

FibroTouch 无创诊断慢性 HBV 感染者 肝纤维化程度的临床价值

戴雯代倩, 李晶晶, 郅玉峰, 叶珺, 邹桂舟

摘要 目的 探讨 FibroTouch 瞬时弹性检测仪无创诊断慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染者肝纤维化程度的临床应用价值。方法 选择接受肝穿刺检查的慢性 HBV 感染者 187 例,所有患者经 FibroTouch 检测肝脏硬度值(LSM),同时检测肝功能和血常规等血清学指标,以肝穿病理结果作为金标准,绘制肝脏硬度值受试者工作特征曲线(ROC),计算曲线下面积(AUC)。结果 LSM 随着肝纤维化程度的加重而增加,与肝纤维化分期呈正相关($r_s = 0.678, P < 0.01$)。LSM 与白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、血浆凝血酶原时间(PT)、血小板(PLT)和乙肝表面抗原(HBsAg)水平均有一定的相关性($P < 0.05$)。在不排除 $ALT \geq 2 \times$ 正常值上限(ULN)的病例组中,FibroTouch 诊断慢性 HBV 感染者显著肝纤维化期、严重肝纤维化期和肝硬化期的受试者工作曲线下面积(AUROC)分别为 0.815、0.884、0.920;对应的最佳截断值分别为 7.55、10.15、15.25 kPa;灵敏度分别是 79.2%、83.3%、90.5%;特异度分别为 74.7%、87.2%、89.2%;符合率分别为 77.0%、86.1%、89.3%。在 $ALT < 2 \times$ ULN 的病例组中,FibroTouch 诊断慢性 HBV 感染者显著肝纤维化期、严重肝纤维化期和肝硬化期的灵敏度和特异度与全部患者组相比无显著差异。结论 FibroTouch 瞬时弹性成像无创诊断肝纤维化程度具有很好的临床应用价值,值得临床进一步推广。

关键词 乙型肝炎病毒;肝纤维化;瞬时弹性成像;无创诊断
中图分类号 R 512.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)09-1338-05

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染在我国发病率高,但起病隐匿,不易早期发现。早期诊断及无创性、量化诊断肝纤维化对及时干预和逆转慢性 HBV 感染者的病情发展具有重要临床意义^[1]。瞬时弹性成像技术作为无创诊断肝纤维化的一项革命性进展,对肝纤维化评估有较高的

灵敏度及特异度,有助于定量评价肝脏疾病进展情况^[2]。法国 Echosens 公司研发的 FibroScan 瞬时弹性成像仪采用剪切波技术,通过测量肝脏硬度值对肝纤维化进行无创定量诊断,在国内已应用于临床。中国海斯凯尔公司研发的新一代瞬时弹性检测仪 FibroTouch 是在二维影像技术定位的基础上进行肝脏硬度值测定,目前也开始投入临床,其临床价值仍需进一步评估。FibroTouch 评估肝纤维化的阈值主要是参考 FibroScan 的标准,且国内外报道结果不一致。该研究通过对接受肝穿刺检查的患者同时进行 FibroTouch 瞬时弹性成像检查,以评估其无创诊断肝纤维化的临床价值。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2014 年 2 月~2015 年 9 月在肝病科住院接受肝穿刺检查的慢性 HBV 感染者 187 例,其中男 138 例,女 49 例,年龄 13~67(39.79 ± 11.66)岁。所有入组患者符合 2000 年《病毒性肝炎防治方案》诊断标准^[3]。受试者入选标准:①未进行抗病毒治疗;②在进行血生物化学检测前 1 个月内未服用各种降酶药;③谷丙转氨酶小于 250 U/L。受试者排除标准:①合并其他病毒性肝炎、自身免疫性肝病和遗传代谢性肝病、酒精性肝病;②肝硬化失代偿期的患者;③右上腹近期有创口未愈合者;④右肝有各种占位性肿瘤、巨大囊肿者。

1.2 血清学指标及影像学检查 所有患者在肝穿当天早晨空腹采血送检相关生化指标。采用美国 Beckman LH750 血球分析仪进行血常规检测;美国 Beckman 全自动生化仪及其试剂检测肝功能。采用实时荧光定量 PCR 法检测 HBV-DNA(上海复生生物高科技有限公司试剂),最低下限为 500 copies/ml;采用罗氏化学发光法检测乙肝五项定量(罗氏诊断有限公司试剂);患者均接受肝胆胰 B 型超声或 CT 检查。

1.3 FibroTouch 检测及结果判定 FibroTouch 购自无锡海斯凯尔医学技术有限公司。患者取仰卧

2016-04-14 接收

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金(编号: KJ2014A107)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院肝病科,合肥 230601

作者简介:戴雯,女,硕士研究生;

邹桂舟,男,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail:

ayzouguizhou@sina.com

位,右手置于脑后,充分暴露肋间隙,选择右腋中线与右腋前线间的7~9肋间隙进行检测。检测时探头需要保持与患者皮肤表面垂直,每位患者进行10次有效测量,系统自动取中位数作为最终肝脏硬度测量(liver stiffness measurement, LSM)值,单位为kPa。操作成功率<60%或偏差大于中位数1/3的检测视为检查无效。

1.4 病理结果判读 肝穿组织标本由两名高年资的病理学医师独立读片,按照2000年全国病毒性肝炎防治方案中的肝纤维化分期方法进行纤维化分级(S分级)标准0~4级;S0:无纤维化;S1:门脉周围纤维化但无纤维分隔;S2:门脉周围纤维化但少量纤维分隔;S3:大量纤维分隔但无肝硬化;S4:肝硬化。

1.5 统计学处理 应用SPSS 17.0统计软件进行分析,计量资料正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态资料采用中位数表示。相关性检验采用Spearman等级相关分析。以肝组织病理检查结果作为金标准,绘制Fibro-Touch无创诊断肝纤维化的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,并计算其特异度(specificity, Sp)、灵敏度(sensitivity, Se)、截断值(cut-off值)、阳性预测值(positive predictive value, PPV)、阴性预测值(negative predictive value, NPV)和符合率 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏硬度值与血清学指标相关性分析 将187例慢性HBV感染患者分别根据年龄、性别、E抗原状态、乙肝病毒脱氧核糖核酸(hepatitis B virus DNA, HBV DNA)、乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)定量、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平、血小板(platelet, PLT)水平分组进行肝脏硬度值的比较,结果显示ALT、AST、PLT和HBsAg定量不同水平分组的组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

2.2 LSM与肝纤维化分期的相关性分析 Spearman等级相关分析显示,肝脏LSM值与肝纤维化分期呈显著正相关($r_s = 0.678, P < 0.01$)。

2.3 FibroTouch诊断各期肝纤维化的ROC曲线

所有患者根据肝纤维化程度高低被分为3组,即显著肝纤维化组($\geq S2$)96例(51.3%),严重肝纤维化组($\geq S3$)54例(28.9%),肝硬化组(S4)21例(11.2%)。以肝穿病理结果作为金标准,绘制各组ROC曲线(图1)。利用ROC曲线对FT检测的肝脏硬度值进行评价,并计算出各组对应的截断值。以7.55kPa为截断值,诊断显著肝纤维化的Se为79.2%,Sp为74.7%,符合率为77.0%;以10.15kPa为cut-off值,诊断严重肝纤维化的Se为83.3%,Sp为87.2%,符合率为86.1%;以15.25kPa为cut-off值,诊断肝硬化的Se为90.5%,Sp为90.1%,符合率为89.3%,见表2。

表1 慢性HBV感染者肝脏硬度值与血清学指标相关性分析

指标	例数	肝脏硬度值	t/F值	P值
性别				
男	138	10.65 ± 4.44	1.33	0.186
女	49	9.28 ± 3.87		
年龄(岁)				
≤40	95	9.48 ± 4.51	1.84	0.068
>40	92	11.14 ± 5.45		
PLT(10 ⁹ /L)				
≤100	31	14.15 ± 6.01	10.28	<0.001
101~200	107	10.39 ± 4.23		
201~300	39	7.64 ± 2.31		
ALT(U/L)				
≤80	130	9.67 ± 4.64	2.47	0.015
>80	57	12.15 ± 5.28		
AST(U/L)				
≤80	150	9.63 ± 4.56	3.34	0.001
>80	35	13.43 ± 5.85		
HBV DNA(Igcopies/ml)				
>6lg	93	10.29 ± 4.38	0.22	0.828
≤6lg	84	10.07 ± 4.26		
HBsAg(IgIU/ml)				
≤20000	127	11.17 ± 4.51	3.30	0.001
>20000	38	7.49 ± 2.82		
E抗原				
阳性	88	10.65 ± 4.78	0.64	0.521
阴性	77	10.03 ± 4.53		

2.4 FibroTouch诊断ALT<2倍正常值上限(ULN)慢性HBV感染者肝纤维化的ROC曲线 在上述病例中选取ALT<2倍ULN的慢性HBV感

表2 FibroTouch无创诊断慢性HBV感染者肝纤维化

组别	n	AUC	95% CI	cut-off值(kPa)	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)	符合率(%)
≥S2	96	0.815	0.753-0.876	7.55	79.2	74.7	76.8	77.3	77.0
≥S3	54	0.884	0.829-0.940	10.15	83.3	87.2	72.6	92.8	86.1
S4	21	0.920	0.841-0.999	15.25	90.5	89.2	51.4	98.6	89.3

染者 145 例。再根据肝脏纤维化程度轻重将慢性 HBV 感染者分成 4 组,即 S0 - S1 级组 86 例,≥S2 级组 59 例,≥S3 级组 32 例,S4 级组 11 例。以肝穿病理结果作为金标准,绘制各组 ROC 曲线(图 2)。利用 ROC 曲线对 FibroTouch 检测的肝脏硬度值进行评价,并计算出各组对应的截断值。以 7.55 kPa 为截断值,诊断显著肝纤维化的 Se 为 79.4%,SP 为 77.8%,符合率为 78.5%;以 10.10 kPa 为截断值,诊断严重肝纤维化的 Se 为 83.5%,SP 为 89.6%,符合率为 86.0%;以 15.25 kPa 为 cut-off 值,诊断肝硬化的 Se 为 93.3%,SP 为 91.6%,符合率为 91.9%,见表 3。

3 讨论

在慢性乙型病毒性肝炎患者中肝脏硬度和肝纤维化程度具有显著的相关性,通过瞬时弹性成像无

创评估肝纤维化程度是近年来的研究热点,也是目前认可度较高的无创诊断肝纤维化设备。研究^[4]显示采用瞬时弹性成像无创检测肝纤维化可以使 50% ~ 60% 的慢性乙型病毒性肝炎患者避免肝脏穿刺活检。FibroScan 自进入临床以来,在多个国家得到广泛应用,对各种病因引起的肝纤维化都具有较好的诊断价值^[5]。中国作为肝病高发地区,推广瞬时弹性成像无创检测肝纤维化具有重要的临床意义。国产的肝纤维化诊断仪 FibroTouch 刚开始投入临床使用,临床价值需要进一步评估。在本研究中,FibroTouch 对 187 例慢性 HBV 感染患者的肝纤维化无创诊断显示了良好的结果,与肝穿组织病理检测相比较,肝纤维化程度 ≥S2、≥S3 和 ≥S4 期的 ROC 曲线下面积分别为 0.815、0.884、0.920,对严重肝纤维化和肝硬化的敏感度和特异度较好,其诊断符合率均在 85% 以上,这与以往报道 FibroScan

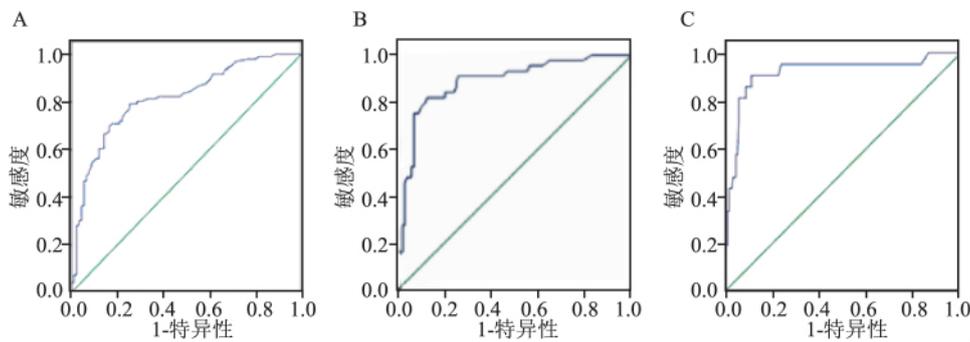


图 1 FibroTouch 诊断慢性 HBV 感染者不同纤维化程度 ROC 曲线

A: 显著肝纤维化; B: 严重肝纤维化; C: 肝硬化

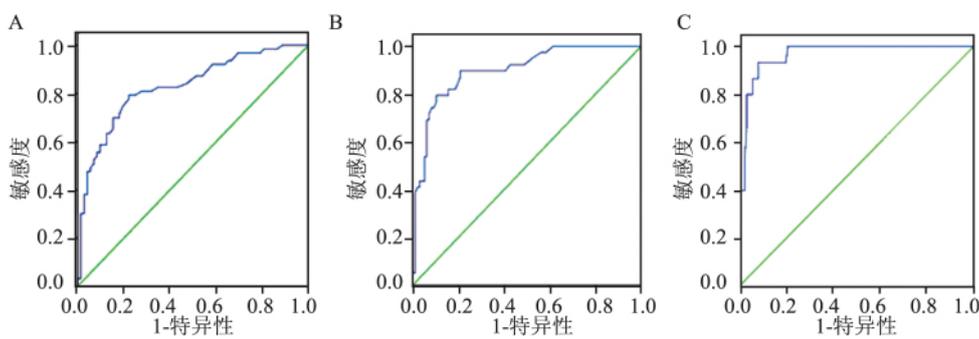


图 2 FibroTouch 诊断 ALT < 2 倍 ULN 的慢性 HBV 感染患者肝纤维化的 ROC 曲线

A: 显著肝纤维化; B: 严重肝纤维化; C: 肝硬化

表 3 FibroTouch 诊断 ALT 小于 2 倍 ULN 慢性 HBV 感染者肝纤维化

分组	例数	AUC	95% CI	cut-off 值 (kPa)	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	符合率 (%)
≥S2	63	0.829	0.766 - 0.903	7.55	79.4	77.8	75.8	81.2	78.5
≥S3	39	0.899	0.846 - 0.953	10.1	83.5	89.6	75.6	89.5	86.0
S4	15	0.963	0.931 - 1.000	15.25	93.3	91.6	58.3	99.1	91.9

设备无创诊断慢性 HBV 感染者肝纤维化的准确性是一致的^[6-7]。另外,针对 ALT 进行分层研究表明,ALT 水平对 Fibrotouch 无创诊断肝纤维化程度准确性的影响较小,当然,这跟入组的患者多为低转氨酶水平有关,高转氨酶水平的患者是否会受到明显影响,则需要扩大样本量进行确认。因此初步推测 FibroTouch 无创检测肝纤维化具有较好的临床价值,可一定程度避免肝脏活组织病理学检查。而且, FibroTouch 进行检测前均由影像探头选择组织相对均匀、厚度合适、无大血管的肝脏区域进行弹性测定有助于结果的稳定性。由于本研究样本量尚不大,可能对结果会有一定影响。本研究中,根据肝穿刺结果得到的每一级纤维化的组织硬度临界值同其它文献相比有一定差异,尤其是 $\geq S4$ 的分界值,这可能是由于样本统计量少所致,有待于扩大样本量研究。本研究表明 FibroTuch 的影响因素与 FibroScan 有相似之处,可能受炎症及腹水等的影响^[8]。

FibroTouch 具有较高的检测成功率和准确性,与目前已经上市的 FibroScan 相比相关性和一致性较好,且操作简便,定位能力和重复性好,具有较低的变异系数,安全方便,因此该技术适合于普及使用。使用具有完全自主知识产权和高性价比的国产肝纤维化诊断仪,将有助于为医院节省成本,降低患者医疗费用,符合卫生经济学要求。

参考文献

- [1] Sharma S, Khalili K, Nguyen G C. Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(45): 16820-30.
- [2] Chon Y E, Choi E H, Song K J, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44930.
- [3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,中华医学会肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案 [J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-9.
- [4] Tsochatzis E A, Gurusamy K S, Ntaoula S, et al. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy [J]. J Hepatol, 2011, 54(4): 650-9.
- [5] Cardoso A C, Carvalho-Filho R J, Marcellin P. Transient elastography in chronic viral hepatitis: a critical appraisal [J]. Gut, 2011, 60(6): 759-64.
- [6] Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, et al. Performance of liver stiffness measurements by transient elastography in chronic hepatitis [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(1): 49-56.
- [7] 欧晓娟,王晓明,吴晓宁,等. FibroTouch 与 FibroScan 在慢性乙型肝炎患者肝纤维化评估中的比较 [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(2): 103-6.
- [8] 韩毓缦,傅妹侠,舒建昌. 影响瞬时弹性成像术检测肝纤维化的相关因素分析 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(3): 264-6.

Clinical application value of FibroTouch noninvasive diagnosis liver fibrosis in chronic HBV infection

Dai Wen, Dai Qian, Li Jingjing, et al

(Dept of Hepatopathy, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To explore the clinical application value of FibroTouch instantaneous elasticity detector in noninvasively diagnosing the degree of liver fibrosis of patients with chronic HBV. **Methods** 187 patients with chronic HBV accepting liver biopsy were selected. The liver hardness value (LSM) was detected by FibroTouch, and liver function and blood routine examination were also detected; the liver-biopsy pathological result was the golden standard. Drew the curve of receiver operating characteristic (ROC) of subject, and calculated the area under the curve (AUC). **Results** LSM increased with the exacerbation of the degree of liver fibrosis, positively related to the liver fibrosis stage ($r_s = 0.678, P < 0.01$). LSM had certain correlation with ALB, GLB, ALT, AST, GGT, PT, PLT and HBsAg level ($P < 0.05$). In the case group not excluding $ALT \geq 2 \times$ upper limits of normal (ULN), AUROC of treating the significant liver fibrosis, serious liver fibrosis and liver cirrhosis of chronic HBV infection using FibroTouch was 0.815, 0.884, 0.920; the corresponding best cutoff value was 7.55 kPa, 10.15 kPa, 15.25 kPa; the sensitivity was 79.2%, 83.3%, 90.5%, respectively; the specificity was 74.7%, 87.2%, 89.2%; the coincidence rates was 77.0%, 86.1%, 89.3%, respectively. In the case group of $ALT < 2 \times$ ULN, the sensitivity and specificity of treating the significant liver fibrosis, serious liver fibrosis and liver cirrhosis

长链非编码 RNA PANDAR 在肾癌中的表达分析及临床意义

金 露^{1,2,3}, 李一帆^{1,2,3}, 何 韬^{2,3}, 胡 佳^{2,3}, 刘家驹^{2,3}, 桂耀庭^{2,3}, 杨尚琪^{2,3}, 毛向明^{2,3}, 来永庆^{2,3}

摘要 目的 检测长链非编码 RNA PANDAR 在肾癌及癌旁组织中的表达水平, 探讨其在肾癌中的临床意义。方法 提取 48 对组织(肾癌及对应癌旁组织)中的总 RNA 经逆转录获得 cDNA 后通过实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)方法检测 PANDAR 表达量, 分析正常组织与肾癌组织中的表达差异, 探讨其表达水平与患者临床特征之间的联系。结果 肾癌组织中 PANDAR 的表达水平明显低于配对癌旁正常组织($P < 0.001$), 标本中共有 38 例(79.17%)肾癌标本 PANDAR 表达下调, 癌组织中 PANDAR 表达与患者 TNM 分期和 AJCC 分级相关, 与患者年龄、性别及肾癌病理类型无明显相关性($P > 0.05$), PANDAR 低表达组患者生存率低于高表达组患者($P < 0.05$)。结论 PANDAR 在肾癌组织中表达明显下调, 且和肾癌 TNM、AJCC 分级和预后相关, 提示其有作为肾癌标志物应用于临床的可能。

关键词 肾癌; 肿瘤分期; 长链非编码 RNA; PANDAR

中图分类号 R 737.11

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)09-1342-04

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)又称肾癌, 是泌尿系统常见的恶性肿瘤, 约占成人恶性肿瘤的 3%^[1]。肾癌对放疗和化疗均不敏感, 手术切除是主要的治疗方式, 但术后复发、转移率极高^[2]。目前在临床尚无可用于肾癌早期诊断或治疗的生物标志物, 因此有必要对肾癌的发生机制进行深入研

究, 以期找到相关肾癌标志物。近年来, 长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)引起了人们的广泛关注。lncRNA 是一类不具有蛋白质编码功能的 RNA, 长度在 200 个核苷酸以上, 一般低于 20 000 个核苷酸^[3]。基因组学的研究^[4]表明, 哺乳动物的基因可以转录出大量不具有蛋白编码功能的 RNA, 有生物活性并在多种疾病中存在异常表达。另外, lncRNA 可在转录、转录后水平调控基因表达^[5]。该研究选择 lncRNA PANDAR(promoter of CDKN1A antisense DNA damage activated RNA)作为研究对象, 探讨其在肾癌中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 组织标本 选取安徽医科大学第一附属医院和北京大学深圳医院手术切除的 48 对肾癌组织及配对癌旁组织, 标本均得到医院医学伦理委员会批准且患者已签署知情同意书。每对标本包括肾癌组织及癌旁正常组织(取自根治性肾切除术距肾癌组织 > 2 cm 的肾组织)各 1 份, 病理切片证实肾癌组织含癌组织 80% 以上, 癌旁组织中无癌组织侵犯。标本切除后保存于 -80 °C 冰箱中备用。患者临床资料完整(表 1), 术后均进行了常规随访。肾癌临床分期参考国际抗癌组织(UICC)/美国癌症联合会(AJCC)2010 年肾癌分期。

1.2 RNA 提取 在液氮下碾磨标本组织, 加入 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司), 说明书所述提取肾癌标本组织中的总 RNA, 使用 ND-2000/2000c 紫外分光光度计测定其浓度, 提取后的总 RNA 保存于 -80 °C 冰箱。

1.3 逆转录 根据 RNA 反转录试剂 PrimeScript™ RT reagent Kit(日本 TaKaRa 公司)说明书所述, 取

2016-05-04 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81101922); 深圳市科技研发资金知识创新计划基础研究项目(编号: JCYJ20150403091443304); 广东省重点医学专科经费

作者单位: ¹安徽医科大学第二临床医学院, 合肥 230032

²北京大学深圳医院泌尿外科, 深圳 518036

³广东省男性生殖与遗传重点实验室, 深圳 518036

作者简介: 金 露, 男, 硕士研究生;

来永庆, 男, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yqlord@163.com

of chronic HBV infection using FibroTouch had no significant difference compared to the patient group. **Conclusion**

FibroTouch instantaneous elasticity imaging has high clinical application value in noninvasively diagnosing the degree of liver fibrosis, worth further clinical promotion.

Key words hepatitis B virus; liver fibrosis; FibroTouch; noninvasive diagnosis worth further clinical promotion