

血红素氧合酶1在非酒精性脂肪性肝病 诊断中的应用研究

苑喜微 李冬冬 刘领弟 张莹 赵文 崔璐瑶 杨杨 南月敏

河北医科大学第三医院中西医结合肝病科, 石家庄 050051

通信作者: 南月敏, Email: nanyuemin@163.com

【摘要】 目的 探明血浆血红素氧合酶1(HO-1)水平在非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)发生及进展中的临床应用价值。**方法** 选取河北医科大学第三医院体检中心健康体检及中西医结合肝病科就诊的NAFLD患者,联合采用超声检查及肝脏弹性成像分析,筛选NAFLD患者,并设立健康对照组,同步收集纳入研究对象的一般资料、外周血细胞计数及肝脏生物化学检测结果,留取血浆标本,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆HO-1水平。应用SPSS 21.0统计学软件进行统计学分析,logistic回归分析影响NAFLD发病及进展的独立危险因素,通过受试者工作特征曲线(ROC)评估NAFLD发生及进展相关指标诊断效能。**结果** 共纳入NAFLD 328例,健康对照113例,NAFLD组据肝脏生物化学结果,分为肝脏酶学指标正常组148例、肝脏酶学指标异常组180例,血浆HO-1水平随NAFLD发病及进展依次递增,健康对照组、肝脏酶学指标正常组、肝脏酶学指标异常组依次为(9.09±2.19) ng/ml、(14.38±2.63) ng/ml、(17.0±3.30) ng/ml,各组间差异有统计学意义, $P < 0.0001$ 。NAFLD合并代谢紊乱患者的血浆HO-1水平变化结果显示:不合并代谢综合征组患者为(9.83±3.21) ng/ml 小于合并1项代谢综合征组患者(13.59±3.72) ng/ml;均小于合并2项以上代谢综合征组患者(16.09±3.41) ng/ml, $P < 0.0001$,差异有统计学意义。HO-1水平分析结果显示,随HO-1水平升高外周血白细胞计数、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶、 γ -谷氨酰转移酶、甘油三酯(TG)随之升高,且两两比较差异均有统计学意义, P 值均 < 0.0001 。NAFLD组白细胞计数为(6.79±1.62) × 10⁹/L,显著高于健康对照组的(5.68±1.36) × 10⁹/L, $P < 0.0001$,差异有统计学意义。logistic回归分析显示,血浆HO-1水平、血清TC及体质指数(BMI)为NAFLD发病的独立危险因素, P 值均 < 0.05 ;血浆HO-1水平、血清TG及空腹血糖为影响NAFLD进展的独立危险因素, P 值均 < 0.05 。ROC曲线分析显示,血浆HO-1水平可预测NAFLD发病及进展,灵敏度、特异度分别达85.10%、92.90%,38.33%、95.27%。**结论** 血浆HO-1水平可预测NAFLD发病及进展,有望成为NAFLD及非酒精性脂肪性肝炎诊断的新型分子诊断标志物。

【关键词】 诊断; 非酒精性脂肪性肝病; 分子标志物; 血红素氧合酶1

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.000

Application of heme oxygenase 1 in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease Yuan Xiwei, Li

Dongdong, Liu Lingdi, Zhang Ying, Zhao Wen, Cui Luyao, Yang Yang, Nan Yuemin

Department of Traditional and Western Medical Hepatology, Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Nan Yuemin, Email: nanyuemin@163.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of plasma heme oxygenase 1(HO-1) in the development of non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD). **Methods** Patients with NAFLD were selected from the Physical examination center and the Department of Traditional and Western Medical Hepatology of Third Hospital of Hebei Medical University. A combination of ultrasound and liver elastography was used to screen NAFLD patients and healthy persons. General clinical characteristics, peripheral blood cell count and liver biochemical test results were collected synchronously, plasma samples were retained, and plasma HO-1

level was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. SPSS21.0 statistical software was used for statistical analysis, multivariate logistic regression analyses was used to analyse the independent risk factors affecting the incidence and progression of NAFLD. The diagnostic efficacy of indicators related to development of NAFLD was assessed by the receiver operating characteristic curve(ROC). **Results** A total of 328 patients with NAFLD and 113 healthy controls were included. According to the liver biochemical results, the NAFLD group was divided into 148 patients with normal liver enzymes and 180 patients with abnormal liver enzymes. The level of HO-1 in the three groups was 9.09 ± 2.19 , 14.38 ± 2.63 , 17.00 ± 3.30 ng/ml, and was increased respectively of healthy controls, patients with normal liver enzymes and patients with abnormal liver enzymes. Analyzing plasma HO-1 levels of components associated with metabolic disorders suggests that components without metabolic syndrome(9.83 ± 3.21) < components with 1 metabolic syndrome(13.59 ± 3.72) < components with 2 or more metabolic syndrome(16.09 ± 3.41), $P < 0.0001$. The results of HO-1 level stratification analysis showed that WBC, ALT, AST, GGT, TG increased as HO-1 level increased, and the pairwise difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The WBC count of NAFLD is significantly higher than healthy group(6.79 ± 1.62 vs 5.68 ± 1.36 , $P < 0.0001$). The univariate and multivariate regression analyses of all the subjects showed that HO-1, TG and BMI were prognostic factors for the occurrence of NAFLD and HO-1, TC, GLU were prognostic factors for the progression of NAFLD, $P < 0.05$. The ROC analysis showed that HO-1 was reliable markers for predicting the occurrence and progression of NAFLD, the sensitivity and specificity were respectively 85.10%, 92.90% and 38.33%, 95.27%. **Conclusion** Plasma HO-1 can predict the occurrence and progression of NAFLD and is expected to be a novel molecular diagnostic marker for NAFLD and NASH.

【Key words】 Diagnosis; Non-alcoholic fatty liver disease; Molecular marker; Heme oxygenase-1

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.000

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 已成为危害人类健康的重要疾病之一, 在亚太地区流行率占有所有肝病的 27.37%^[1], 其疾病谱包括非酒精性肝脂肪变 (non-alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 及 NASH 相关肝硬化和肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)^[2-3], 其早期诊断是及时采取有效措施防止疾病进展的关键。目前, 尚乏精准诊断脂肪性肝病发生发展的分子标志物。我们前期研究^[4-5]发现血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 在 NASH 发生及进展过程中发挥重要作用, 但 HO-1 在 NAFLD 临床诊断及预后判断中的价值尚不清楚, 我们选择健康体检超声影像学检测及肝脏受控衰减参数 (controlled attenuation parameters, CAP) 检测诊断的脂肪性肝病人群进行研究, 以明确 HO-1 在 NAFLD 发生及进展中的诊断价值, 以为临床提供方便、快捷的血清分子诊断标志物。

资料与方法

1. 研究对象: 依据 2010 年《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南 (2010 年修订版)》^[6], 及 2018

年《非酒精性脂肪性肝病防治指南 (2018 年更新版)》^[7], 并参照 2017 年美国《The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases》^[8], 选择 2017 年 6 月至 2017 年 12 月河北医科大学第三医院体检中心及中西医结合肝病科就诊的 NAFLD 患者 328 例, 并纳入 113 例体检健康的人群作为对照组。根据肝脏生物化学检测结果, NAFLD 组分为肝脏酶学指标正常组 (肝酶正常组) 和肝脏酶学指标异常组 (肝酶异常组), 分别为 148 例和 180 例。

依据上述指南 NAFLD 诊断标准: (1) 肝脏超声和 / 或 FibroScan 检测诊断为脂肪肝; (2) 患者不饮酒或无过量饮酒史 (过去 12 个月男性每周饮用乙醇小于 210 g, 女性小于 140 g); (3) 未应用乙胺碘呋酮、甲氨蝶呤、他莫昔芬、糖皮质激素等药物; (4) 排除基因 3 型丙型肝炎病毒感染、肝豆状核变性、自身免疫性肝炎、全胃肠外营养、乏 β 脂蛋白血症、先天性脂质萎缩症、乳糜泻等可以导致脂肪肝的特定疾病。

2. 临床资料采集 收集患者性别、年龄、身高、体质量, 计算身体质量指数 (Body Mass Index, BMI, kg/m^2), 既往患病史, 吸烟、饮酒及用药等

情况。

3. 外周白细胞 (white blood cell, WBC)、红细胞 (red blood cell, RBC) 及血小板 (platelet, PLT) 计数: 采用贝克曼库尔特 LH750 五分类全自动血细胞分析仪检测。

4. 肝脏生物化学检测: 患者清晨空腹采血 4 ml, 离心, 应用 Olympus AU2700 全自动生物化学分析仪检测: 血清白蛋白 (albumin, Alb)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、 γ -谷氨酰转移酶 (gamma glutamyl transpeptidase, GGT)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 和空腹血糖 (glucose, GLU)。

5. 血浆 HO-1 水平检测: 双抗体夹心酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 试剂购自上海茁彩生物技术有限公司。

6. 肝脏超声检测: 禁食水 8 ~ 12 h, 采用 Philips HD15 彩色超声诊断仪, 由超声医学专科医师统一检测及出具报告。

7. 肝脏受控衰减参数 (controlled attenuation parameters, CAP) 检测: 应用平台 FibroScan502 (法国 ECHOSENS 公司产品), 由接受过专业培训的医师统一检测, 脂肪肝诊断标准为 CAP > 238 dB/m。

8. 统计学方法: 采用 SPSS21.0 统计学软件, 正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较采用 t 检验, 三组比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD (Least Significant Difference) 检验; 不符合正态分布的计量资料采用

中位数及四分位数间距 [M (p25 ~ p75)] 表示, 两组比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组比较采用秩和检验, 组间两两比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。应用多因素 logistic 回归分析探讨影响 NAFLD 发病及进展的独立危险因素。应用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 判定独立危险因素评估 NAFLD 发病及进展的诊断效能。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. NAFLD 患者特征: 健康对照组平均年龄 36.0 (31.5 ~ 42.5) 岁, 男性 43 例, 女性 70 例; NAFLD 组平均年龄 37.5 (31.0 ~ 46.0) 岁, 男 208 例, 女 120 例, 两组间年龄差异无统计学意义, 男性 NAFLD 患病率显著高于女性, P < 0.0001。肝酶异常组平均年龄显著高于肝酶正常组 (40.5 岁对比 35.5 岁, P = 0.014), 男性发生肝酶学异常率 (125/208, 60%) 显著高于女性 (55/120, 45.8%), P = 0.013。NAFLD 组 BMI 显著高于健康对照组 (26.67 对比 21.74, P < 0.001)。而肝酶正常组及肝酶异常组 BMI 差异无统计学意义, 见表 1、2。

2. NAFLD 患者外周血细胞计数变化: NAFLD 组 WBC 及 RBC 计数均显著高于健康对照组 (6.79 ± 1.62) $\times 10^9/L$ 对比 (5.68 ± 1.36) $\times 10^9/L$, P < 0.0001; 4.94 ($4.62 \sim 5.24$) $\times 10^{12}/L$ 对比 4.56 ($4.30 \sim 4.76$) $\times 10^{12}/L$, P < 0.0001。肝酶正常组与肝酶异常组 WBC 与 RBC 计数比较, P 值均 > 0.05, 差异均无统计学意义见表 1、2。

表 1 健康对照组及 NAFLD 组患者临床特征分析 [($\bar{x} \pm s$)、M (p25 ~ p75)]

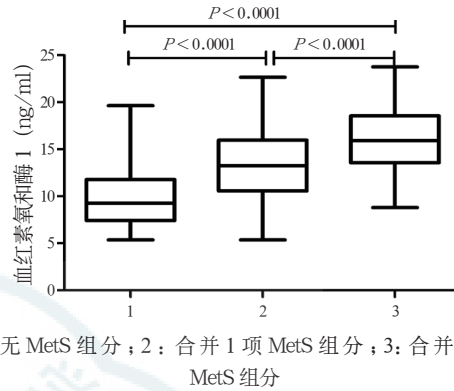
分组	年龄 (岁)	性别 (男/女)	BMI	WBC ($10^9/L$)	RBC ($10^{12}/L$)
健康对照组	36.0 (31.5 ~ 42.5)	43/70	21.74 (19.53 ~ 23.90)	5.68 ± 1.36	4.56 (4.30 ~ 4.76)
NAFLD 组	37.5 (31.0 ~ 46.0)	208/120	26.67 (24.91 ~ 29.07)	6.79 ± 1.62	4.94 (4.62 ~ 5.24)
t/Z 值	-1.732	-4.69	-12.371	-7.087	-6.655
P 值	0.083	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
分组	PLT ($10^9/L$)	ALT (U/L)	AST (U/L)	GGT (U/L)	
健康对照组	234.23(201.05 ~ 253.58)	13.00(10.00 ~ 16.00)	15.00(14.00 ~ 18.00)	15.00(13.00 ~ 19.00)	
NAFLD 组	237.97(199.75 ~ 272.43)	35.50(20.00 ~ 57.75)	22.00(17.00 ~ 32.00)	39.00(24.00 ~ 65.00)	
t/Z 值	-1.038	-11.904	-9.736	-11.540	
P 值	0.299	<0.001	<0.001	<0.001	
分组	ALB (g/L)	GLU (mmol/L)	TC (g/L)	TG (g/L)	HO-1 (ng/ml)
健康对照组	46.71 ± 2.92	4.99(4.72 ~ 5.27)	4.48 ± 0.60	0.87(0.65 ~ 1.17)	9.09 ± 2.19
NAFLD 组	48.03 ± 3.42	5.46(5.13 ~ 5.88)	5.25 ± 1.01	1.80(1.27 ~ 2.52)	15.80 ± 3.28
t/Z 值	-3.945	-8.944	-7.521	-11.826	-20.256
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: BMI: 身体质量指数; WBC: 白细胞计数; RBC: 红细胞计数; PLT: 血小板计数; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; GGT: 谷氨酰转移酶; ALB: 白蛋白; GLU: 空腹血糖; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HO-1: 血红素氧合酶 1

3. NAFLD 患者肝脏生物化学特征：NAFLD 组 ALT、AST、GGT、Alb、GLU、TC、TG 水平均明显高于健康对照组， P 值均 < 0.0001 ，见表 1；54.9% NAFLD 患者肝脏酶学指标异常，其水平与肝酶正常组间比较差异有统计学意义， P 值均 < 0.0001 ，见表 2。

4. 血浆 HO-1 与 NAFLD 发病及进展的关系：NAFLD 患者血浆 HO-1 水平显著高于健康对照组 (15.80 ± 3.28) ng/ml 对比 (9.09 ± 2.19) ng/ml, $P < 0.0001$)，且随肝脏酶学的异常及疾病进展，血浆 HO-1 水平呈上升趋势，肝酶正常组 $<$ 肝酶异常组 (14.38 ± 2.63) ng/ml 对比 (17.00 ± 3.30) ng/ml, $P < 0.0001$)，见表 1、2 及图 1；HO-1 水平与代谢综合征 (metabolic syndrome, MetS) 相关代谢紊乱有关，对比分析 NAFLD 合并肥胖、血糖异常或糖尿病、血脂异常、高血压病等代谢紊乱相关组分血浆 HO-1 水平的变化结果显示：无代谢综合征组分 (9.83 ± 3.21) ng/ml $<$ 合并 1 项代谢

综合征组分 (13.59 ± 3.72) ng/ml $<$ 合并 2 项以上代谢综合征组分 (16.09 ± 3.41) ng/ml, $P < 0.0001$ ，见图 2。



注：1：无 MetS 组分；2：合并 1 项 MetS 组分；3：合并 2 项以上 MetS 组分

图 2 血浆血红素氧合酶 1 水平与非酒精性脂肪性肝病及代谢综合征相关组分的关系

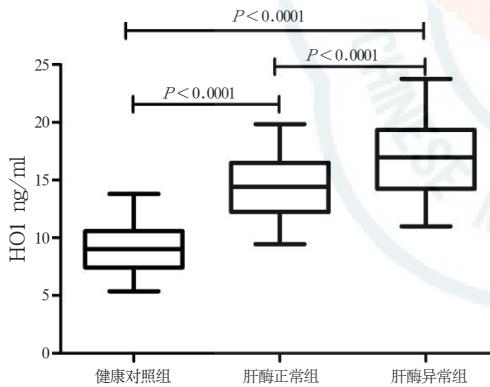


图 1 血浆血红素氧合酶 1 水平与非酒精性脂肪性肝病形成及肝酶异常的关系

5. HO-1 与肝脏炎症及血脂水平关系分层分析：把所有研究对象血浆 HO-1 水平从小到大排序分为三层，分别为下三分位、中三分位、上三分位；随着 HO-1 水平的升高，WBC、ALT、AST、GGT、TG 随之升高，且两两比较差异有统计学意义， P 值均 < 0.0001 ；RBC、TC、Alb、GLU 下三分位分别与中、上三分位比较差异有统计学意义，中、上三分位之间差异无统计学意义，见表 3。

6. NAFLD 发生发展相关因素分析：上述分析结果中有意义的指标纳入 NAFLD 进展多因素 logistic 回归分析，结果显示：影响 NAFLD 发病的独立危险因素为 BMI、血清甘油三酯、血浆 HO-1 水平，比值比 (odds ratio, OR) 分别为 1.908、6.281、3.303， P 值均 < 0.05 ，见表 4；影响 NAFLD 进展

表 2 肝酶正常组及肝酶异常组患者临床特征分析 [($\bar{x} \pm s$)、M (p25-p75)]

组别	年龄 (岁)	性别 (男/女)	BMI	WBC ($10^9/L$)	RBC ($10^{12}/L$)
肝酶正常组	35.5 (30.0 ~ 45.0)	83/65	26.88 \pm 3.48	6.72 \pm 1.52	4.89 \pm 0.63
肝酶异常组	40.5 (32.0 ~ 47.3)	125/55	27.61 \pm 3.90	6.85 \pm 1.71	4.98 \pm 0.48
t/Z 值	-2.455	-2.497	-1.681	-0.686	-1.351
P 值	0.014	0.013	0.094	0.493	0.178

分组	PLT ($10^9/L$)	ALT (U/L)	AST (U/L)	GGT (U/L)
肝酶正常组	243.63 \pm 51.22	21.50(14.25 ~ 31.00)	18.00(15.00 ~ 21.00)	25.00(18.00 ~ 33.00)
肝酶异常组	233.20 \pm 53.65	53.50 (37.5 ~ 83.75)	29.00(23.00 ~ 40.00)	62.50(40.25 ~ 84.75)
t/Z 值	-1.633	5.762	-11.315	-12.240
P 值	0.102	0.000	0.000	0.000

分组	ALB (g/L)	GLU (mmol/L)	TC (g/L)	TG (g/L)	HO-1 (ng/ml)
肝酶正常组	47.98 \pm 3.19	5.29(5.06 ~ 5.61)	4.99 \pm 0.99	1.58(1.16 ~ 2.13)	14.38 \pm 2.63
肝酶异常组	48.07 \pm 3.61	5.62(5.30 ~ 6.24)	5.46 \pm 0.98	2.06(1.41 ~ 2.97)	17.00 \pm 3.30
t/Z 值	-0.251	-5.172	-4.226	-4.576	-7.768
P 值	0.082	0.000	0.000	0.000	0.000

注：BMI：身体质量指数；WBC：白细胞计数；RBC：红细胞计数；PLT：血小板计数；ALT：丙氨酸氨基转移酶；AST：天冬氨酸氨基转移酶；GGT：谷氨酰转移酶；ALB：白蛋白；GLU：空腹血糖；TC：总胆固醇；TG：甘油三酯；HO-1：血红素氧合酶 1

表3 血红素氧合酶1分层及其与外周血WBC、肝脏生物化学指标变化的分析

项目	下三分位	中三分位	上三分位	χ^2/F 值	<i>P</i> 值
WBC ($10^9/L$)	5.98 (4.92 ~ 6.91)	6.58 (5.49 ~ 7.60) ^a	6.96 (5.98 ~ 7.71) ^{ab}	30.140	0.000
RBC ($10^{12}/L$)	4.65 (4.36 ~ 4.90)	4.94 (4.59 ~ 5.25) ^a	4.93 (4.60 ~ 5.23) ^a	35.068	0.000
PLT ($10^9/L$)	231.99±53.01	240.92±60.69	238.12±51.53	0.989	0.373
ALT (U/L)	20.82 (11.00 ~ 20.00)	41.56 (18.00 ~ 45.00) ^a	53.69 (26.00 ~ 66.00) ^{ab}	128.354	0.000
AST (U/L)	17.81 (14.00 ~ 18.00)	26.30 (15.00 ~ 29.00) ^a	30.61 (19.00 ~ 34.00) ^{ab}	92.820	0.000
GGT (U/L)	23.81 (13.00 ~ 26.00)	51.26 (19.00 ~ 64.00) ^a	56.25 (29.00 ~ 70.00) ^{ab}	114.638	0.000
TC (g/L)	4.60±0.85	5.19±1.00 ^a	5.33±1.02 ^a	50.242	0.000
TG (g/L)	1.21 (0.71 ~ 1.43)	1.94 (1.12 ~ 2.26) ^a	2.33 (1.41 ~ 2.77) ^{ab}	91.171	0.000
ALB (g/L)	46.86±3.20	48.07±3.61 ^a	48.14±3.08 ^a	6.932	0.001
GLU (mmol/L)	5.30 (4.83 ~ 5.42)	5.81 (5.10 ~ 5.81) ^a	5.89 (5.14 ~ 5.94) ^a	46.472	0.000

注: WBC: 白细胞计数; RBC: 红细胞计数; PLT: 血小板计数; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; GGT: 谷氨酰转氨酶; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; ALB: 白蛋白; GLU: 空腹血糖。^a: 与下三分位比差异有统计学意义, $P < 0.05$; ^b: 与中三分位比差异有统计学意义, $P < 0.05$

表4 影响非酒精性脂肪性肝病发生的多因素 logistic 回归分析

指标	B	SE	Wald	<i>P</i>	OR	OR 95% CI	
						Lower	Upper
Gender(1)	-1.712	1.034	2.740	0.098	0.180	0.024	1.371
BMI	0.646	0.171	14.220	0.000	1.908	1.364	2.669
ALT	0.106	0.063	2.808	0.094	1.112	0.982	1.259
AST	-0.136	0.131	1.083	0.298	0.873	0.676	1.127
GGT	0.021	0.051	0.165	0.684	1.021	0.924	1.128
WBC	0.264	0.290	0.827	0.363	1.302	0.738	2.298
RBC	0.920	1.224	0.565	0.452	2.509	0.228	27.617
ALB	-0.032	0.113	0.083	0.774	0.968	0.776	1.208
TC	0.697	0.536	1.693	0.193	2.008	0.703	5.739
TG	1.838	0.911	4.067	0.044	6.281	1.053	37.467
GLU	1.024	0.654	2.455	0.117	2.785	0.773	10.030
HO1	1.195	0.257	21.694	0.000	3.303	1.998	5.461

注: Gender: 性别; BMI: 身体质量指数; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; GGT: 谷氨酰转氨酶; WBC: 白细胞计数; RBC: 红细胞计数; ALB: 白蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; GLU: 空腹血糖; HO-1: 血红素氧合酶1; B: 回归系数; SE: 标准误; Wald: 统计量; OR: 比值比; CI: 可信区间; Lower: 上限; Upper: 下限

的独立危险因素为性别、血清总胆固醇、空腹血糖、血浆HO-1水平, OR分别为1.813、1.513、1.274、1.363, P 值均 < 0.05 , 见表5; 提示血浆HO-1水平可能为独立于常规生物化学指标之外重要因素之一。

HO-1诊断NAFLD及判断疾病进展效能:

表6 影响NAFLD发病的独立危险因素

指标	截断值	AUC	Se, %	Sp, %	95% CI	<i>P</i> 值
BMI (kg/m ²)	23.84	0.9052	90.85	76.11	0.8340 ~ 0.8990	0.0001
TG (g/L)	1.26	0.8750	75.31	83.19	0.8400 ~ 0.9040	0.0001
HO-1 (ng/ml)	12.15	0.9622	85.10	92.90	0.8739 ~ 0.9364	0.0001

注: BMI: 体质量指数; TG: 甘油三酯; HO-1: 血红素氧合酶1; AUC: 曲线下面积; Se: 灵敏度; Sp: 特异度; CI: 可信区间

表7 影响NAFLD进展的独立危险因素

指标	截断值	AUC	Se, %	Sp, %	95% CI	<i>P</i> 值
TC (g/L)	5.29	0.6369	57.20	65.50	0.5763 ~ 0.6975	0.0001
GLU (mmol/L)	5.58	0.6731	53.30	74.30	0.6150 ~ 0.7313	0.0001
HO-1 (ng/ml)	18.32	0.7194	38.33	95.27	0.6653 ~ 0.7733	0.0001

注: TC: 总胆固醇; GLU: 空腹血糖; HO-1: 血红素氧合酶1; AUC: 曲线下面积; Se: 灵敏度; Sp: 特异度; CI: 可信区间

表5 影响非酒精性脂肪性肝病进展的多因素 logistic 回归分析

指标	B	SE	Wald	<i>P</i>	OR	OR 95% CI	
						Lower	Upper
age	0.016	0.013	1.704	0.192	1.017	0.992	1.042
Gender(1)	0.595	0.287	4.312	0.038	1.813	1.034	3.180
TC	0.414	0.145	8.123	0.004	1.513	1.138	2.013
TG	0.236	0.126	3.512	0.061	1.266	0.989	1.621
GLU	0.242	0.098	6.138	0.013	1.274	1.052	1.543
HO-1	0.310	0.048	42.100	0.000	1.363	1.242	1.497

注: age: 年龄; Gender: 性别; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; GLU: 空腹血糖; HO-1: 血红素氧合酶1; B: 回归系数; SE: 标准误; Wald: 统计量; OR: 比值比; CI: 可信区间; Lower: 上限; Upper: 下限

ROC分析显示, HO-1诊断NAFLD效能良好, 曲线下面积 (area under curve, AUC) 为0.962, 灵敏度 (sensitivity, Se) 85.1%、特异度 (specificity, Sp) 92.9%; BMI的AUC为0.905、灵敏度90.85%、特异度76.11%, 见图3及表6; HO-1判断疾病进展的AUC = 0.7194, 特异度明显优于TC、GLU, 达95.27%, 见图4及表7。

讨论

可靠的血清标志物的发现与应用是及早发现非酒精性脂肪性肝病及其疾病状态的重要策略。目前,

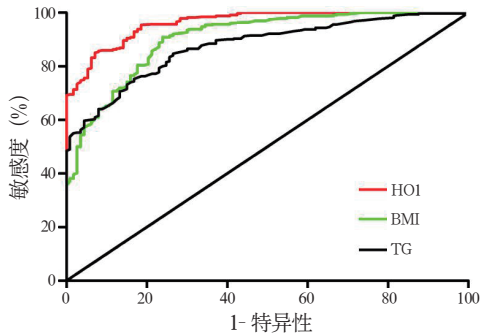


图 3 评估非酒精性脂肪性肝病发生的受试者工作特征曲线

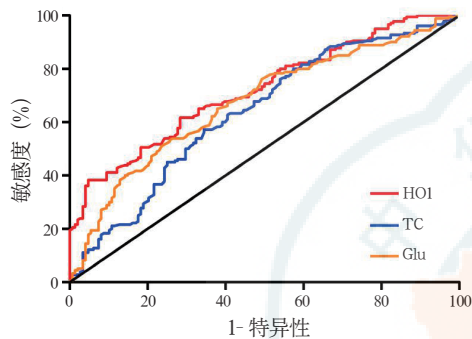


图 4 评估非酒精性脂肪性肝病进展的受试者工作特征曲线

腹部超声及肝脏 CAP 值是人们公认、临床应用最广的无创性脂肪性肝病诊断方法，但二者主要提示肝脂肪变的严重程度，难以辨别脂肪性肝炎的存在与否及其严重程度。据研究报道，基于 MRI 的实时弹性成像 (real-time elastic imaging based on MRI, MRE)，阴性预测值较高，由于检测费用高、需时较长，临床常规脂肪肝筛查与诊断应用较少^[7]。近年研究发现白细胞介素 18、脂联素、瘦素等生物标记物与 NAFLD 的发病及进展相关，但其诊断效能亦需进一步研究与验证^[9]。

HO-1 在肝脏炎症发生发展和氧化应激组织损伤中发挥重要作用，我们前期的实验研究证实，HO-1 可通过抗氧化、抗凋亡等多种途径发挥抗炎作用。我们的研究结果提示，NAFLD 患者血浆 HO-1 水平显著高于健康对照，肝酶异常患者显著高于肝酶正常者；HO-1 分层分析研究结果显示，随着 HO-1 水平的升高，肝脏酶学指标、血脂、血糖亦呈不同程度升高趋势，提示 HO-1 与 NAFLD 的发病及肝脏炎症的发生有关。进一步行多因素 logistic 回归及 ROC 曲线分析发现，血浆 HO-1 水平为 NAFLD 发病及进展的独立危险因素，HO-1 诊断 NAFLD 呈现高灵敏度和高特异度，AUC 为 0.9622，灵敏度为 85.1%，特异度达 92.9%；诊断 NAFLD 出现肝酶学异常特异度达 95.3%。进一步证实，HO-1 为参与肝脏脂质代谢及炎症发生

的重要分子之一。曾有研究报道，HO-1 表达水平与 NAFLD 脂质过氧化、疾病严重程度显著相关，NASH 中 HO-1 表达增加可能是机体对抗氧化应激和脂质过氧化反应的一种保护机制^[10-11]。上述研究结果提示，血浆 HO-1 水平与 NAFLD 发生及进展密切相关，有望成为 NAFLD、NASH 诊断的新型分子标志物。关于 HO-1 与 NAFLD 肝脏炎症程度及纤维化的关系，有待进一步扩大病例数及结合肝组织病理学深入研究。

肝脏合成功能增强、多组分代谢紊乱为非酒精性脂肪性肝病代谢的特征之一。我们的研究发现，NAFLD 组血清白蛋白水平高于健康对照组，TC、TG 及血糖水平随 NAFLD 形成和肝损伤的加重呈逐渐上升趋势，健康对照组 < 肝酶正常组 < 肝酶异常组，差异有统计学意义 (P 值均 < 0.0001)，且与血浆 HO-1 水平变化趋势一致。进一步按血浆 HO-1 水平分层分析后，血清 TG 及血糖水平随着 HO-1 水平递增呈逐渐上升趋势，提示血浆 HO-1 水平亦可反映肝脂肪变进展过程中血脂及血糖代谢功能的变化。

外周血 WBC 计数为衡量全身低度非特异性慢性炎症的指标^[12]。我们的研究发现，WBC 计数与血浆 HO-1 水平变化呈一致趋势，NAFLD 患者 WBC 计数明显高于健康对照组。有研究报道，正常范围外周血 WBC 计数上三分位可预测 NAFLD 的发生^[13]，结合我们的研究，提示 WBC 计数可反映肝脏局部的慢性炎症。WBC 变化与 NAFLD 形成及其与代谢综合征发生的可能关系：(1) NAFLD 是代谢综合征在肝脏的表现，其基本机制之一为胰岛素抵抗。有研究证实，代谢综合征各组分随着 WBC 四分位数的增加而发生显著变化^[14]，提示 WBC 计数可能与胰岛素抵抗和 NAFLD 形成有关。(2) 肝细胞脂肪变及脂质过氧化可导致氧化应激及炎症因子的释放，可导致肝细胞凋亡及坏死，诱发 WBC 释放及浸润，使外周血白细胞增高^[15]。上述结果提示，HO-1 联合白细胞计数可提示肝脏脂肪变及炎症的发生发展。

脂质异常代谢和氧化应激损伤是 NAFLD 发生发展的主要病理生理机制，HO-1 作为关键分子，在 NAFLD 发病及进展中发挥重要作用，综合我们的研究结果，HO-1 有望成为 NAFLD 诊断的新型分子标志物，以提高非酒精性脂肪性肝病及炎症发生的早期诊断率，指导临床治疗及预后判断。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 苑喜微：实施研究、采集及分析数据、撰写论文；李冬冬、赵文：分析数据、协助论文撰写；刘领弟、张莹、崔璐瑶、杨杨：采集数据、标本留取、协助血标本检测；南月敏：指导研究设计及论文撰写

参 考 文 献

- [1] Younossi ZM, Tampi R, Priyadarshini M, et al. Burden of illness and economic model for patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in the United States[J]. *Hepatology*, 2019, 69(2): 564-572. DOI: 10.1002/hep.30254.
- [2] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systemic review[J]. *Jama*, 2015, 313(22): 2263-2273. DOI: 10.1001/jama.2015.5370.
- [3] Wong VW, Chan WK, Chitturi S, et al. The Asia-Pacific working party on nonalcoholic fatty liver disease guidelines 2017 part 1: definition, risk factors and assessment[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 33(1), 70-85. DOI: 10.1111/jgh.13857.
- [4] 付娜, 南月敏. 血红素氧合酶-1 在脂肪性肝病中的作用及其机制的研究进展 [J]. *国际消化病杂志*, 2008, 28(6): 465-467. DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2008.06.008.
- Fu N, Nan YM. Research progress of heme oxygenase-1 in adipose liver disease and its mechanism[J]. *Int J Dig Dis*, 2008, 28(6): 465-467. DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X. 2008.06.008.
- [5] Nan YM, Wang RQ, Zhao SX, et al. Heme oxygenase-1 prevents nonalcoholic steatohepatitis through suppressing hepatocyte apoptosis in mice[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9(1): 124-134. DOI: org/10.1186/1476-511X-9-124.
- [6] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)[J]. *中华肝病杂志*, 2010, 18(3): 163-166. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.03.002.
- Fatty liver and alcoholic liver disease group, liver branch, Chinese medical association. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: update 2010[J]. *Chin J Hepatol*, 2010, 18(3): 163-166. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418. 2010.03.002.
- [7] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)[J]. *中华肝病杂志*, 2018, 26(3): 195-203. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008.
- National Workshop on Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association; Fatty Liver Expert Committee, Chinese Medical Doctor Association. Guidelines of prevention and treatment for non-alcoholic fatty liver disease: a 2018 update[J]. *Chin J Hepatol*, 2018, 26(3): 195-203. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008.
- [8] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American association for the study of liver diseases[J]. *Hepatology*, 2017, 67(1), 328-351. DOI: org/10.1002/hep.29367.
- [9] 王翠华, 岳妍. 瘦素、脂联素与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(8): 1351-1354. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2015.08.045.
- Wang CH, Yue Y. Research progress in relationship of leptin and adiponectin with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Clin Hepatol*, 2015, 31(8): 1351-1354.(in Chinese). DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2015.08.045.
- [10] Van LL, Laleman W, Vander EI, et al. Carbon monoxide produced by intrasinusoidally located haem-oxygenase-1 regulates the vascular tone in cirrhotic rat liver[J]. *Liver Int*, 2009, 29(5): 650-660. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01857.x.
- [11] Wang F, Duan ZJ, Sun YJ, et al. Influence of heme oxygenase-1 expression on immune liver fibrosis induced by cobalt protoporphyrin in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(24): 3009-3014. DOI: 10.3748/wjg.15.3009.
- [12] 李俊, 张弛. 外周血白细胞计数在非酒精性脂肪性肝病中的变化及预测研究 [J]. *中国社区医师*, 2017, 33(16): 118-119. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2017.16.73.
- Li J, Zhang C. Changes and prediction of peripheral blood leukocyte count in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Chin Community Doc*, 2017, 33(16): 118-119. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2017.16.73.
- [13] 黄小琳, 徐佰慧, 李勉, 等. 白细胞计数与非酒精性脂肪性肝病的相关性 [J]. *上海医学*, 2014, 37(2): 143-147.
- Huang XL, Xu BH, Li M, et al. Correlation between white blood cell count and non - alcoholic fatty liver disease[J]. *Shanghai Med J*, 2014, 37(2): 143-147.
- [14] Wang SK, Zhang CQ, Zhang G, et al. Association between white blood cell count and non-alcoholic fatty liver disease in urban Han Chinese: a prospective cohort study[J]. *BMJ Open*, 2016, 6(6): e010342. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-010342.
- [15] Botezelli JD, Mora RF, Dalia RA, et al. Exercise counteracts fatty liver disease in rats fed on fructose-rich diet[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9(1): 116-125. DOI: org/10.1186/1476-511X-9-116.

(收稿日期: 2018-10-29)

(本文编辑: 彭智)