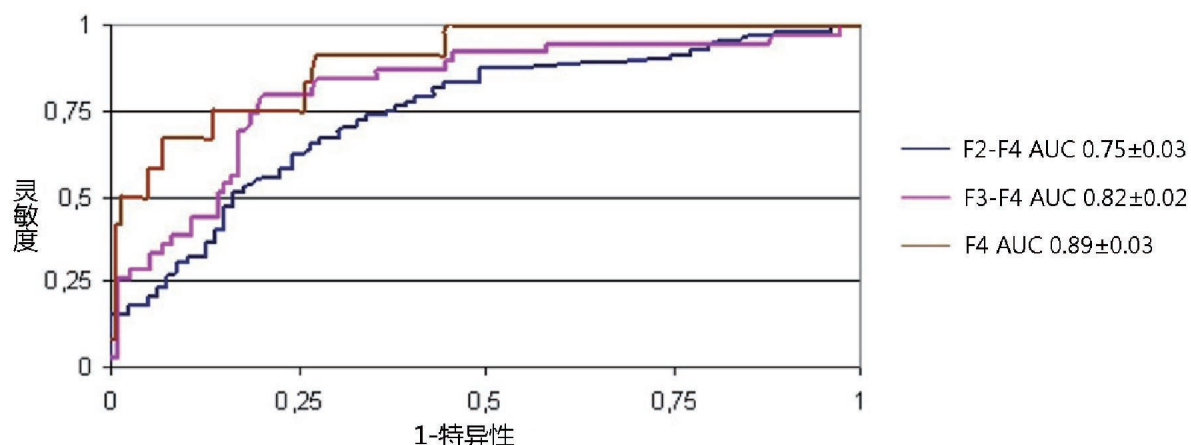


图 3 HA 用于预测明显肝纤维化 (F2-F4)、严重肝纤维化 (F3-F4) 及肝硬化 (F4) 的 ROC 曲线^[8]。METAVIR 评分系统纤维化分级: F0- 无纤维化; F1- 门静脉区有纤维化但无纤维间隔形成; F2- 少量纤维间隔形成; F3- 大量纤维间隔但没有肝硬化; F4- 肝硬化。

III型前胶原氨端肽

III 型前胶原是 III 型胶原的前体，由肝脏中活化的 HSC 产生。III 型前胶原经转运到细胞外，经 N 端和 C 端蛋白酶酶切除去 N 端和 C 端的多肽，生成 III 型胶原组成 ECM。其中 N 端的多肽即为 III 型前胶原氨端肽 (PIIINP)。PIIINP 在 III 型胶原合成过程中其释放与 III 型胶原分子的生成是 1:1 的关系，因此，血清 PIIINP 水平可作为检测 III 型胶原合成情况的指标。而 III 型胶原为最先形成的胶原成分，故 PIIINP 敏感地提示肝内纤维化活动的程度，可持续监控发病的过程。

血清 PIIINP 含量增高与肝细胞炎性反应和坏死导致肝内 III 型胶原裂解增加有关，直接反映 III 型胶原的代谢状况。肝纤维化时 III 型胶原增高，其血清水平与汇集区容积及周围成纤维细胞数显著相关，也与肝纤维化的活动程度密切相关。在慢性肝脏疾病中，PIIINP 的水平反应纤维化的程度。血清 PIIINP 的水平可以反应酒精性肝病、病毒性肝炎和原发性胆汁性肝硬化的纤维化程度，戒酒后 PIIINP 的水平下降趋于正常化。



在急性和慢性活动性肝炎，PIIINP 水平升高，并与转氨酶的水平相关。PIIINP 并不是肝纤维化的特异性指标，当发生肺纤维化、胰腺炎和类风湿性关节炎时，PIIINP 水平也会升高；在慢性丙型肝炎患者中，PIIINP 的水平与肝纤维化程度不相关但与坏死评分相关；接受甲氨蝶呤治疗的病人，PIIINP 是评价肝损伤的有效指标。因此，PIIINP 更是与炎症相关的指标。

IV型胶原

IV 型胶原（Collagen type IV，CIV）主要是肝窦内皮细胞合成的胶原，是基底膜的主要的组成成分，由两条 $\alpha 1$ 链和一条 $\alpha 2$ 链组成的异三聚体。在正常的肝脏小叶 Disse 间隙中无基底膜，IV 型胶原在此部位的含量也很少，肝纤维化时，CIV 合成大量增加、持续沉积，与粘连蛋白组成完整的基底膜，导致肝纤维化特征性的“肝窦毛细血管化”，影响肝内血液循环，使肝细胞与血液间营养与代谢交换发生障碍，肝脏受损，加剧了肝纤维化的进展。由于肝纤维化时 CIV 合成增加，血清中 CIV 含量也随之增高，因此动态观测肝病患者血清中 CIV 含量对于了解肝纤维化程度和诊断以及预后疗效判断都有很大价值。

CIV 在肝硬化及肝纤维化的诊断方面均具有较高的敏感性及特异性。CIV 含量反映了基底膜的更新情况，是肝纤维化早期最早出现的胶原，可以比较灵敏地表明肝组织纤维化程度，属于肝组织纤维化的早期辅助诊断指标之一。在肝炎至肝硬化的肝纤维化病变过程中，CIV 含量变化与纤维化程度相关，随着慢迁肝→慢活肝→肝硬化→肝癌病程演变，CIV 在血清含量逐步升高，且在轻度肝纤维化时明显高于 PIIINP。酒精性肝病和肝癌患者，血清 CIV 也呈现高值。

虽然血清 CIV 是诊断肝纤维化较好的指标，但在某些富含血管基底膜成分的组织器官发生病变时，如甲状腺机能亢进、中晚期糖尿病及硬皮病等自身免疫性疾病等，血清 CIV 含量也会升高，在诊断中应结合临床注意鉴别。

层粘连蛋白

层粘连蛋白（Laminin，LN）又称板层素，其分子量为 805kD，由一个 400kD 的 α 链和两条 200kD 左右的 β 链组成。LN 是构成细胞间质的一种非胶原糖蛋白，与胶原一起构成基底膜的成分。肝内的 LN 主要由 HSC 合成，主要存在于细胞外基质基底膜的透明层中，具有维持细胞基底膜网状结构的功能。LN 的 $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 短臂上有两个结构域， α 链上的短臂

有三个结构域，可同 CIV、肝素、细胞表面受体结合，这些独立的结合位点使 LN 作为一个桥梁分子，介导细胞同基膜结合。LN 紧贴细胞基底部，与 CIV 结合形成基底膜的骨架，影响细胞的黏附、运动，调节细胞的生长和分化，并与肝纤维化的发生、肿瘤的浸润转移等有关。

血清 LN 水平与肝纤维化和炎症反应程度密切相关。正常时，血清及组织中的 LN 含量甚微；肝纤维化时，HSC 被激活、增殖，LN 的合成和沉积增加，发生肝窦毛细血管瘤化，患者血清 LN 含量升高，故 LN 血清值被认为是反映基底膜更新率的指标，可反映肝窦的毛细血管瘤化和汇管区纤维化的范围。肝窦毛细血管瘤化阻碍了肝细胞与血液间正常的物质交换，影响了肝脏的功能，血清 LN 含量越高，肝功能损害也越严重。研究表明，LN 和肝脏纤维化程度及门静脉压力有着一定的相关性，能作为早期肝脏纤维化的诊断指标之一；随着肝组织学病变加重和纤维化程度增高，血清 LN 含量也随之增多，对及时判断慢性肝纤维化程度有重要意义；血清 LN 水平常与 CIV、HA 等相平行，在肝纤维化诊断方面有重要价值。

癌症转移首先要突破基底膜，因此 LN 与肿瘤浸润转移有关。大部分肿瘤患者血清 LN 水平升高，尤以乳腺癌、肺癌、结肠癌、胃癌显著。此外，LN 与基底膜相关疾病亦具有相关性：如先兆子痫孕妇血清 LN 较正常妊娠者显著升高，提示可能与肾小球及胎盘螺旋动脉损伤有关；血清 LN 与糖尿病、肾小球硬化等疾病有关。

肝胆酸

甘胆酸（Cholyglycine/Glycocholic acid, CG）由胆酸侧链末端的羟基与甘氨酸的氨基以肽键结合形成，分子量 465.6D，是主要胆汁酸之一。

肝脏是 CG 合成的唯一脏器，肝细胞是摄取 CG 的唯一路径。CG 正常代谢途径为肠肝循环。CG 在肝细胞合成后，经胆管排入胆囊贮存，餐后胆囊收缩，随同胆汁排入小肠，参与脂肪的消化吸收。在小肠粘膜，95% 的 CG 被重吸收，经门静脉输送至肝脏由肝细胞摄取。正常情况下，肝脏可有效的摄取门静脉血中的 99% 以上的 CG 重新分泌入胆汁，外周血中 CG 含量很低，重吸收的 CG 可再次进入肠肝循环。当肝细胞受损时，肝细胞不能有效摄取经肠肝循环到达肝脏的 CG，至使血清中 CG 含量增高；胆汁瘀滞时，肝脏排泄胆酸发生障碍而反流入血循环中，也可使血中 CG 含量增高。

当肝细胞受损伤或胆汁淤滞时，引起 CG 的代谢和循环紊乱，血清中的 CG 含量升高。相比于其它指标，其出现比较早、持续时间长、恢复时间晚，临床证明在肝损伤的生化指标中，