

DOI: 10.13376/j.cbls/2023147

文章编号: 1004-0374(2023)10-1348-10

非酒精性脂肪性肝病诊断方法研究进展

孙福广^{1,2}, 任 进^{1,2*}

(1 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一类进行性的慢性肝脏疾病, 包括简单的脂肪蓄积、非酒精性脂肪性肝炎、进展性的肝纤维化、肝硬化和肝细胞肝癌。NAFLD 具有致病机制复杂、疾病进行性、高发病率、伴随并发症风险以及无特效药物治疗等特征, 这凸显出对 NAFLD 的发病机制认知、筛查、诊断与监测的重要性。因此, 该文旨在介绍 NAFLD 的概况, 着重从肝穿刺组织活检、影像学检查和血液标志物三个方面归纳与总结诊断方法的研究进展, 为 NAFLD 的基础研究、临床诊断及其新的生物标志物研究提供相关的参考。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 肝纤维化; 影像学; 生物标志物; 小核酸

中图分类号: R575 **文献标志码:** A

Advances in the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease

SUN Fu-Guang^{1,2}, REN Jin^{1,2*}

(1 Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a type of progressive chronic liver diseases that encompasses non-alcoholic fatty liver (NAFL), non-alcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma (HCC). NAFLD is characterized by complicated pathogenesis, progressivity, high incidence, risk of complications and no specific drugs, which highlights the importance of NAFLD pathogenesis understanding, screening, diagnosis and monitoring. Therefore, we aim to review NAFLD and emphatically summarize its diagnostic techniques including liver biopsy, imaging and blood biomarkers, in order to provide reference for the research and clinical diagnosis of NAFLD.

Key words: NAFLD; liver fibrosis; imaging; biomarker; miRNA

1 NAFLD的发现及定义

1980年, Ludwig等^[1]在对20例无明显酒精摄入和其他肝损因素的个体进行肝组织活检时发现与酒精性肝炎相似的特征, 包括小叶炎症、伴随炎症浸润的局灶性坏死和Mallory小体等, 并命名为非酒精性肝炎(NASH)。1986年, Schaffner和Thaler^[2]依据脂肪肝患者的肝组织活检特征有别于肝脏炎症, 首次提出非酒精性脂肪肝病(NAFLD)的概念。在这之后, NAFLD开始成为一类独立的肝脏病症, 并逐渐获得越来越多的研究。NAFLD可以定义为: 经过肝组织活检或磁共振质子密度脂肪分数(magnetic resonance imaging proton density fat fraction, MRI-

PDF) 诊断有超过5%的肝细胞中存在脂肪变性, 并且没有过度饮酒(男性 ≥ 30 g/d, 女性 ≥ 20 g/d)或其他继发性肝脏病因的一类疾病^[3]。虽然学术界对NAFLD定义的表述存在差异, 但是都基于一个共识, 即排除酗酒和其他继发性原因的肝脏脂肪变性。NAFLD的发病机制复杂, 具有异质性, 但是NAFLD这个术语过分强调了酒精的作用, 未能准确反应致病因素。因此, Eslam等^[4]组成的国际专家小组提

收稿日期: 2023-04-17; 修回日期: 2023-05-22

基金项目: 上海市科委项目(21DZ2291100)

*通信作者: E-mail: jren@cdser.simm.ac.cn; Tel/Fax: 86-21-58382922

议将 NAFLD 更名为代谢障碍相关性脂肪性肝病 (metabolic dysfunction associated fatty liver disease, MAFLD), 以更加精确地反映发病机制并帮助对病患的分级管理。新的术语凸显了代谢障碍在疾病发生发展中的重要作用。但是, MAFLD 与 NAFLD 并非简单的替换关系, 其诊断标准上存在差异, 也就是说, 并不是所有的 NAFLD 都可以直接归类为 MAFLD, 反之亦然^[5]。NAFLD 与糖脂代谢障碍密切相关, 比如肥胖、胰岛素抵抗、高血脂和高血糖等。因为它会增加肝外器官的病变风险, 如 2 型糖尿病、心血管与心脏疾病和慢性肾脏疾病等, 所以被认为是一项多系统性的疾病^[6]。根据严重程度, NAFLD 可以分为非酒精性脂肪肝 (NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、进展性的肝纤维化 (fibrosis)、肝硬化 (cirrhosis) 和肝细胞肝癌 (HCC)^[7-9]。

2 NAFLD 的流行病学与治疗

自 NAFLD 作为一类独立的疾病以来, 其在全球范围内的发病率呈现逐年上升的趋势, 并且随着高脂饮食、久坐和缺乏运动等现代生活方式的变化, 病患趋于年轻化。来自一项大数据分析的结果显示, 全球总人群中 NAFLD 的发病率约为 34.2%^[10], 其中儿童人群中的发病率约为 3%~10%^[11]。报道指出, 不同国家地区和人群的患病率各异。中东和南美的患病率最高, 分别约为 32% 与 31%, 而亚洲和欧洲相对较低, 但也分别达到约 27% 与 23%^[12]。在中国, NASH 的患病率在 2.4%~6.1% 之间, 患者分布更偏向于男性、老年人以及港台地区^[13]。在美国, NASH 被认为是继慢性丙型肝炎之后肝脏移植的第二大常见指征^[14]。随着 NAFLD 患病率的不断上升, NAFLD 人群中的 NASH 患者占比预期将从 2015 年的 20% 升高至 2030 年的 27%, 并且有约 20% 进展为晚期纤维化^[15]。总的来说, 在全球范围内大约有 10 亿人受到 NAFLD 的影响, 这对临床和社会都造成了重大的负担^[14]。

NAFLD 的致病因素极其复杂, 目前已知可由多重因素共同作用所致。对此, 不同专家学者提出了不同的致病机制理论^[16], 包括“二次打击”学说和“多重打击”假说^[16-18]。NAFLD 发病机制涉及胰岛素抵抗、肝脏脂肪蓄积、内质网应激、线粒体功能障碍、肠道菌群改变和炎症途径激活等^[19]。目前对 NAFLD 的治疗选择很有限, 主要包括非药物治疗、药物治疗和手术治疗^[20], 并且全球范围内尚无特效药物^[21]。非药物治疗主要是生活方式干预和

减肥, 是早期 NAFLD 患者首选的治疗方式^[22]。药物治疗主要是调节糖脂代谢平衡或靶向肝脏线粒体功能, 包括过氧化物酶体增殖物激活受体超家族 (PPARs) 的激动剂、法尼醇受体 (FXR) 的激动剂、成纤维细胞生长因子 (FGF-21)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (SCD) 以及肝靶向线粒体解偶联剂等^[23-27]。此外, 中药可以通过调节肠道菌群、胆汁酸生成、脂质生成通路以及提高胰岛素敏感性等途径发挥预防和治疗 NAFLD 的作用^[28]。但是, 进展至晚期肝硬化阶段时, 必须进行手术治疗, 而肝脏移植是手术治疗肝硬化的唯一方法^[29]。

3 NAFLD 的诊断方法

NAFLD 的诊断技术手段可以简单地分为侵入式和非侵入式两大类, 其中侵入式特指肝穿刺组织活检, 非侵入式则包括影像学 and 血液标志物检查。

3.1 肝穿刺组织活检

肝穿刺组织活检是 NAFLD 诊断的“金标准”, 因为其可以排除其他原因引起的肝脏病变, 是确诊和分级的决定性技术^[30-31]。组织病理学检查的内容主要包括脂肪变性、炎症、肝细胞气球样变性和纤维化特征^[7], 并且可以提供脂肪在肝小叶中的分布信息, 以此对脂肪变性程度做出半定量评估^[32]。

1999 年, Brunt 等^[33]根据巨泡性脂肪变性、肝细胞气球样变性和小叶炎症等 10 项内容来评估坏死性炎症, 并结合纤维化阶段等级提出了 NASH 形态学特征分类系统, 将 NASH 分成轻微 (Mild)、中度 (Moderate) 和严重 (Severe) 三个等级。

2005 年, 美国国立卫生研究院 NASH 临床研究网络 (NIH NASH Clinical Research Network, NIH NASH CRN) 为了帮助描述肝脏病变, 并允许在临床试验中进行统计分析, 修订并提出了一个可应用于成年人和儿童的分级系统——NAFLD 活跃度分数 (NAFLD activity score, NAS)^[34]。NAS 从三个层面进行分级评分, 然后对分级评分进行未加权相加得到总分 (0-8), 分别是脂肪变性等级 (0-3)、小叶炎症 (0-3) 和肝细胞气球样变性 (0-2)。因为 NAS 认为纤维化是疾病的一个阶段状态, 而不是损伤等级, 因此 NAS 分数并不包括纤维化特征。

2012 年, Bedossa 等^[35]在研究病态肥胖患者来源的肝穿刺组织样品的基础上, 提出了脂肪变性活化纤维化 (steatosis activity fibrosis, SAF) 评分系统。该系统分别从脂肪变性、活性 (根据肝细胞气球样变性与小叶炎症未加权总分判断) 和纤维化三

个维度来总结肝脏组织病理学损伤,在对损伤程度进行分级后做出诊断(图1)。之后在2014年又提出了脂肪肝进展抑制算法(fatty liver inhibition of progression, FLIP),FLIP与SAF的共同使用可以降低病理学家间的读片差异,提高诊断准确度^[36]。NAS和SAF是目前诊断NAFLD使用最为广泛的组织病理学评分系统(表1)。对于NASH患者的诊断,虽然NAS和SAF评分系统表现出很高的一致性,但是与SAF评分系统相比,NAS评分系统存在低估NASH的风险,约50%的NAS“边缘性”患者经过SAF确诊为NASH患者^[37]。

肝穿刺活检采用侵入式有创手段,患者耐受性低、费用高昂、取样简便性差、取样错误大、病理学家依赖性高以及存在因组织穿刺而导致的出血和感染等并发症风险,甚至可能导致死亡^[38-40]。此外,肝穿刺组织活检只是基于小样肝组织的诊断,可能无法代表肝脏组织其他部位的病理特征^[21]。因此,肝穿刺活检的应用场景很有限,而对患者侵害性相对更低的标志物检查则更有利于临床医生对患者的诊断、分级管理和疾病动态监测。

3.2 影像学检查

临床医生在对疑似NAFLD患者诊断时往往最想要了解的是:(1)肝脏脂肪量化;(2)炎症和纤维化水平;(3)可以长时间纵向监测疾病的变化^[41]。

基于此,组织病理学检查存在未满足的需求,而影像学检查则可以更好地满足临床应用的需求。影像学检查主要是对肝脏脂肪含量的检测,以及评估NAFLD向纤维化进展过程中硬度、扩散、灌注、代谢物和图像纹理等关键指征的变化,其中最为重要的是肝脏硬度(弹性)特征^[42-43]。

3.2.1 超声波检查

超声检查法(ultrasonography, US)是一种利用超声波在人体组织内传导过程中,具有不同声阻抗特性的组织将产生位移的声波反射产生回声,再将声波的速度转换成肝脏硬度,以此来做出诊断^[44]。对于肝脏来说,纤维化程度越高,组织硬度越大,那么超声波横波的传播速度就越快。普通超声是最早应用于NAFLD诊断的影像学技术。常规超声诊断主要观察三个方面内容:(1)肝脏近场实质回声弥漫性增强(明亮肝),强于肾脏皮质回声;(2)肝内管道结构显示不清;(3)肝脏远场实质回声逐渐衰减^[45]。具备以上2项者可被诊断为弥漫性脂肪肝。

瞬时弹性成像(transient elastography, TE, 又称Fibroscan)是一种基于超声传播原理的诊断技术。仪器的探头利用脉冲回波来跟踪超声波横波在肝脏组织内的传播,通过测量声波的传播速度(m/s)来提供肝脏硬度的测量值,以此来帮助临床医生做出诊断^[46]。虽然TE可以准确预测肝纤维化及其分期,

脂肪变性等级 (S ₀ , S ₁ , S ₂ , S ₃)	肝细胞气球样变性 分数(0, 1, 2)	小叶炎症分数 (0, 1, 2)	诊断结果
S ₀	0, 1, 2	0, 1, 2	No NAFLD
S ₁ , S ₂ , S ₃	0	0	NAFLD
		1	NAFLD
		2	NAFLD
	1	0	NAFLD
		1	NASH
		2	NASH
2	0	NAFLD	
	1	NASH	
	2	NASH	
第1轮打分	第2轮打分	第3轮打分	

图1 使用SAF评分系统诊断NAFLD的流程示意图

表1 NAS和SAF评分系统工作总结

项目	NAS (NIH NASH CRN)		项目	SAF	
	内容描述	评分		内容描述	等级/评分
脂肪变性程度	< 5%	0	< 5%	S ₀	
	5%~33%	1	5%~33%	S ₁	
	33%~66%	2	34%~66%	S ₂	
	> 66%	3	> 67%	S ₃	
小叶炎症	无焦点	0	无活性 (0)	A ₀	
	< 2 焦点每200 x视场	1	轻度活性 (1)	A ₁	
	2~4焦点每200 x视场	2	中度活性 (2)	A ₂	
	> 4焦点每200 x视场	3	重度活性 (≥ 3)	A ₃	
肝细胞气球样变性	无	0	无	0	
	少量气球样变性细胞	1	圆形、暗淡及网织化细胞质的肝细胞聚集成簇	1	
	很多或主要是气球样变性细胞	2	肝细胞比评分为1的细胞显著增大(>2 倍正常肝细胞大小)	2	
诊断结果分级	非NASH	≤ 2	无焦点	0	
	可能或者NASH边缘	3-4	≤ 2焦点每20 x视场	1	
	是NASH	≥ 5	> 2焦点每20 x视场	2	
			无	F ₀	
			3区窦周处于1a 或者1b阶段, 或者门静脉纤维化处于1c阶段	F ₁	
			窦周和门静脉周纤维化, 且无桥接纤维化	F ₂	
			桥接纤维化	F ₃	
			肝硬化	F ₄	
			根据上述特征评分评级汇总诊断	S _{0,3} A _{0,3} F _{0,4}	
			诊断结果分级		

NAS: 非酒精性脂肪性肝病活跃度分数; NASH: 非酒精性肝炎; NIH NASH CRN: 美国国家卫生研究院NASH临床研究网络; SAF: 脂肪变性活化纤维化。

但不能评估脂肪含量,并且会因为肥胖、炎症反应和腹水等干扰因素而存在一定的失败率^[47]。

点横波弹性成像 (point shear wave elastography, pSWE) 也被称为声辐射力脉冲成像 (acoustic radiation force impulse imaging, ARFI), 其利用短暂的声脉冲对组织内特定区域进行激发, 脉冲所产生的横波会根据肝脏组织的弹性程度而发生瞬时、局部微米级位移, 以此来检查肝脏的病变特征^[48]。但是 pSWE 仅适用于晚期纤维化, 并不适用于 NASH 的诊断。

定量超声 (quantitative ultrasound, QUS) 作为一种最新的超声技术, 其利用后向散射系数来测量评估肝脏脂肪变性。Lin 等^[49] 的研究表明, 当向散射系数阈值设置为 0.0038 时, QUS 检测的灵敏度和特异性分别达到了 93% 与 98%, 曲线下面积 (area under curve, AUC) 达到 0.98。

超声的灵敏度会随着脂肪变性程度的增加而增加。超声因为普及性高、比核磁共振更经济且可以稳健地诊断出中度和重度脂肪变性, 从而提供肝胆相关信息, 因此被推荐为评估疑似 NAFLD 患者脂肪变性的一线方法^[3]。但是, 诊断的准确度会受到身体质量指数 (body mass index, BMI) 的影响, 往往 BMI >40 kg/m² 时检测的灵敏度和质量便会明显下降^[50]。受限于 US 的灵敏度, 应用于脂肪变性程度 <20% 的诊断结果将不再可靠^[51]。

3.2.2 核磁共振检查

核磁共振 (magnetic resonance, MR) 测定特定组织中脂肪含量的物理基础是化学位移。其利用水和脂肪中质子之间共振频率的差异来定量测量脂肪分数信号和 (或) 质子密度脂肪分数。磁共振波谱 (magnetic resonance elastography, MRE) 和磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 是两种最为常用的基于 MR 技术原理来评估肝脏脂肪变性程度的手段。

MRI-PDFF 可以通过计算来源于肝脏中甘油三酯的可移动质子密度与甘油三酯和水中的可移动质子总密度的比值来对肝脏组织中的脂肪含量进行定量分析^[52], 是测量肝脏组织脂肪含量的金标准。MRI-PDFF 在以 6.4% 作为阈值时, 诊断 1 级脂肪变性 (<33% 的实质细胞被脂滴浸润) 的灵敏度和特异性分别为 86% 和 83%, 与组织病理学诊断结果具有很好的相关性^[53-54]。在一项包含 1 100 例慢性肝病患者的临床分析中, 使用 MRI-PDFF 测量肝脏脂肪含量, 对分级为 G1、G2、G3 等级的肝脂肪变性进行预测, AUC 达到 0.91~0.98, 与肝穿刺活检

具有显著的相关性^[55]。在一项 NASH 临床试验中, 与组织病理学检查相比, MRI-PDFF 可以更好地评估肝脏脂肪的含量变化^[56]。此外, MRI-PDFF 独立性更强, 不受年龄、性别、BMI 等因素, 以及疾病病因和其他类型肝病的影响^[54, 56-57]。

MRE 则是通过引入横波并测量其传播速度来评估肝脏硬度的成像技术, 但是需要特殊适配器以及软硬件设施。Kim 等^[58] 在对 325 例患者的研究中, 使用组织病理检查作为确认手段, 当阈值设置为 4.15 kPa 时, MRE 可以在 NAFLD 患者中准确地鉴别出 F3~F4 级别纤维化的患者, 具有 85% 的灵敏性和 92.5% 的特异性, AUC 达到了 0.954。

3.3 生物标志物筛查

相比肝穿刺活检和影像学检查, 生物标志物筛查具有更高的便捷度和可及性, 并且患者的耐受度更高、成本更低。这类方法往往只需要通过人体测量学数据和实验室血液生化标志物指标就可以对患者做出疾病评估, 非常适用于易感人群的大规模筛查。

3.3.1 传统标志物

NIH NASH CRN 为了评估 NAFLD 患者中的纤维化程度等级, 提出了 NAFLD 纤维化分数 (NAFLD Fibrosis Score, NFS), 综合利用人体测量学数据和实验室检查指标中的 6 个变量进行加权评分, 包括年龄、BMI、高血脂 / 糖尿病、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 与谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 比值、血小板计数以及血清白蛋白, 以此来区分晚期纤维化 (F3~F4) 和非晚期纤维化 (F0~F2)^[59]。

AST/Platelet 比值指数 (AST and platelet ratio, APRI) 被证明可以应用于评估慢性肝病患者中的纤维化状态, 并且具有较好的相关性^[60]。但是, 在其他的研究报告中发现 APRI 的 AUC 较低且波动范围较大。FibroTest-FibroSURE 是一组血清生物标志物的组合, 包含 α 2-微球蛋白、结合珠蛋白、载脂蛋白 A1、总胆红素和 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -glutamyl transpeptidase, GGT), 可以作为评估各种慢性肝病纤维化的非侵入性标志物^[61]。在一项临床对比研究中, 基于 BMI、AST、ALT 和糖尿病存在进行加权计算的 BARD 评分方法, 其与 NFS 评分具备相同的诊断能力, 可以很好地预测晚期纤维化^[62]。

Bedogni 等^[63] 基于 BMI、腰围、甘油三酯 (triglycerides, TG) 和 GGT 指标, 利用逐步回归算法, 提出了脂肪肝指数 (fatty liver index, FLI), 当 FLI < 30 时可以排除肝脏脂肪变性, FLI > 60 则会被

诊断为肝脏脂肪变性。FLI 方法对脂肪肝诊断的准确度 AUC 可以达到 0.84。

FIB-4 指数最初是作为一种全新的非侵入式诊断手段, 利用医院常规检查中年龄、ALT、AST 以及血小板计数指标来评估 HIV 和 HCV 共感染患者的肝损状态^[64]。之后 Shah 等^[65]将 FIB-4 应用于 NAFLD 的评估中, FIB-4 诊断纤维化的 AUC 达到 0.8, 甚至在 NAFLD 患者的纤维化评估中比 NFS 和 AAR 等其他 7 种非侵入式诊断工具效果更优。

Kotronen 等^[66]利用包括代谢综合征、2 型糖尿病、空腹血清胰岛素 (fS-insulin)、空腹血清 AST (fS-AST)、AST/ALT 比值的五项指标, 经过多元逻辑回归分析, 推出了 NAFLD 肝脏脂肪分数 (NAFLD liver fat score, NLFS), 可以应用于 NAFLD 诊断和肝脏脂肪含量分析, 灵敏性和特异性分别为 86% 与 71%, AUC 达到 0.87。Lee 等^[67]基于 NAFLD 的独立风险因素 AST/ALT 比值、BMI、糖尿病状态, 进行逻辑回归分析, 提出了 HSI 分数, 其灵敏性和特异性分别为 66% 与 69%, AUC 为 0.81, 但在糖尿病患者中的应用表现比较差。

至今, 对于 NAFLD 的非侵入式标志物诊断方法推陈出新, 除了以上分数指数系统之外, 还包括增强肝脏纤维化分数 (enhanced liver fibrosis, ELF)、内脏脂肪指数 (visceral adiposity index, VAI) 和脂质蓄积产生指数 (lipid accumulation product, LAP) 等^[68-70]。总之, 这些脂肪肝指标对疾病不同阶段的检测准确性互有不同 (表 2), 但是在检测脂肪变性方面的效果都表现一般, 仅可以作为肝脏脂肪含量的替代参数。

3.3.2 新兴生物标志物

有研究表明, NAFLD 患者中存在明显的肠道生态失调, 因此可以通过肠道微生物菌群分析来预测 NAFLD 的进展阶段。在 NAFLD 从简单的脂肪变性进展至晚期纤维化过程中, 肠道中革兰氏阴性菌群的丰度增加, 特别是变性杆菌 (*Proteus*)^[71]。Loomba 等^[72-73]在一项前瞻性研究中, 联合血清学指标和 37 种肠道微生物菌群, 构建随机森林分类模型 (Random Forest classifier model), 可以从晚期肝硬化患者中区分出轻度和中度 NAFLD 患者, 稳健地诊断出晚期肝硬化, AUC 达到 0.936。Oh 等^[74]利用肠道微生物宏基因组学和代谢物组学联合年龄进行分析, 构建出 RF 学习模型, 可以准确地预测出肝硬化患者, 当增加血清白蛋白指标之后, 模型诊断准确率得到了提高, AUC 为 0.91, 并且模型

也适用于中国人群, AUC 为 0.95。

MiRNA 是一类内源性的非编码 RNA, 广泛参与调控机体的各项生命活动。已有研究人员发现 miRNA 受机体主动调控或由于细胞应激、凋亡和坏死等原因被动释放进入各类体液之中。各类体液中游离 miRNA 的存在激发了众多研究人员将其作为病理诊断、预后监测和治疗反应的新型生物标志物的兴趣, 包括 NAFLD。Piroola 等^[75]在研究血清游离 miRNA 在 NAFLD 中的表达特征时发现, miR-122、miR-192、miR-19a、miR-19b、miR-125b 和 miR-375 的表达在 NAFL 和 NASH 中均显著上调, 其中 miR-122 在 NASH 患者中相比对照组上调 7.2 倍, 相比 NAFL 组则上调 3.1 倍。Kim 等^[76]使用小核酸测序分析 NAFLD 和 NASH 样本时发现, miR-21-5p、miR-151a-3p、miR-192-5p 和 miR-4449 对 NASH 均具有较好的诊断能力, 联合使用这 4 个小核酸则显示出优越的诊断能力, AUC 为 0.875 (95% CI 0.676~0.973), 并且在验证组中也得到了同样的结果。Harrison 等^[77]在一项前瞻性和大规模验证研究中表明, 利用包括 miR-34a-5p 在内的 4 项血清学指标构建的 NIS4 算法可以准确地对 NASH 做出诊断, AUC 为 0.80 (95% CI 0.73~0.85), 并且诊断模型不受年龄、性别、BMI 和 AST 的影响。López-Riera 等^[78]在研究血清 miRNA 作为 NAFLD 生物标志物时发现, miR-34a 与 miR-197 比值和 miR-27b 与 miR-30c 比值均对 NASH 具有良好的诊断性能, AUC 为 0.81。

随着疾病机制研究的深入, 越来越多的蛋白质也被报道参与到 NAFLD 的发病机制中, 这提供了全新的蛋白诊断标志物可能。Corey 等^[79]利用以适配体为基础原理的蛋白质组学分析了不同人群中的 4 783 个蛋白, 发现 ADAMTSL2 (the protein A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs like 2) 可以准确地从重度纤维化患者 (F2~4) 中区分出轻度纤维化 (F0~1) 患者, AUC 为 0.86。同时他们也发现包括 ACY1、ADAMTSL2、ADH4、ALDOC、ASL、ENPP7、FBP1 和 FTCD 在内的 8 个蛋白质组 (NFPP, the NAFLD fibrosis panel) 也具有相似的诊断性能, AUC 为 0.86^[79]。总之, 新兴的潜在生物标志物为 NAFLD 诊断提供了新的研究思路。

4 总结与展望

NAFLD 作为一类系统性疾病, 它的发生发展伴随着一系列的并发症, 反过来也受到多重风险因

表2 非侵入式诊断评分系统的工作内容总结

评分系统	参数	计算公式	曲线下面积(AUC)	灵敏性	特异性	诊断参考值
NAFLD纤维化分数(NFS)	年龄、BMI、糖尿病、AST、ALT、血小板计数、血清白蛋白	$-1.675 + 0.037 \times \text{年龄} [\text{yr}] + 0.094 \times \text{BMI} [\text{kg/m}^2] + 1.13 \times \text{糖尿病} (\text{是}=1; \text{否}=0) + 0.99 \times \text{AST/ALT比值} - 0.013 \times \text{血小板计数} [10^9/\text{L}] - 0.66 \times \text{白蛋白} (\text{g/dL})$	0.82~0.88 (95% CI 0.76~0.88)	43%	96%	<-1.455排除晚期纤维化; >0.676可诊断晚期纤维化
APRI指数	AST、血小板计数	$\text{AST}[\text{U/L}] / \text{血小板计数} [10^9/\text{L}] \times 100$	0.67~0.85	66%	91%	>2可诊断为肝硬化
FibroTest	总胆红素、GGT、 $\alpha 2$ 微球蛋白、载脂蛋白A1、结合珠蛋白	在线计算	0.81 (95% CI 0.74~0.86)	92%	71%	<0.30排除晚期纤维化; >0.70可诊断为晚期纤维化
BARD	BMI、AST/ALT比值、糖尿病	未加权总和: BMI $\geq 28 = 1$ 分, AST/ALT比值 $\geq 0.8 = 2$ 分, 糖尿病 = 1分	0.67~0.87	未知	未知	得分2~4分可诊断为晚期纤维化
脂肪肝指数(FLI)	BMI、腰围、甘油三酯、GGT	逐步逻辑回归算法	0.84 (95% CI 0.81~0.87)	61%	86%	<30排除脂肪肝变性; ≥ 60 可诊断为脂肪肝变性
FIB-4指数	年龄、AST、ALT、血小板计数	$(\text{年龄}[\text{yr}] \times \text{AST}[\text{U/L}] / (\text{血小板计数} [10^9/\text{L}] \times (\text{ALT}[\text{U/L}])^{1/2})) - 2.89 + 1.18 \times \text{代谢综合征} (\text{是}=1; \text{否}=0) + 0.45 \times 2 \text{型糖尿病} (\text{是}=2; \text{否}=0) + 0.15 \times \text{空腹胰岛素} (\text{mU/L}) + 0.04 \times \text{空腹AST} (\text{U/L}) - 0.94 \times \text{AST/ALT}$	0.86 (95% CI 0.76~0.85)	33%	98%	<1.45排除NAFLD; >3.25可诊断为NAFLD
NAFLD肝脏脂肪分数(NLFS)	代谢综合征、2型糖尿病、空腹胰岛素、空腹AST、AST/ALT	同上	0.87 (95% CI 0.83~0.90)	86%	71%	<-0.640排除NAFLD; >-0.640可诊断为NAFLD
肝脏脂肪变性指数(HSI)	ALT/AST、BMI、糖尿病	$8 \times (\text{ALT}/\text{AST}) + \text{BMI} (\text{女性}+2; \text{糖尿病}+2)$	0.81 (95% CI 0.80~0.82)	45%	93%	<30.0排除NAFLD; >36.0可诊断为NAFLD
增强肝脏纤维化(ELF)	金属蛋白酶1 (TIMP-1)、III型前胶原N端前肽(PIIINP)、透明质酸(HA)	未知	0.90 (95% CI 0.84~0.96)	80%	90%	<7.7排除肝纤维化; >11.3 可诊断为肝纤维化

BMI: 身体质量指数; AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶; GGT: γ -谷氨酰转肽酶; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病。

素的影响, 是全球范围内危害人类生命健康的高发性、难治性疾病。自 NAFLD 提出至今四十多年的时间里, 随着基础科学研究和临床研究的不断深入, 在 NAFLD 的病理生理学和自然史方面都取得了重大的突破和进展, 但是至今仍然未明确其发病机理, 使得对 NAFLD 的治疗手段选择极其有限。世界范围内并无 NAFLD 特效药, 治疗仍然以干预来延缓疾病进展为主。

采用早筛查、早诊断、早预防、早干预的思路是目前控制 NAFLD 疾病发生、发展的最佳选择。这就对临床诊断方法的灵敏性、特异性、准确度、重复性、客观性、可及性、成本等提出了更高的要求。肝穿刺活检作为 NAFLD 诊断的金标准, 在 NAFLD 的诊断中具有不可替代的作用, 但是其有创性、取样困难、伴随并发症风险、患者耐受性低等不足限制了其在早筛和治疗监测中的应用, 仅仅可以在手术患者中使用。影像学检查是当下诊断 NAFLD 最为常用的技术手段, 其中 MRI-PDFF 更是公认的定量测量肝脏脂肪含量的金标准。但是, 也因为其设备要求高、普及性较低、高成本、半侵入性和放射性等缺点, 使得它同样不适于用作大规模人群的筛查。生物标志物往往通过医院常规检查便可获取诊断证据, 该特点满足大规模筛查的基本需求, 但是已报道的标志物筛查方法存在检测性能上参差不齐, 标志物机制欠明确、特异性低等不足, 仅仅可以作为 NAFLD 的一种提示。

临床上迫切需要新技术的突破来满足上述对诊断方法的需求。在疾病机制研究的基础上寻找新的特异性标志物成为了 NAFLD 诊断方法研究的热门方向, 而 miRNA 便是其中的明星分子之一。新的生物标志物应该满足: (1) 存在明确的参与疾病机制; (2) 与疾病具有特异性; (3) 样本容易获取, 最好是来源于血液、尿液和唾液等体液; (4) 标志物生物稳定性高, 较易于保存; (5) 实验室常规技术手段可以实现检测。相信随着 NAFLD 基础科研和临床研究的不断深入, 必将推动新的诊断技术的突破。

[参 考 文 献]

- [1] Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 1980, 55: 434-8
- [2] Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. *Prog Liver Dis*, 1986, 8: 283-98
- [3] European Association for the Study of the L, European Association for the Study of D, European Association for the Study of O. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2016, 64: 1388-402
- [4] Eslam M, Sanyal AJ, George J, et al. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2020, 158: 1999-2014
- [5] 范建高, 金倩. 代谢相关脂肪性肝病更名的困境与挑战. *西南医科大学学报*, 2022, 45: 373-6
- [6] Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*, 2015, 62: S47-64
- [7] Powell EE, Wong VW, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet*, 2021, 397: 2212-24
- [8] Ioannou GN. Epidemiology and risk-stratification of NAFLD-associated HCC. *J Hepatol*, 2021, 75: 1476-84
- [9] Pouwels S, Sakran N, Graham Y, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocr Disord*, 2022, 22: 63
- [10] Riazi K, Azhari H, Charett JH, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7: 851-61
- [11] Nobili V, Alisi A, Newton KP, et al. Comparison of the phenotype and approach to pediatric vs adult patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2016, 150: 1798-810
- [12] Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10: 686-90
- [13] Zou H, Ge Y, Lei Q, et al. Epidemiology and disease burden of non-alcoholic steatohepatitis in greater China: a systematic review. *Hepatol Int*, 2022, 16: 27-37
- [14] Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15: 11-20
- [15] 李璐雅, 吴建新. 基于基因表达数据库分析非酒精性脂肪肝炎的核心基因及分子机制. *中华医学杂志*, 2021, 101: 3317-22
- [16] Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 2016, 65: 1038-48
- [17] Machado MV, Diehl AM. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 2016, 150: 1769-77
- [18] Karkucinska-Wieckowska A, Simoes ICM, Kalinowski P, et al. Mitochondria, oxidative stress and nonalcoholic fatty liver disease: a complex relationship. *Eur J Clin Invest*, 2022, 52: e13622
- [19] Chang E, Chang JS, Kong ID, et al. Multidimensional biomarker analysis including mitochondrial stress indicators for nonalcoholic fatty liver disease. *Gut Liver*, 2022, 16: 171-89
- [20] Tokushige K, Ikejima K, Ono M, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis 2020. *Hepatol Res*, 2021, 51: 1013-25

- [21] Nassir F. NAFLD: mechanisms, treatments, and biomarkers. *Biomolecules*, 2022, 12: 824
- [22] Sunny NE, Bril F, Cusi K. Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: novel mechanisms and treatment strategies. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28: 250-60
- [23] Li YY, Cao CY, Zhou YL, et al. The roles and interaction of FXR and PPARs in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Arab J Gastroenterol*, 2020, 21: 162-8
- [24] Di Ciaula A, Passarella S, Shanmugam H, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). mitochondria as players and targets of therapies? *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 5375
- [25] Perry RJ, Zhang D, Zhang XM, et al. Controlled-release mitochondrial protonophore reverses diabetes and steatohepatitis in rats. *Science*, 2015, 347: 1253-6
- [26] Marjot T, Ray DW, Tomlinson JW. Is it time for chronopharmacology in NASH? *J Hepatol*, 2022, 76: 1215-24
- [27] 郭亮, 汤其群. 非酒精性脂肪肝发病机制和治疗的研究进展. *生命科学*, 2018, 30: 1165-72
- [28] 李艳, 祝维泽, 李后开. 中药复方和活性化合物调节肠道菌群治疗非酒精性脂肪肝的研究进展. *药学学报*, 2022, 57: 3451-64+50
- [29] Iacob S, Beckebaum S, Iacob R, et al. Genetic and life style risk factors for recurrent non-alcoholic fatty liver disease following liver transplantation. *Front Nutr*, 2021, 8: 787430
- [30] Kleiner DE, Makhlof HR. Histology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in adults and children. *Clin Liver Dis*, 2016, 20: 293-312
- [31] Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, et al. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology*, 2011, 53: 1874-82
- [32] Joseph AE, Saverymuttu SH, al-Sam S, et al. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin Radiol*, 1991, 43: 26-31
- [33] Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94: 2467-74
- [34] Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2005, 41: 1313-21
- [35] Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*, 2012, 56: 1751-9
- [36] Bedossa P, Consortium FP. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2014, 60: 565-75
- [37] Schmitz SM, Kroh A, Ulmer TF, et al. Evaluation of NAFLD and fibrosis in obese patients - a comparison of histological and clinical scoring systems. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20: 254
- [38] Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 9026-37
- [39] Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*, 1999, 116: 1413-9
- [40] Younossi ZM. Long-term outcomes of nonalcoholic fatty liver disease: from nonalcoholic steatohepatitis to nonalcoholic steatofibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2017, 15: 1144-7
- [41] Ajmera V, Loomba R. Imaging biomarkers of NAFLD, NASH, and fibrosis. *Mol Metab*, 2021, 50: 101167
- [42] Dulai PS, Sirlin CB, Loomba R. MRI and MRE for non-invasive quantitative assessment of hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD and NASH: Clinical trials to clinical practice. *J Hepatol*, 2016, 65: 1006-16
- [43] Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, et al. Diagnostic modalities for nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and associated fibrosis. *Hepatology*, 2018, 68: 349-60
- [44] Aldrich JE. Basic physics of ultrasound imaging. *Crit Care Med*, 2007, 35: S131-7
- [45] Papatheodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): current concepts. *Curr Pharm Des*, 2018, 24: 4574-86
- [46] Liver EAfSot. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*, 2015, 63: 237-64
- [47] 李亚雪, 薛红元, 武晓静. 超声诊断代谢功能障碍相关性脂肪肝的研究进展. *疑难病杂志*, 2022, 21: 772-5
- [48] Bamber J, Cosgrove D, Dietrich CF, et al. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. *Ultraschall Med*, 2013, 34: 169-84
- [49] Lin SC, Heba E, Wolfson T, et al. Noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease and quantification of liver fat using a new quantitative ultrasound technique. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015, 13: 1337-45. e6
- [50] Jayakumar S, Harrison SA, Loomba R. Noninvasive markers of fibrosis and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Hepatol Rep*, 2016, 15: 86-95
- [51] Fishbein M, Castro F, Cheruku S, et al. Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *J Clin Gastroenterol*, 2005, 39: 619-25
- [52] Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, et al. Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy. *J Magn Reson Imaging*, 2011, 34: 729-49
- [53] Tang A, Desai A, Hamilton G, et al. Accuracy of MR imaging-estimated proton density fat fraction for classification of dichotomized histologic steatosis grades in nonalcoholic fatty liver disease. *Radiology*, 2015, 274: 416-25
- [54] Permutt Z, Le TA, Peterson MR, et al. Correlation between liver histology and novel magnetic resonance

- imaging in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease - MRI accurately quantifies hepatic steatosis in NAFLD. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36: 22-9
- [55] Qu Y, Li M, Hamilton G, et al. Diagnostic accuracy of hepatic proton density fat fraction measured by magnetic resonance imaging for the evaluation of liver steatosis with histology as reference standard: a meta-analysis. *Eur Radiol*, 2019, 29: 5180-9
- [56] Noureddin M, Lam J, Peterson MR, et al. Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials. *Hepatology*, 2013, 58: 1930-40
- [57] Le TA, Chen J, Changchien C, et al. Effect of colesvelam on liver fat quantified by magnetic resonance in nonalcoholic steatohepatitis: a randomized controlled trial. *Hepatology*, 2012, 56: 922-32
- [58] Kim D, Kim WR, Talwalkar JA, et al. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography. *Radiology*, 2013, 268: 411-9
- [59] Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 2007, 45: 846-54
- [60] Yilmaz Y, Yonal O, Kurt R, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis with the aspartate transaminase to platelet ratio index (APRI): usefulness in patients with chronic liver disease. *Hepat Mon*, 2011, 11: 103-6
- [61] Ratziu V, Massard J, Charlotte F, et al. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*, 2006, 6: 6
- [62] Cichoż-Lach H, Celiński K, Prozorow-Król B, et al. The BARD score and the NAFLD fibrosis score in the assessment of advanced liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Med Sci Monit*, 2012, 18: Cr735-40
- [63] Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, et al. The fatty liver index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*, 2006, 6: 33
- [64] Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*, 2006, 43: 1317-25
- [65] Shah AG, Lydecker A, Murray K, et al. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009, 7: 1104-12
- [66] Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, et al. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology*, 2009, 137: 865-72
- [67] Lee JH, Kim D, Kim HJ, et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*, 2010, 42: 503-8
- [68] Anstee QM, Castera L, Loomba R. Impact of non-invasive biomarkers on hepatology practice: past, present and future. *J Hepatol*, 2022, 76: 1362-78
- [69] Ebrahimi M, Seyedi SA, Nabipoorashrafi SA, et al. Lipid accumulation product (LAP) index for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis. *Lipids Health Dis*, 2023, 22: 41
- [70] Ismaiel A, Jaouani A, Leucuta DC, et al. The visceral adiposity index in non-alcoholic fatty liver disease and liver fibrosis-systematic review and meta-analysis. *Biomedicines*, 2021, 9: 1890
- [71] Pettinelli P, Arendt BM, Schwenger KJP, et al. Relationship between hepatic gene expression, intestinal microbiota, and inferred functional metagenomic analysis in NAFLD. *Clin Transl Gastroenterol*, 2022, 13: e00466
- [72] Loomba R, Seguritan V, Li W, et al. Gut microbiome-based metagenomic signature for non-invasive detection of advanced fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metab*, 2019, 30: 607
- [73] Loomba R, Seguritan V, Li W, et al. Gut microbiome-based metagenomic signature for non-invasive detection of advanced fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metab*, 2017, 25: 1054-62. e5
- [74] Oh TG, Kim SM, Caussy C, et al. A universal gut-microbiome-derived signature predicts cirrhosis. *Cell Metab*, 2020, 32: 878-88. e6
- [75] Pirola CJ, Fernandez Gianotti T, Castano GO, et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis. *Gut*, 2015, 64: 800-12
- [76] Kim TH, Lee Y, Lee YS, et al. Circulating miRNA is a useful diagnostic biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*, 2021, 11: 14639
- [77] Harrison SA, Ratziu V, Boursier J, et al. A blood-based biomarker panel (NIS4) for non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis: a prospective derivation and global validation study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5: 970-85
- [78] López-Riera M, Conde I, Quintas G, et al. Non-invasive prediction of NAFLD severity: a comprehensive, independent validation of previously postulated serum microRNA biomarkers. *Sci Rep*, 2018, 8: 10606
- [79] Corey KE, Pitts R, Lai M, et al. ADAMTSL2 protein and a soluble biomarker signature identify at-risk non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis in adults with NAFLD. *J Hepatol*, 2022, 76: 25-33