

血清甲胎蛋白评估慢性乙型肝炎患者肝脏显著炎症的临床应用

杨凯, 管世鹤, 张浩, 吴园园

摘要 目的 探讨血清甲胎蛋白(AFP)在评估慢性乙型肝炎(CHB)患者肝脏显著炎症(炎症活动度 $G \geq 2$)的临床应用价值。方法 选取165例CHB患者为研究对象,分为3组:G0/1组77例、G2组56例、G3/4组32例,分析各组血清甲胎蛋白(AFP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、总胆红素(TBIL)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)和 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GGT)等肝功能指标。各组均数比较采用Mann-whitney和Kruskal-Wallis检验,二项多元Logistic回归分析患者各指标与肝脏炎症关系,同时运用Spearman相关分析AFP与ALB、GLB、ALT、AST、ALP、 γ -GGT和TBIL等肝功能指标的相关系数,以受试者工作特征曲线(ROC)评估AFP、ALT、AST和 γ -GGT在诊断肝脏显著炎症的敏感性和特异性。结果 G0/1组AFP含量为1.64(1.28~1.86)ng/ml,G2组为4.27(2.69~9.45)ng/ml,G3/4组为7.83(3.72~14.28)ng/ml,3组间AFP含量差异有统计学意义($P < 0.001$)。CHB患者血清AFP含量与GLB、TBIL、ALT、AST、ALP和 γ -GGT等指标均呈正相关性(ρ 分别为0.291、0.261、0.310、0.538、0.253、0.546, P 均 < 0.001),而与ALB呈负相关性($\rho = -0.278$, $P < 0.001$)。血清AFP含量是CHB患者肝脏显著炎症的独立预测因素($P < 0.001$,95%可信区间:1.415~2.692)。当AFP、ALT、AST和 γ -GGT指标在评估CHB肝脏显著炎症时,AFP曲线下面积最大(0.923),其cut-off值为2.08ng/ml,敏感性、特异性分别为89.8%和88.3%。结论 血清AFP在评估肝脏显著炎症的CHB患者具有重要的临床诊断价值。

关键词 甲胎蛋白;乙型肝炎病毒;肝脏炎症;临床应用

中图分类号 R 512.6+2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)07-1146-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.07.029

2010年我国《慢性乙型肝炎防治指南》推荐肝脏显著炎症(炎症活动度 $G \geq 2$)的乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者应立即行抗病毒治疗^[1]。

肝穿刺组织学检查是判断肝脏炎症活动度的“金标准”,用于监测疾病进展、判断预后以及治疗应答。然而,肝活检有创性限制了其在临床广泛应用。谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)是临床常用评估肝脏炎症的肝功能指标,然而国内学者研究显示,ALT并非反映全部CHB患者肝脏炎症活动度的灵敏指标^[2]。甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是一种由胚胎期肝细胞或卵黄囊合成的 α -球蛋白,作为诊断原发性肝癌的肿瘤标志物具有较高特异性和敏感性。病毒性肝炎患者血清AFP含量改变与由肝脏损伤及修复再生密切相关,并可作为预测肝脏疾病进展、预后和抗病毒疗效评估指标。研究^[3]显示,CHB患者血清AFP含量与肝脏炎症活动度呈正相关,具有评估CHB肝脏炎症活动度的潜在临床价值。然而,关于AFP能否用于临床评估CHB患者肝脏炎症活动度目前尚不清楚。该研究拟探讨CHB患者血清AFP与肝功能指标关系,并进一步探索AFP对CHB患者肝脏显著炎症评估的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择2015年1月~2017年12月在安徽医科大学第二附属医院就诊且行肝脏穿刺检查的CHB患者165例,其中男116例,女49例,年龄18~60(36.97 \pm 12.40)岁。依据肝脏炎症分为以下3组:G0/1组77例、G2组56例和G3/4组32例。CHB患者诊断及其肝脏炎症疾病活动度分级标准参照中华医学会传染病与寄生虫病学分会和肝病学会制订的《病毒性肝炎防治方案》^[4]。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 电化学发光分析仪(型号:E601)购自瑞士Roche公司;全自动生化分析仪(型号:AU5800)购自美国Beckman Coulter公司;荧光定量PCR仪(型号:MX3000P)购自美国Agilent公司;化学发光免疫分析仪(型号:ARCHITECT i2000SR)购自美国Abbott公司。HBV-DNA检测试剂盒购自上海复星长征医学科学有限公司;化学发光免疫分析试剂购自瑞士Roche公司;生化分析试剂购自美

2019-04-08 接收

基金项目:安徽省教育厅省级教学质量工程项目(编号:2016jxtd059)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院检验科,合肥 230601

作者简介:杨凯,男,主管技师;

管世鹤,男,教授,主任技师,博士生导师,责任作者,E-mail: shiheguan@126.com

表1 不同肝脏炎症活动度 CHB 患者肝功能指标分析

项目	n	ALB(g/L)	GLB(g/L)	TBIL(μ mol/L)	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	ALP(IU/L)	γ -GGT(IU/L)
G0/1	77	43.00 (39.50~45.95)	25.70 (22.75~29.40)	12.10 (9.90~16.80)	34.00 (22.50~56.50)	31.00 (25.50~43.00)	83.00 (69.00~97.00)	22.00 (16.00~29.00)
G2	56	40.95 (37.93~44.40)	28.50 (25.03~31.53)	15.40 (10.53~19.70)	67.00 (38.25~145.50)	49.50 (35.00~100.75)	101.00 (83.00~131.75)	42.00 (25.25~82.00)
G3/4	32	39.10 (35.43~42.60)	29.83 (25.93~35.73)	16.24 (11.95~28.15)	76.00 (44.00~255.75)	60.00 (34.25~148.75)	107.00 (74.50~122.00)	68.50 (42.25~114.75)
χ^2 值		10.682	8.331	6.216	11.368	17.573	10.225	19.482
P值		<0.001	<0.001	0.031	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

国 Beckman Coulter 公司; 化学发光免疫分析试剂购自美国 Abbott 公司。

1.2.2 标本采集 所有研究对象空腹采集静脉血, 全血标本经 3 000 r/min 离心 10 min 后, 分离血清用于后续指标分析。

1.2.3 研究对象肝功能与病毒学分析 Roche E601 电化学发光分析仪检测血清 AFP 水平, Beckman AU5800 全自动生化分析仪检测血清白蛋白 (albumin, ALB)、球蛋白 (globulin, GLB)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、ALT、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 和 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -glutamyl-transferase, γ -GGT) 水平, Agilent MX3000P 荧光定量 PCR 仪检测血清 HBV-DNA 水平, Abbott Architect i2000 化学发光免疫分析仪检测血清 HBsAg 和 HBeAg 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS for Windows 17.0 软件对数据进行正态性检验, 偏态分布数据以中位数表示, 两组或多组数据的比较分别采用 Mann-Whitney 检验和 Kruskal-Wallis 检验, 不同指标间相关系数运用 Spearman 相关性分析, 肝脏显著炎症的预测指标采用二项多元 Logistic 回归分析。MedCalc for Windows 16.2 软件分析比较不同指标 ROC 曲线及曲线下面积大小。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHB 患者肝功能指标与肝脏炎症活动度关系

G0/1 组、G2 组和 G3/4 组 CHB 患者肝功能指标 ALB、GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ -GGT 存在组内差异统计学意义 ($P < 0.001$ 、 < 0.001 、 0.031 、 < 0.001 、 < 0.001 、 < 0.001 、 < 0.001)。随着患者肝脏炎症活动度增高, 血清 GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ -GGT 逐渐升高, 而 ALB 则呈下降趋势, 见表 1。

2.2 CHB 患者血清 AFP 含量与肝脏炎症活动度及病毒学指标关系 患者血清 AFP 含量分别为

1.64 (1.28~1.86) ng/ml、4.27 (2.69~9.45) ng/ml 和 7.83 (3.72~14.28) ng/ml。G2 组与 G3/4 组 AFP 含量显著高于 G0/1 组 (P 均 < 0.001)。G3/4 组 AFP 含量显著高于 G2 组 ($P < 0.05$), 见图 1A。HBeAg 阴性和阳性的 CHB 患者血清 AFP 含量差异无统计学意义 ($P = 0.846$), 见图 1B。患者血清 AFP 与 HBV-DNA 及 HBsAg 均无相关性。

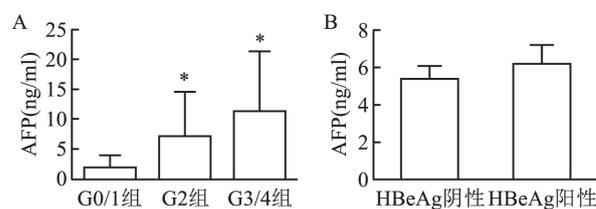


图1 患者血清 AFP 与肝脏炎症活动度及病毒学相关性分析

A: 不同肝脏炎症活动度患者血清 AFP 含量; 与 G0/1 组比较; * $P < 0.05$; B: HBeAg 阴性和阳性患者血清 AFP 含量

2.3 CHB 患者血清 AFP 含量与肝功能指标的相关性分析 患者血清 AFP 与肝功能指标 GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ -GGT 均呈正相关性 (ρ 分别为 0.291、0.261、0.310、0.538、0.253、0.546, ρ 均 < 0.001), 而与 ALB 呈负相关性 ($\rho = -0.278$, $P < 0.001$)。

2.4 AFP 与肝功能指标对 CHB 患者肝脏显著炎症的预测作用分析 以 CHB 患者肝脏显著炎症 $G \geq 2$ 为分类标准, 将 CHB 患者年龄、性别、肝功能指标 (ALB、GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ -GGT) 及 AFP 引入二项多元 Logistic 回归方程。结果显示, 年龄和 AFP 是评估 CHB 患者肝脏显著炎症的独立预测因素 (P 分别为 0.023、 < 0.001 , 95% 可信区间分别为 1.007~1.095, 1.415~2.692), 而性别、ALB、GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ -GGT 等为非独立预测因素 (P 均 > 0.05), 见表 2。

2.5 ROC 曲线分析 AFP 评估 CHB 患者肝脏显著炎症的临床价值 上述结果显示 CHB 患者血清

表2 CHB 患者肝脏显著炎症的预测指标
二项多元 Logistic 回归分析

影响因素	B 值	标准误	P 值	OR 值	95% CI
性别	0.364	0.594	0.540	1.440	0.449 ~ 4.611
年龄	0.049	0.021	0.023	1.050	1.007 ~ 1.095
ALB	-0.059	0.060	0.325	0.942	0.837 ~ 1.106
GLB	0.032	0.052	0.542	1.033	0.932 ~ 1.144
TBIL	-0.058	0.095	0.544	0.944	0.784 ~ 1.137
ALT	-0.003	0.005	0.606	0.997	0.987 ~ 1.008
AST	0.025	0.013	0.061	1.025	0.999 ~ 1.053
ALP	0.018	0.009	0.057	1.018	0.999 ~ 1.037
γ-GGT	0.011	0.011	0.330	1.011	0.989 ~ 1.033
AFP	0.669	0.164	<0.001	1.952	1.415 ~ 2.692

AFP 含量与肝脏炎症活动度及肝功能指标具有相关性,可作为患者肝脏显著炎症的独立预测指标。ROC 曲线分析结果显示,AFP、ALT、AST 和 γ-GGT 评估患者肝脏显著炎症的曲线下面积分别为 0.923 (95% CI: 0.871 ~ 0.959)、0.746 (95% CI: 0.673 ~ 0.811)、0.743 (95% CI: 0.669 ~ 0.808) 和 0.796 (95% CI: 0.726 ~ 0.855), 差异有统计学意义 (P 均 < 0.001)。当 AFP 为 2.08 时,其判断 CHB 患者肝脏显著炎症的敏感性和特异性分别为 89.8%、88.3% 高于 ALT、AST 及 γ-GGT,见图 2、表 3。

3 讨论

CHB 患者肝脏炎症与炎症细胞浸润及细胞因子介导的免疫损伤密切相关,其活动度高低是临床抗病毒治疗主要标准^[5]。传统临床血清肝脏生物化学指标在 CHB 诊断、治疗和病情监测中起着重要

作用。目前,ALT 是临床最常用于判断 CHB 患者肝脏炎症程度的肝功能血清学指标。然而,对于 CHB 患者,血清 ALT 并非是肝脏炎症程度的理想指标,部分患者肝脏炎症活动度与血清 ALT 升高水平并非一致。因此,寻找有效评估 CHB 患者肝脏炎症的血清学标志物具有重要临床意义。

本研究显示,CHB 患者肝功能 GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ-GGT 等指标和 AFP 随着肝脏炎症活动度上升而逐渐升高,且 AFP 含量与患者体内病毒载量及 HBsAg 含量无相关性。其原因可能由于 HBV 感染并不直接导致肝脏炎症发生,而是通过病毒诱导机体免疫系统反应间接产生肝脏免疫损伤^[6]。进一步分析发现,患者血清 AFP 含量与肝脏合成功能指标 ALB 呈负相关性,而与肝脏损伤等指标 GLB、TBIL、ALT、AST、ALP 和 γ-GGT 均呈正相关性,提示 AFP 作为肝脏合成蛋白之一,能较全面反映 CHB 患者肝功能改变。AST 存在于肝细胞线粒体中,其升高临床常见于较严重肝脏损伤^[7]。研究表明,患者血清 AFP 与 AST 及 γ-GGT 相关性均高于其他肝功能指标,据此推测:CHB 患者血清 AFP 含量很可能与肝脏显著炎症(炎症活动度 G ≥ 2) 相关。通过将性别、年龄和肝功能等指标与 AFP 引入二项多元 Logistic 回归方程,发现 AFP 和年龄是 CHB 患者肝脏炎症活动度 G ≥ 2 的独立预测因素,表明 AFP 具有评估该 CHB 患者肝脏显著炎症的潜在临床价值。ROC 是评估生物指标诊断价值的重要统计方法^[8],运用 ROC 曲线评估 AFP、ALT、AST 和 γ-GGT 诊断 CHB 患者肝脏显著炎症的临床

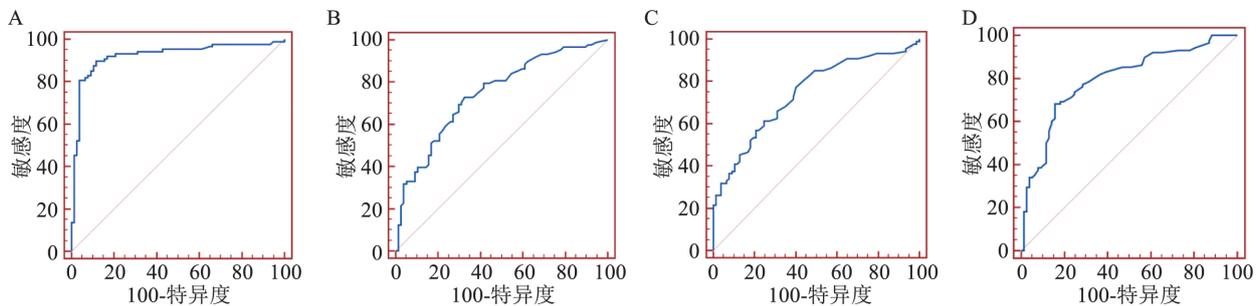


图2 不同指标评估 CHB 患者肝脏显著炎症的 ROC 曲线
A: AFP; B: ALT; C: AST; D: γ-GGT

表3 AFP、ALT、AST 与 γ-GGT 评估 CHB 患者肝脏显著炎症的 ROC 分析

指标	敏感性(%)	特异性(%)	Cut-off	曲线下面积	95% CI
AFP	89.8	88.3	2.08	0.923	0.871 ~ 0.959
ALT	72.7	67.5	43	0.746	0.673 ~ 0.811
AST	73.7	59.7	34	0.743	0.669 ~ 0.808
γ-GGT	68.2	84.4	36	0.796	0.726 ~ 0.855

价值。分析结果显示,AFP 评估 CHB 患者肝脏炎症活动度 $G \geq 2$ 的曲线下面积为 0.923,其诊断价值优于目前临床常用的肝脏炎症指标 ALT、AST 和 γ -GGT。cut-off 值为 2.08 ng/ml,AFP 诊断敏感性和特异性分别为 89.8% 和 88.3%,表明 AFP 能作为肝脏炎症活动度 $G \geq 2$ 较为可靠指标之一。

总之,本研究显示,对于肝脏显著炎症的 CHB 患者,血清 AFP 含量不仅是独立预测因素,而且较临床生物化学肝功能指标具有更高的诊断准确性。其检测方法简便、快速,经过多中心和大样本的验证研究,有望成为诊断 CHB 患者肝脏显著炎症的血清学指标之一。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中华传染病杂志,2011,29(2):65-80.
- [2] 管子姝,郜玉峰,代倩,等.中性粒细胞与淋巴细胞比值对

- ALT 小于 2 倍正常值上限的慢性乙型肝炎病毒感染患者肝脏炎症的诊断价值[J].安徽医科大学学报,2017,52(4):550-3.
- [3] Lee I, Huang Y, Chan C, et al. Correlation between clinical indication for treatment and liver histology in HBeAg-negative chronic hepatitis B: a novel role of alpha-fetoprotein[J]. *Liver Int* 2010, 30(8):1161-8.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝病杂志,2000,8(6):324-9.
- [5] He D, Li M, Guo S, et al. Expression pattern of serum cytokines in hepatitis B virus infected patients with persistently normal alanine aminotransferase levels[J]. *J Clin Immunol* 2013, 33(7):1240-9.
- [6] Wang L, Zou Z Q, Wang K, et al. Role of serum hepatitis B virus marker quantitation to differentiate natural history phases of HBV infection[J]. *Hepatol Int* 2016, 10(1):133-8.
- [7] 梁之祥,王振征,蔡森,等.成人获得性风疹患者肝功能损害的病理及临床观察[J].中华肝病杂志,2009,17(7):540-3.
- [8] Zweig M H, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine [J]. *Clin Chem*, 1993, 39(4):561-77.

Clinical application of serum alpha fetoprotein for assessment of liver significant inflammation in patients with chronic hepatitis B

Yang Kai, Guan Shihe, Zhang Hao, et al

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

Abstract Objective To explore the clinical application of serum alpha fetoprotein (AFP) for assessment of liver significant inflammation (inflammation activity $G \geq 2$) in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** 165 patients with chronic hepatitis B were selected from the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, and divided into three groups: 77 patients in G0/1 group, 56 patients in G2 group and 32 patients in G3/4 group. Serum AFP level and liver function indexes were determined by clinical laboratory instruments. The means comparison among groups were analyzed by Mann-whitney or Kruskal-Wallis test. The relations between above-mentioned indexes and liver inflammation binary was analyzed by using multivariate Logistic regression. The correlation coefficient of AFP, albumin (ALB), globulin (GLB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyl-transferase (γ -GGT) and total bilirubin (TBIL) was analyzed by Spearman. Moreover, receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the sensitivity and specificity of AFP, ALT, AST, ALP and γ -GGT in diagnosis of liver significant inflammation. **Results** Serum AFP level was 1.64 (1.28 ~ 1.86) ng/ml in G0/1 group, 4.27 (2.69 ~ 9.45) ng/ml in G2 group, and 7.83 (3.72 ~ 14.28) ng/ml in G3/4 group. The differences of serum AFP levels in three groups were significant ($P < 0.001$). Serum AFP level of CHB patients was positive correlated with GLB, TBIL, ALT, AST, ALP and γ -GGT (ρ was 0.291, 0.261, 0.310, 0.538, 0.253 and 0.546, respectively, P all < 0.001), while negative correlated with ALB ($\rho = -0.278$, $P < 0.001$). AFP was found to be an independent predictive factor of CHB patients with liver significant inflammation ($P < 0.001$, 95% confidence interval: 1.415 ~ 2.692). ROC curve analysis showed that the area under the curve of AFP was the largest (0.923). The cut-off value of AFP was 2.08 ng/ml, with a sensitivity of 89.8%, specificity of 88.3%. **Conclusion** Serum AFP is a valuable diagnostic marker for CHB patients with liver significant inflammation.

Key words alpha fetoprotein; hepatitis B virus; liver inflammation; clinical application