

超声弹性成像参数联合ACSL1表达在乙肝肝纤维化诊断的应用研究

兰 什¹, 王逸群², 李 雪², 武林松¹, 潘 檀^{3*}

(1. 阜阳市人民医院 超声科, 安徽 阜阳 236000; 2. 阜阳市人民医院 检验科, 安徽 阜阳 236000;
3. 阜阳市人民医院 骨科, 安徽 阜阳 236000)

【摘要】目的 研究超声弹性成像联合ACSL1在乙肝肝纤维化诊断效果。方法 选取2019年1月至2022年12月阜阳市人民医院临床诊断为慢性乙型肝炎患者共40例为观察组, 同期招募40例健康志愿者为对照组, 使用STE/STQ弹性成像检测, 肝脏穿刺活检, 血液检测PLT、ALT、AST、GGT、乙肝5项、HBV-DNA, 肝纤维组织ACSL1表达量, 基于ROC准则的线性组合模型来验证超声弹性成像参数联合ACSL1表达效果。结果 肝活检病理诊断:F₀:40例;F₁:5例;F₂:7例;F₃:17例;F₄:11例;根据STE/STQ的测值, 以及ALT的测值分级F₁:6例;F₂:9例;F₃:15例;F₄:10例;F₀为正常对照组肝组织, F₁为5.9倍, F₂为20.8倍, F₃为33.7倍, F₄为41.5倍(P<0.05), 组间具有统计学意义。实验证明, ACSL1表达与肝纤维化程度成正比。结论 通过结合SWE弹性成像图像与ACSL1表达可以提高乙肝肝纤维化的诊断。

【关键词】超声弹性成像; 联合ACSL1; 乙肝肝纤维化

中图分类号: R376.3

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2023)04-0370-04

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是由乙型肝炎病毒感染肝细胞的一种传播性炎症, 肝细胞被感染时, 肝组织出现反复损伤再修复, 引起肝纤维化, 最终发展为肝硬化, 甚至肝细胞癌, 当肝硬化一旦出现, 病情将不可逆转^[1]。在组织学分析上, 肝纤维化在早期具有一定程度的可逆性^[2], 所以肝纤维化阶段对于治疗慢性乙肝引起的肝炎过程中显得尤其重要。目前肝纤维化确诊金标准是肝组织穿刺活检^[3], 肝组织穿刺活检是一种有创检查, 同时需要在超声引导下进行精准穿刺, 对环境要求严格, 技术要求过高, 如何寻找一种创伤小、简便的诊断方法是目前临床确诊肝纤维化的迫切需求。本研究通过对肝纤维化患者的弹性超声成像结合肝组织的目的靶向基因的检测, 结合血清标志物来探讨该技术在肝纤维化分期评估诊断的应用价值。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2022年12月阜阳市人民医

院临床诊断为慢性乙型肝炎患者(标准参照《2022版慢性乙型肝炎防治指南》^[4])共40例作为研究组。

纳入标准:(1)同意行超声引导下肝脏穿刺活检;(2)乙肝表面抗原(+)持续时间>6个月;(3)近1年内未接受过抗纤维化或抗病毒治疗。

排除标准:(1)非酒精性脂肪性、酒精性、药物性、自身免疫性或其他病毒感染性肝损伤病史;(2)肝脏移植病史;(3)其他恶性肿瘤病史;(4)妊娠期及哺乳期妇女。

另招募40例健康志愿者为对照组。签署知情同意书。

1.2 STE/STQ检测

应用声触诊弹性成像技术(迈瑞公司, 型号: Resona7T)检测获得。探头选用SC6-1凸阵探头(频率1~6MHz)。受试者空腹2h以上, 仰卧位扫查, 手举过头充分打开肋间隙, 检测点选择第7~9肋间, 腋前线至腋中线的范围, 避开肺组织和肝内大血管, 肝实质显示清晰, 取样框置于包膜下约1cm处, 测量时嘱患者屏气, 单次检测成功标志: 感兴趣区(region of interest, ROI)内彩色充盈均匀, 无异常区域,

收稿日期: 2022-04-21; 修回日期: 2023-07-02

基金项目: 2021年蚌埠医学院自然科学基金项目(2020yzd352)

第一作者: 兰什(1987—), 男, 本科, 主治医师。研究方向: 超声医学。E-mail: ls1987012023@163.com

*通信作者: 潘檀, 男, 本科, 主任医师。研究方向: 骨科关节及创伤。E-mail: pantan@163.com

可信度指数 $\geq 95\%$,连续有效检测10次,取中位数作为最终结果。以上操作均由接受过专业培训的同一名操作师完成。STE诊断标准:测值 < 7.3 为 F_0 正常,7.3~9.7为 F_1 轻度纤维化,9.7~12.4为 F_2 显著性肝纤维化,12.4~17.5为 F_3 进展期肝纤维化, > 17.5 为 F_4 肝硬化。

1.3 肝脏穿刺活检

行超声引导下经皮肝脏穿刺术,选用16 G全自动活检针取组织条3条,每条长度约1 cm,标本经10%福尔马林溶液固定后交病理科制作切片并评估肝脏纤维化分期, F_0 :无纤维化; F_1 :轻度,无纤维间隔; F_2 :中度,少量纤维间隔; F_3 :重度,大量纤维间隔形成,无肝硬化; F_4 :肝硬化早期,弥漫性纤维增生,假小叶形成。

1.4 血液检测

血常规检测、血小板(PLT)采用迈瑞7500 cs检测;血清生化标志物:谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)采用迈瑞5600全自动生化分析仪检测;乙肝5项:乙肝表面抗原HBsAg、乙肝表面抗体HBsAb、乙肝e抗原HBeAg、乙肝e抗体HBeAb、乙肝病毒核心抗体HBcAb采用西斯美康免疫化学发光仪器;PCR检测:乙肝病毒定量(HBV-DNA)采用圣湘abi7500检测。

表2 一般临床资料

	F_0	F_1	F_2	F_3	F_4
年龄(岁)	45.71 \pm 24.42	45.12 \pm 7.24	46.71 \pm 8.41	45.62 \pm 11.12	47.87 \pm 9.91
性别(M/F)	28/12	3/2	5/2	12/5	7/4
GGT(mmol/L)	35.51 \pm 19.52	37.89 \pm 25.12	39.58 \pm 29.10	45.61 \pm 29.87	40.19 \pm 24.15
ALT(mmol/L)	24.55 \pm 14.62	35.61 \pm 16.26	36.56 \pm 16.91	50.21 \pm 17.51	48.61 \pm 13.60
AST(mmol/L)	26.68 \pm 9.61	31.51 \pm 10.66	31.79 \pm 11.60	39.18 \pm 21.61	40.13 \pm 29.99
PLT($10^9/L$)	224 \pm 91	227 \pm 101	229 \pm 118	180 \pm 71	174 \pm 91

2.2 超声弹性成像肝纤维化分级

根据STE/STQ的测值,以及ALT的测值,对两组受试者肝纤维化分级(见图1、图2及表3)。

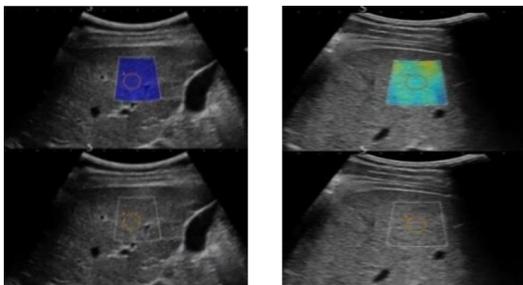


图1 正常肝组织弹性图像 图2 肝纤维化硬度增加后图像

2.3 两组肝纤维组织ACSL1表达量

2.3.1 临床肝纤维组织ACSL1溶解曲线表明qRT-

1.5 qRT-PCR检测

采用广州瑞博生物公司设计合成与供给(见表1)。

表1 引物设计

基因	PCR引物序列(5'-3')
Acs1l	Forward primer: CCTTCCAACCAACACACTCAT Reverse primer: ATCTTCGGACACCCCTCAGTAGT
ACSL1	Forward primer: CAGGATGGGCAAAGAATAGAG Reverse primer: TTTCAGTGTGGTGTGAGGAG
GAPDH	Forward primer: ACAGCAACAGGGTGGTGGAC Reverse primer: TTTGAGGGTGCAGCGAACTT

1.6 统计学方法

应用SPSS 27.0软件进行统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以例(%)表示,基于ROC准则的线性组合模型的数据处理及结果分析探讨SWE弹性成像与ACSL1的表达水平的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料

肝活检病理诊断: F_0 :40例; F_1 :5例; F_2 :7例; F_3 :17例; F_4 :11例(见表2),两组年龄差异无统计学意义。

表3 肝超声弹性成像纤维化分级

分期	病理分级	弹性分级
F_0	40	40
F_1	5	6
F_2	7	9
F_3	17	15
F_4	11	10

PCR未出现污染现象,实验结果可信。

2.3.2 两组ACSL1相对表达量 F_0 为正常对照组肝组织, F_1 为5.9倍, F_2 为20.8倍, F_3 为33.7倍, F_4 为41.5倍,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。实验证明,ACSL1表达与肝纤维化程度成正比。

2.4 基于ROC准则的线性组合模型

基于ROC准则及无协方差矩阵约束的最佳线性组合,可得出 $Linear = 3.851 \times \ln(SWE) + 0.367 \times \ln$

(ACSL1) $F \geq 1$ 。测试结果表明,基于ROC准则的线性组合模型(SWE+ACSL1)92.4%有无中度纤维化患者($F \geq 1$),高于单一方法SWE(76.61%)和ACSL1(83.74%)。

3 讨论

肝是人体重要的三大营养代谢的中枢,蛋白质、脂肪及糖代谢都跟肝脏有关,当代谢途径出现问题之后,肝脏会产生病变。目前肝病分类较多,不同类型的肝病发病机制不同,慢性肝损伤都会朝着肝纤维化趋势发展^[5],因为肝脏的代偿能力很强,再生能力很强。目前肝病主要分以下几大类,通过感染传播途径的病毒性型肝炎,脂肪代谢出现障碍使脂肪堆积的非酒精性脂肪性肝病,酒精性肝病,蛋白质导致自身免疫系统攻击的自身免疫性肝病。目前肝细胞慢性炎症主要有乙型肝炎病毒感染肝细胞的一种传播性炎症,肝细胞被感染时,肝组织出现反复损伤再修复,引起肝纤维化,最终发展为肝硬化,甚至肝细胞癌,当肝硬化一旦出现,病情将不可逆转。肝纤维化是肝细胞在各类慢性肝损伤性疾病进展过程中出现的过度组织修复,是各类慢性肝病发展为恶性结局的必经之路,亦是恶性肝病的早期预警^[6]。在肝纤维化阶段,在一定程度上组织学分析是可逆的,所以肝纤维化阶段对于治疗慢性乙肝引起的肝炎过程中显得尤其重要。

超声是目前肝脏检查的首选方法,常规超声对肝脏形态、回声、血供及周围组织情况均能较好显示,通过彩色多普勒超声半定量评分来评估肝纤维化,超声一般从肝包膜、肝脏回声、肝内血管、肝内韧带、胆囊壁及脾脏等8个维度对肝进行评分,总分23分,得分越高则表示病变越重^[7]。超声弹性成像技术是一种无创的超声新技术,其原理是通过剪切波传播速度换算为组织硬度信息,是定量检测肝脏硬度的新方法。目前,超声弹性成像技术很多,比如瞬时弹性成像、声脉冲辐射力弹性成像以及剪切波成像等等,本研究采用剪切波成像技术,与瞬时弹性成像技术不同的是,前者二维图像和弹性图像可以双幅同时显示,并可以获取面式剪切波(STE)和点式剪切波(STQ)两组数据,检测成功率高,可信度指数100%,弹性图像满意^[8]。后者要配备专用的探头,无二维成像功能、易受肝脏炎症、腹水等因素影响。

目前肝纤维化确诊金标准是肝组织穿刺活检,肝组织穿刺活检是一种有创检查,同时需要在超声

引导下进行精准穿刺,对环境要求严格,技术要求过高,如何寻找一种无创简便的诊断方法是目前临床确诊肝纤维化的迫切需求。目前肝纤维无创诊断主要在于影像学检查结合靶向标志物的方式,对肝纤维化的分期进行明确的诊断。本研究通过对肝纤维化患者的血液学检测发现 F_1 、 F_2 期的患者在年龄、性别、ALT、AST、GGT、PLT等一系列指标上与健康体检人群 F_0 期差异无统计学意义($P > 0.05$)。原因可能是在 F_1 期肝组织是在汇管区内出现纤维化组织,仅局限于窦周及小叶内, F_2 期是汇管区周围出现纤维组织,间隔形成,小叶内泛纤维化,小叶结构完整。肝组织在此期间代偿足够,且可以通过改善肝纤维化诱因,中止肝纤维化因素来逆转肝纤维化,在此期间肝功能并无受损。 F_3 、 F_4 期在年龄、性别、ALT、AST、GGT、PLT、等一系列指标上高于 F_1 、 F_2 期,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。原因可能是 F_3 期小叶结构发生变化,紊乱及肝功能受损,肝组织已经出现代偿反应,此时如果及时降低乙肝病毒数量,同时进行护肝治疗,肝纤维化可能会恢复。 F_4 已经是肝纤维化早期,肝内结构混乱,此时已经不可逆,且部分炎性因子分泌减少,肝功能比 F_3 期略微恢复。

目前大量研究表明^[9],miR-34a是一个肿瘤抑制因子,其位于1号染色体p36.23,miR-34a在肝癌组织中出现低表达,有研究发现miR-34a在肝纤维化组织中出现高表达,ACSL1是miR-34a的靶向目的基因,如果在肝纤维化的过程中,肝产生一些因子保护肝细胞,那就说明肝纤维化其实是肝对慢性炎症的一种保护性措施,肝组织在持续释放ACSL1因子,导致下游过度应答,从而使肝脏过度修复,导致肝纤维化的发生。本研究发现ACSL1在正常健康人群无肝纤维化 F_0 期轻微表达,以 F_0 为基数, F_1 为5.9倍, F_2 为20.8倍, F_3 为33.7倍, F_4 为41.5倍, $P < 0.05$ 组间差异具有统计学意义。实验证明,ACSL1表达与肝纤维化程度成正比。本研究基于ROC准则及无协方差矩阵约束的最佳线性组合,可得出 $Linear = 3.851 \times \ln(SWE) + 0.367 \times \ln(ACSL1)$ $F \geq 1$ 。测试结果表明,基于ROC准则的线性组合模型(SWE+ACSL1)92.4%有无中度纤维化患者($F \geq 1$),高于单一方法SWE(76.61%)和ACSL1(83.74%)。相比于单个指标,SWE弹性成像联合ACSL1更具有诊断优势,可以提高乙肝肝纤维在临床上的无创诊断性能。本研究由于样本较少,需要结合多中心和多因素临床模型验证是否能代替肝组织活检来诊断乙

肝纤维化的分期。

综上所述,通过结合SWE弹性成像图像与AC-SL1表达可以提高乙型肝炎纤维化的诊断,有望在临床推广。

参考文献

- [1]梁萍,于杰.肝病超声诊断指南[J].临床肝胆病杂志,2021,37(8):1770-1785+1993-1994
- [2]张文富,王振常.中医药治疗肝纤维化分子机制的研究概况[J].中华中医药学刊,2022,40(12):119-124
- [3]黄江水,文建荣,宋国军,等.MRI-PDF降低对非酒精性脂肪性肝病肝纤维化预测研究[J].影像研究与医学应用,2022,6(23):69-71
- [4]尤红,王福生,李太生,等.慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)[J].实用肝病杂志,2023,26(3):457-478

- [5]陈端珍.超声检查对CHB患者肝纤维化的诊断价值[J].大理大学学报,2017,2(10):63-66
- [6]陈玮钰,覃小宾,乐滢玉,等.巨噬细胞极化在非肿瘤性肝脏疾病中的作用机制及其靶向治疗[J].临床肝胆病杂志,2022,38(11):2649-2653
- [7]赵旦波,林义,张敏青.彩色多普勒超声半定量评分在乙型肝炎纤维化诊断的应用价值[J].江苏医药,2023,49(1):26-30
- [8]骆浪,何伟,张磊.miR-34a在骨肉瘤患者血清中的表达及在诊断和预后中的价值[J].实用骨科杂志,2021,27(3):224-227+234
- [9]Chang YS, Bo L, Xian PG, et al. miR-34a/Notch/b mediated autophagy and apoptosis contrtoutes to oxidatiue stress amelioration by emotion in the in the intestine of teleost megalobrama amblycephala[J].Aguaculture, 2022, 547

(上接第356页)

前,NO、MDA水平低于治疗前,且联合组SOD水平高于西药组,NO、MDA水平低于西药组。这提示,温阳益气活血汤可减少心肌细胞的凋亡,分析原因可能为当归可养气、补血、活血、通脉、散瘀;玄参长于益气、凉血、化痰,二者具有养血和气而生新之功。

综上所述,在常规西药治疗基础上,联合温阳益气活血汤治疗HFpEF,能够有效改善患者机体氧化应激与心肌功能,抑制心肌重塑,安全性极高,值得临床推广。

参考文献

- [1]何健,赵世华,陆敏杰.心脏MRI在射血分数保留型心力衰竭中的应用进展[J].中国医学影像技术,2021,37(7):1086-1089
- [2]王玉,詹侠,邓燕.基层医院慢性心力衰竭患者生活质量调查及影响因素分析[J].全科医学临床与教育,2021,19(5):476-477+480
- [3]黄钰婷,张恺,苏菁,等.射血分数保留型心力衰竭与微血管内皮炎症[J].临床心血管病杂志,2021,37(6):512-515
- [4]王月峰,张其相,岳永焕.美托洛尔与曲美他嗪治疗老年冠心病心力衰竭的疗效及对患者心功能、心肌重塑和炎症因子的影响[J].临床研究,2021,29(5):81-83
- [5]叶少强,蒋守涛,吴永刚,等.沙库巴曲缬沙坦钠对急性心肌梗死后慢性心力衰竭患者心功能和血清炎症因子的影响[J].中国现代医生,2022,60(2):37-40
- [6]李刘英,车德亚,颜荟.中西医结合治疗高血压伴射血分数保留心力衰竭患者的临床疗效观察[J].成都医学院学报,2021,16(1):66-69
- [7]刘刃.温阳益气活血汤联合西药治疗对冠心病心绞痛患者血流动力学及心功能的影响[J].内蒙古中医药,2022,41(6):53-54
- [8]曹瑞娟,罗向卫,李远志.益气温阳活血汤辅助治疗冠心病

心力衰竭(心肺气虚兼血瘀型)的效果及对患者BNP,hs-CRP水平的影响[J].内蒙古中医药,2022,41(5):36-37

- [9]中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789
- [10]郑筱萸,中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社,2002:77-85
- [11]赵林丹,王汉卿,赵志强,等.射血分数正常心力衰竭的中医诊疗进展[J].中华中医药杂志,2022,37(6):3343-3345
- [12]瞿凯,邱菊辉,王贵学.血管内皮细胞屏障功能的血流动力学调控及其与动脉粥样硬化的关系[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(1):1-6
- [13]Zuchi C, Tritto I, Carluccio E, et al. Role of endothelial dysfunction in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2020, 25(1): 21-30
- [14]Kura B, Szeiffova BB, Kalocayova B, et al. Oxidative stress-responsive microRNAs in heart injury[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(1): 358
- [15]张南龙,江丹娜,苏琼,等.老年射血分数正常心力衰竭患者贫血的临床特点及中医证候分析[J].光明中医,2021,36(11):1733-1736
- [16]Tual CS, Garcia CM, Redgrave RE, et al. Loss of endothelial endoglin promotes high-output heart failure through peripheral arteriovenous shunting driven by VEGF signaling[J]. Circ Res, 2020, 126(2):243-257
- [17]Ajaero CN, Procter NEK, Chirkov YY, et al. Endothelial dysfunction and glycocalyx shedding in heart failure: insights from patients receiving cardiac resynchronisation therapy[J]. HeartVessels, 2020, 35(2): 197-206
- [18]李花,苏日古格,包泽阳,等.心力衰竭蒙医寒证热证模型的建立方法及其评价[J].内蒙古医科大学学报,2022,44(05):462-465+470