

· 专家论坛 ·

非酒精性脂肪性肝炎的诊治

李学军¹, 孙倩²

(1. 厦门大学附属第一医院内分泌糖尿病科 厦门市糖尿病研究所, 厦门 361003;

2. 厦门大学医学院内科学 2013 级研究生, 厦门 361002)

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎; 筛查; 诊断

中图分类号: R575.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-2870(2014)02-0133-05

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2870.2014.02.006

防治非酒精性脂肪性肝炎的重要性

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是成人和儿童肝功能异常最常见的原因, 近年来其患病率及发病率不断增加。NAFLD 包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝纤维化和肝硬化^[1]。由单纯性脂肪肝进展为 NASH 的重要变化是肝纤维化。一般认为, 不合并纤维化和炎症的单纯性脂肪肝在大部分情况下是一个良性的、可逆的临床病变, 危害并不严重^[2]。然而, NASH 患者较单纯性脂肪肝患者而言, 其肝病相关的发病率和病死率风险增加, 危害更严重, 有 10%~15% 的 NASH 患者会进一步发生肝硬化^[3], 其生存率更低^[2, 4]。因此, 了解 NAFLD 的病理生理学基础, 正确区分单纯性脂肪肝与 NASH, 进一步提供疾病的风险分层和干预措施, 以减缓 NASH 患者的疾病进展极其重要。

从单纯性脂肪肝发展为 NASH 的病理生理学基础中, 有一个必要条件就是肝细胞的脂肪变性, 导致肝损伤和纤维化的发生。线粒体功能障碍贯穿于从脂肪变性到 NASH, 再到肝硬化的全过程中, 其机制包括以下几点。①在多种因素作用下, 出现活性氧产物增加和线粒体外膜渗透性变化; ②多种炎症因子积聚, 出现炎症反应; ③肝细胞凋亡机制, 凋亡蛋白酶的活化至关重要; ④肝组织的纤维化。根据“二次打击”学说, 认为 NASH 发生过程中的第一步可能是胰岛素抵抗导致的肝细胞内脂质堆积; 第二步主要为活性氧导致脂质过氧化损伤, 细胞因子 (主要是炎症性) 的作用及 Fas 配体 (肝细胞凋亡) 的诱导。氧化应激和脂质氧化损伤是从单纯性脂肪肝进展到 NASH 的关键因素。因此, 了解这一过程的病理改变, 有助于 NASH 的诊断及将 NASH

从单纯性脂肪肝中区别开来, 并试图通过改善胰岛素抵抗和增加抗氧化的药物协助 NASH 的恢复^[5]。

然而, 目前 NASH 的诊断尚缺乏经济、快捷且灵敏度及特异度均高的方法, 肝活检仍是当今诊断的金标准, 但因其费用昂贵及作为有创性检查可能带来的潜在并发症, 导致其并不适合作为临床大规模筛查的手段。因此, 迫切需要寻找更加经济、无创且易于操作的可靠方法, 来作为筛查与诊断 NASH 的手段。

NASH 的筛查与诊断

疾病的诊断均是从采集病史开始, 辅以一系列的体格检查、生化指标的检测、影像诊断、组织学检查等。显然, 病史采集对于 NASH 的诊断也很重要, 体质量指数 (body mass index, BMI) 和腰臀比例可作为有效预测 NAFLD 发生的指标, 而血糖及血脂常规检查也有助于其诊断, 但值得注意的是, 有 20% 左右的 NAFLD 患者在确诊时体重、血脂、血糖均在正常范围。

一、实验室常规检查

辅助诊断 NAFLD 的实验室常规检查项目包括丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶 (aspartate transaminase, AST)、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰转氨酶、白蛋白、凝血酶原时间、血常规、血糖与血脂等。其中 ALT 已被用来作为一种肝损伤的替代标志物。然而一些研究表明, ALT 并不是区分 NASH 与单纯性脂肪肝的理想标志物。大多数 (约 79%) 有肝脂肪变性的受试者其血清 ALT 水平在正常范围内^[6]。在另一项研究中, 80 例 ALT 水平正常的患者在接受与肝脏疾病无关的手术时, 发现有 58 例 (72.5%) 存在不同程度的 NASH, 其中 26 例有肝纤维化, 8 例有静止性肝硬化^[7]。

二、生物标志物的检查

1. 炎症标志物：炎症和炎症性细胞因子在 NAFLD、NASH 的发生、发展过程中起重要作用。这些炎症因子的种类大致可归纳为以下几类。①Th1 与 Th2 相关细胞因子，如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-18 等；②趋化因子，包括 CC 亚族 (C 为半胱氨酸)、CC 配体 2 (CCL2)/巨细胞趋化激活因子 1、CCL19、CCL21 及正常 T 细胞表达和分泌、活化时表达下降因子 (RANTES)；③脂肪(细胞)因子，包括瘦素、脂联素、抵抗素和内脏脂肪特异性蛋白等。在 NASH 的发生、发展中，细胞因子间的平衡，特别是 TNF- α /脂联素比值发挥着重要作用。有实验表明，使用抗 TNF- α 抗体治疗瘦素缺乏的 ob/ob 小鼠，可改善其 NASH 和胰岛素抵抗症状。

IL-6 在肝脏通过诱导抑制细胞信号因子-3 而与胰岛素抵抗间具有密切联系^[8]。有很多研究报道，IL-6 与 NASH 间存在显著的相关性。NASH 患者血浆 IL-6 显著升高，经治疗后 IL-6 水平明显降低^[9]。与单纯性脂肪肝患者相比，NASH 患者不仅 IL-6 水平增加，其肝脏受体的数目和活性也显著增加^[10]。但至今仍没有一个明确的切点可区分 NASH 与单纯性脂肪肝。有研究通过 Logistic 回归分析显示，IL-6 > 4.81 pg/mL [OR=33.7, 95% 可信区间为 1.7~680.7, P≤0.022] 的水平可作为肝脏脂肪变性程度的独立预测因素，但不能预测 NASH^[11]。

TNF- α 通过抑制胰岛素受体酪氨酸激酶活性而在胰岛素抵抗中起重要作用^[1]。Abiru 等^[10]研究发现，与单纯性脂肪肝患者相比，NASH 患者的血清 TNF- α 及可溶性 TNF 受体 1 (sTNFR1) 水平显著升高。也有研究发现，NASH 患者肝脏 TNF- α mRNA 的表达水平比健康对照组高。该研究提出，TNF- α mRNA 的切点值为 100 ng/mL 可预测 NASH 的发生 (受试者工作曲线下面积为 0.685，灵敏度为 66.7%，特异度为 74.1%)^[12]。另外，TNF- α 的拮抗剂己酮可可碱对于 NASH 患者的临床表现、生化指标、代谢参数、肝内脂肪含量以及纤维化程度都表现出有益的保护作用，这从相反的角度进一步确认了 TNF- α 在 NASH 发病中的作用^[13-15]。

有研究发现，NAFLD 患者的 C 反应蛋白 (C-reaction protein, CRP) 水平较年龄和 BMI 匹配的正常对照组明显升高，并认为高 CRP 是 NAFLD 的独立危险因素^[16]。但关于是否可通过 CRP 来区分单纯性脂肪肝与 NASH，目前仍具有争议。如有研究发

现，以 CRP 0.5 mg/L 作为切点，可很好地预测 NASH (准确率为 0.906，灵敏度为 82%，特异度为 88%)。但也有研究显示，血清 hs-CRP 水平与肝脂肪变性或坏死分级及肝纤维化的严重程度间没有关系^[1, 17]。另有一项包含 18 例 NASH 患者的小样本研究发现，尽管 NASH 患者比对照组 (16 例) 的 CRP 水平显著升高，但其血清 CRP 水平与肝脂肪变性的程度、炎症或肝纤维化的阶段间均无统计学相关性^[18]。

2. 凋亡标志物：肝脏中细胞凋亡增加是导致 NASH 发生的一个重要机制^[19]。有研究发现，NASH 患者的血浆细胞角蛋白-18 碎片比单纯性脂肪肝患者高，且多个研究证实其可作为 NASH 的标志物，受试者工作特征曲线下面积达 0.82, 95% 可信区间为 0.76~0.88，故被认为是最有希望成为 NAFLD 诊断和管理的无创检验^[20]。然而，其目前仍无确定的统一切点值来鉴别 NASH。此外，有研究显示，血浆可溶性的 Fas 及总细胞角蛋白-18 在 NASH 患者中也较高，而其作为诊断标志物尚需更多的研究加以证实^[21-22]。

3. 氧化应激标志物：氧化应激导致脂质过氧化物的产生增加，在肝细胞损伤及 NASH 的进展过程中起重要作用。有研究报道，NASH 患者中血浆氧化的低密度脂蛋白和游离基介导的亚麻油酸的氧化产物均显著增高^[23-24]。

三、NASH 预测模型

NAFLD 患者出现肝纤维化则提示其已进入到一个更为严重的肝损伤阶段，及时并准确地评估患者出现的肝纤维化极其重要。目前，已有多种数理模型用于评估 NAFLD 患者的纤维化程度，这些预测模型大多采用临床表征与实验室资料相结合的方法建立的，数据多包括年龄、性别、血压、ALT 水平及胰岛素抵抗程度等^[1]。NASH test (biopredictive) 是通过结合一组 160 例患者的 13 个临床和生化变量，即年龄、性别、重量、身高、血清胆固醇、三酰甘油、 α_2 巨球蛋白、载脂蛋白 A1、结合珠蛋白、 γ -谷氨酰转移酶、ALT、AST 和胆红素进行预测的^[25]。已病理确诊的 NASH 受试者工作特征曲线下面积为 0.78。该 NASH test 已在来自不同地区的 97 例患者中得到验证。另外，在 Palekar 等^[26]报道的模型中，以下 6 个特点中有 3 个及 3 个以上的患者，相对于单纯性脂肪肝更易患 NASH，这 6 个特点分别是女性、年龄 ≥ 50 岁、BMI ≥ 30 kg/m²、AST ≥ 45 u/L、AST/ALT 比值 ≥ 0.8 和透明质酸 (hyaluronic acid,

HA) $\geq 55 \mu\text{g/L}$ 。此外,最近开发的 NASH CRN 是基于现有的临床和实验室指标来预测肝活检病理诊断的渐进模型^[27]。该模型是基于 AST、ALT、AST/ALT 比值、人口学指标(年龄、种族、性别、种族)、合并疾病(高血压、2 型糖尿病和黑棘皮病)、体质量指数、腰围、腰臀比及其他的实验室指标,该模型在通过肝活检预测 NASH 方面取得了 0.79 的准确率(95% 可信区间为 0.76~0.83)。

四、影像诊断

影像学检查如超声、CT 及 MRI 已被用于诊断 NAFLD。这些方式的优点是无创,可在一段时间内重复执行。然而,这些影像诊断在区分疾病分期上均没有足够的灵敏度和特异度,且不能区分单纯性脂肪肝,也无法明确 NASH 是否合并纤维化以及纤维化程度^[28]。MRI 检查是诊断肝脏脂肪变性最灵敏且客观的方法之一,其可通过信号衰减程度的变化来衡量肝脏脂肪变性程度,因此 MRI 频谱检查在脂肪性肝病定量诊断中运用越来越多。MRI 波谱分析是目前惟一能无创探测活体生理及组织化学特性的方法。在许多疾病中,代谢改变先于病理形态改变,而 MRI 波谱分析对组织代谢改变的潜在灵敏度高,故能用于肝脏疾病的筛查^[29]。CT、MRI 技术被认为是测量腹内脂肪的先进手段,尤其是螺旋 CT,能根据 CT 值判断组织的性质,结合机配软件可准确计算出腹内脂肪,被认为是目前公认的测量腹内脂肪含量的金标准^[30]。但 CT 测量价格昂贵,有射线辐射,不适宜普查。近年来,有研究报道用 B 超测量腹内脂肪厚度可代替 CT 测量腹内脂肪面积,具有方便经济的优点。超声测量值与腹部脂肪面积相关性较好,提示超声可反映脂肪在腹内、腹壁的分佈情况。因腹部内脏脂肪横截面是不规则的近椭圆形,其形状的变异性也较大。超声检查属于单点信息采集,测量内脏脂肪的垂直距离,而腰围测量的是腹部周径,故超声在反映内脏脂肪面积的准确率方面也有一定局限性^[31]。

五、各种组学技术

最近关于各种组学,如基因组学、蛋白组学和代谢组学的发展为复杂疾病的代谢及分子信号通路的变化研究提供了一个手段。如通过全基因组关联研究,发现一个新的 PNPLA3 基因的单核苷酸多态性与肝内脂质含量及 NAFLD 的组织学特点相关^[32-33]。Younossi 等^[34]利用蛋白组学首次发现,NAFLD 患者的血清中较肥胖对照者有 12 个明显不同的蛋白高峰的表达。一项前瞻性的研究发现,

血红蛋白亚单位在没有肝损伤的肥胖患者、单纯性脂肪肝患者及 NASH 患者中逐步升高,而 3 组人群在体重降低后又恢复正常^[35]。Kalhan 等^[36]发现,NASH 患者有多个代谢分子升高。这些新的技术方法不仅可作为评估疾病严重程度的无创标志,且有助于更好地阐明 NAFLD 的发病机制。但这些标志物尚处于研究的起步阶段,后续还需行更多研究加以证实。

NASH 的治疗

目前,脂肪性肝病的治疗措施包括防治原发病、基础治疗、避免加重肝脏损害因素、减肥、胰岛素增敏剂、降血脂药。NAFLD 患者伴肝功能异常和代谢综合征,经基础治疗无效者和肝活检证实为 NASH 及病程呈慢性进展性者,可采用针对肝病的药物进行辅助治疗,以抗氧化、抗炎、抗肝纤维化为主,可依药物性能、疾病活动及病理检查结果,合理选用烯磷脂酰胆碱、维生素 E、水飞蓟宾及熊去氧胆酸等相关药物(-1、-2、-3、),但不宜同时应用多种药物。也有主张通过改变生活方式、药物治疗及减肥手术三大类进行联合治疗。前者包括饮食控制与运动治疗。药物治疗则包括以下 3 种。①胰岛素增敏剂,包括二甲双胍、噻唑烷二酮及 α -葡萄糖苷酶抑制剂等;②抗氧化与抗炎治疗;③他汀类降脂药物(贝特类、他汀类或普罗布考等)。近年来兴起的减肥手术对于 NASH 患者也有一定的疗效,但从群体角度来看,尚不能广泛应用^[37]。

氧化应激在疾病发病机制中的作用促使了一些抗氧化剂的研究,特别是维生素 E。最近一项大型随机对照试验报告,患者服用维生素 E 800 u/d 后,NASH 评分比安慰剂治疗者改善显著,且服用维生素 E 的患者肝纤维化也有好转。维生素 E 结合熊去氧胆酸治疗也可改善 NASH,但因过量使用维生素 E 可能会造成中风和前列腺癌的风险增加,故其治疗剂量需要把握^[29]。目前 NASH 还没公认有效的治疗方法,许多新药正在临床试验阶段。

总之,NASH 是单纯性脂肪肝向肝纤维化及肝硬化的过渡阶段,其危害相当严重,如不及时诊断及治疗,疾病很容易进展,并出现如门静脉高压、肝衰竭及肝细胞肝癌等并发症。尽管现在有很多反映 NASH 的生物标志物及预测模型,但各研究的人群及结果不一,且很多尚未经过长期的临床实践加以

证实,后期还需更多的研究加以验证这些筛查和诊断的指标。

[参考文献]

- [1] Pearce SG, Thosani NC, Pan JJ. Noninvasive biomarkers for the diagnosis of steatohepatitis and advanced fibrosis in NAFLD[J]. *Biomark Res*,2013,1(1):7.
- [2] Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes[J]. *Hepatology*,2006,44(4):865-873.
- [3] Xie L, Yui J, Hatori A, et al. Translocator protein (18 kDa), a potential molecular imaging biomarker for non-invasively distinguishing non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Hepatol*,2012,57(5):1076-1082.
- [4] Söderberg C, Stål P, Askling J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up[J]. *Hepatology*,2010,51(2):595-602.
- [5] Pinzani M. Pathophysiology of non-alcoholic steatohepatitis and basis for treatment[J]. *Dig Dis*,2011,29(2):243-248.
- [6] Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity[J]. *Hepatology*,2004,40(6):1387-1395.
- [7] Sorrentino P, Tarantino G, Conca P, et al. Silent non-alcoholic fatty liver disease-a clinical-histological study[J]. *J Hepatol*,2004,41(5):751-757.
- [8] Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes [J]. *J Biol Chem*,2003,278(16):13740-13746.
- [9] Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, et al. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E[J]. *Hepatology*,2003,38(2):413-419.
- [10] Abiru S, Migita K, Maeda Y, et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Liver Int*,2006,26(1):39-45.
- [11] García-Galiano D, Sánchez-Garrido MA, Espejo I, et al. IL-6 and IGF-1 are independent prognostic factors of liver steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients[J]. *Obes Surg*,2007,17(4):493-503.
- [12] Alaaeddine N, Sidaoui J, Hilal G, et al. TNF- α messenger ribonucleic acid (mRNA) in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Eur Cytokine Netw*,2012,23(3):107-111.
- [13] Satapathy SK, Garg S, Chauhan R, et al. Beneficial effects of tumor necrosis factor-alpha inhibition by pentoxifylline on clinical, biochemical, and metabolic parameters of patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Am J Gastroenterol*,2004,99(10):1946-1952.
- [14] Satapathy SK, Sakhuja P, Malhotra V, et al. Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis and necroinflammation in patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2007,22(5):634-638.
- [15] Zein CO, Yerian LM, Gogate P, et al. Pentoxifylline improves nonalcoholic steatohepatitis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Hepatology*,2011,54(5):1610-1619.
- [16] Park SH, Kim BI, Yun JW, et al. Insulin resistance and C-reactive protein as independent risk factors for non-alcoholic fatty liver disease in non-obese Asian men[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2004,19(6):694-698.
- [17] Fierbinteanu-Braticevici C, Baicus C, Tribus L, et al. Predictive factors for nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *J Gastrointest Liver Dis*,2011,20(2):153-159.
- [18] Koruk M, Tayçi S, Savaş MC, et al. Serum levels of acute phase proteins in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Turk J Gastroenterol*,2003,14(1):12-17.
- [19] Alkhoury N, Carter-Kent C, Feldstein AE. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*,2011,5(2):201-212.
- [20] Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, et al. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study[J]. *Hepatology*,2009,50(4):1072-1078.
- [21] Tamimi TI, Elgouhari HM, Alkhoury N, et al. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis [J]. *J Hepatol*,2011,54(6):1224-1229.
- [22] Joka D, Wahl K, Moeller S, et al. Prospective biopsy-controlled evaluation of cell death biomarkers for prediction of liver fibrosis and nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*,2012,55(2):455-464.
- [23] Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW. Systemic levels of lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Am J Gastroenterol*,2004,99(8):1497-1502.
- [24] Feldstein AE, Lopez R, Tamimi TA, et al. Mass spectrometric profiling of oxidized lipid products in human non-alcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis[J]. *J Lipid Res*,2010,51(10):3046-3054.
- [25] Lassailly G, Caiazzo R, Hollebecque A, et al. Validation of noninvasive biomarkers (FibroTest, SteatoTest, and NashTest) for prediction of liver injury in patients with morbid obesity[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2011,23(6):499-506.
- [26] Palekar NA, Naus R, Larson SP, et al. Clinical model for distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease

- [J]. *Liver Int*,2006,26(2):151-156.
- [27] Neuschwander-Tetri BA, Clark JM, Bass NM, et al. Clinical, laboratory and histological associations in adults with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*,2010,52(3):913-924.
- [28] Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future [J]. *Hepatology*,2007,46(2):582-589.
- [29] Day CP. Clinical spectrum and therapy of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Dig Dis*,2012,30(Suppl 1):69-73.
- [30] Jang Y, Kim OY, Ryu HJ, et al. Visceral fat accumulation determines postprandial lipemic response, lipid peroxidation, DNA damage, and endothelial dysfunction in nonobese Korean men[J]. *J Lipid Res*,2003,44(12):2356-2364.
- [31] Hirooka M, Kumagi T, Kurose K, et al. A technique for the measurement of visceral fat by ultrasonography: comparison of measurements by ultrasonography and computed tomography[J]. *Intern Med*,2005,44(8):794-799.
- [32] Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Nat Genet*,2008,40(12):1461-1465.
- [33] Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*,2010,51 (4): 1209-1217.
- [34] Younossi ZM, Baranova A, Ziegler K, et al. A genomic and proteomic study of the spectrum of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology* , 2005,42(3):665-674.
- [35] Trak-Smayra V, Dargere D, Noun R, et al. Serum proteomic profiling of obese patients: correlation with liver pathology and evolution after bariatric surgery[J]. *Gut*, 2009,58(6):825-832.
- [36] Kalhan SC, Guo L, Edmison J, et al. Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Metabolism*,2011,60(3):404-413.
- [37] Milic S, Stimac D. Nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation and treatment[J]. *Dig Dis*,2012,30(2):158-162.
- (收稿日期:2014-03-21)
(本文编辑:张 宁)

欲订阅《诊断学理论与实践》杂志者,可向当地邮局或直接向本刊编辑部订阅。
本刊邮发代号:4-687。本刊欢迎来稿,欢迎订阅,欢迎批评指正。