

血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价

张占卿, 陆伟, 王雁冰, 贾小芳, 张丽军, 丁荣蓉, 周新兰, 冯艳玲

张占卿, 陆伟, 王雁冰, 丁荣蓉, 周新兰, 上海市公共卫生临床中心肝病二科 上海市 201508
贾小芳, 张丽军, 上海市公共卫生临床中心科研中心 上海市 201508
冯艳玲, 上海市公共卫生临床中心病理科 上海市 201508
上海市科委医学引导类基金资助项目, No. 09411965800
国家“863”高技术研究发展计划生物和医药领域重大/重点基金资助项目, No. 2006AA02A411
作者贡献分布: 张占卿与张丽军对此文所作贡献均等; 此课题由张占卿与张丽军共同设计; 资料收集由张占卿、陆伟、王雁冰、丁荣蓉及周新兰协作完成; 相关实验由贾小芳与冯艳玲完成; 资料整理由陆伟完成; 数据分析由张占卿完成; 本论文写作由张占卿完成。
通讯作者: 张占卿, 主任医师, 201508, 上海市金山区漕廊公路2901号, 上海市公共卫生临床中心肝病二科。
doctorzzqsphc@yahoo.com.cn
收稿日期: 2012-11-29 修回日期: 2013-04-14
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-18

Plasma amino acid ratio models for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B

Zhan-Qing Zhang, Wei Lu, Yan-Bing Wang, Xiao-Fang Jia, Li-Jun Zhang, Rong-Rong Ding, Xin-Lan Zhou, Yan-Ling Feng

Zhan-Qing Zhang, Wei Lu, Yan-Bing Wang, Rong-Rong Ding, Xin-Lan Zhou, Department of Hepatology (Division II), Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Xiao-Fang Jia, Li-Jun Zhang, Scientific Research Center, Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Yan-Ling Feng, Department of Pathology, Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Supported by: the Foundation of Shanghai Committee of Science and Technology, No. 09411965800; and the National High-tech R&D Program (863 Program), No. 2006AA02A411
Correspondence to: Zhan-Qing Zhang, Chief Physician, Department of Hepatology (Division II), Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, 2901 Caolangong Road, Shanghai 201508, China. doctorzzqsphc@yahoo.com.cn
Received: 2012-11-29 Revised: 2013-04-14
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To explore the efficacy of ratio models

based on plasma molar concentrations of 6 types of amino acids for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B.

METHODS: One hundred and forty-eight patients with pathologically diagnosed chronic hepatitis B were enrolled in the present study. Plasma molar concentrations of amino acids were determined by high performance liquid chromatography. Plasma amino acid ratio models were established by fraction function. Bayes stepwise discriminant analyses were used for assessment of the ratio models of plasma amino acid ratio model for discrimination of pathological status of liver tissues.

RESULTS: The Fisher discriminant functions based on the ratio models of plasma amino acids for discrimination of different pathological grades were: $G1 = -7.263 + 10.876 \times \text{leucine (pmol/L)} / [\text{tyrosine (pmol/L)} + \text{methionine (pmol/L)}]$, $G2 = -5.700 + 9.396 \times \text{leucine (pmol/L)} / [\text{tyrosine (pmol/L)} + \text{methionine (pmol/L)}]$, and $G3 = -4.249 + 7.775 \times \text{leucine (pmol/L)} / [\text{tyrosine (pmol/L)} + \text{methionine (pmol/L)}]$. The Fisher discriminant functions based on the ratio models of plasma amino acids for discrimination of different pathological stages were: $S0 = -11.569 + 0.290 \times \text{age (years)} + 6.067 \times \text{leucine (pmol/L)} / \text{tyrosine (pmol/L)}$, $S1 = -12.321 + 0.306 \times \text{age (years)} + 6.172 \times \text{leucine (pmol/L)} / \text{tyrosine (pmol/L)}$, $S2 = -11.455 + 0.277 \times \text{age (years)} + 6.273 \times \text{leucine (pmol/L)} / \text{tyrosine (pmol/L)}$, $S3 = -11.335 + 0.305 \times \text{age (years)} + 5.562 \times \text{leucine (pmol/L)} / \text{tyrosine (pmol/L)}$, and $S4 = -12.811 + 0.371 \times \text{age (years)} + 4.622 \times \text{leucine (pmol/L)} / \text{tyrosine (pmol/L)}$. The correctly classified rates of the original grouped cases by the discriminant functions for discrimination of different pathological grades were 47.1% for G1, 30.5% for G2, and 70.9% for G3; the correctly classified rates of the original grouped cases by the discriminant functions for discrimination of different pathological stages were 0.0% for S0, 10.3% for S1, 40.4% for S2, 19.2% for S3, and 62.5% for S4.

背景资料

肝脏是除支链氨基酸之外的其他氨基酸,特别是含硫氨基酸和芳香族氨基酸的主要代谢部位。肝脏储备功能下降导致含硫氨基酸和芳香族氨基酸血浆浓度升高和支链氨基酸(含硫氨基酸和/或芳香族氨基酸)摩尔比值下降,对慢性肝炎疾病状态评估有潜在意义。

同行评议者

管世鹤, 副教授, 安徽医科大学第一附属医院检验科

■ 研究前沿

代谢组学方法已在疾病诊断领域中广泛使用, 疾病状态下的代谢谱可通过数据挖掘技术提取更多的诊断疾病和评估疾病状态的有用信息。目前很少有文献采用代谢组学方法深入探讨血浆氨基酸模式判别慢性肝炎肝组织病理状态的价值。

CONCLUSION: The partial ratio models based on plasma molar concentrations of 6 types of amino acids are of significance for discrimination of different pathological grades and stages of liver tissues in patients with chronic hepatitis B.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Amino acid; Hepatitis B; Fibrosis; Ratio model; Discriminant analyses; Mathematic model; Noninvasive diagnosis

Zhang ZQ, Lu W, Wang YB, Jia XF, Zhang LJ, Ding RR, Zhou XL, Feng YL. Plasma amino acid ratio models for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(14): 1321-1326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1321.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i14.1321>

摘要

目的: 探讨基于6种氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型判别慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)肝组织病理状态的效能。

方法: 148例经肝组织病理学检查的CHB患者入选本研究。血浆氨基酸摩尔浓度测定采用Agilent 1100系列高效液相色谱仪。血浆氨基酸比例模型通过建立分数函数的方式构建。血浆氨基酸比例模型判别肝组织病理状态的效能的评价采用Bayes逐步判别分析。

结果: 基于血浆氨基酸比例模型构建的判别不同病理学分级的Fisher判别函数为: $G1 = -7.263 + 10.876 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $G2 = -5.700 + 9.396 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $G3 = -4.249 + 7.775 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$; 判别不同病理学分期的Fisher判别函数为: $S0 = -11.569 + 0.290 \times \text{年龄} + 6.067 \times \text{亮氨酸}/\text{酪氨酸}$, $S1 = -12.321 + 0.306 \times \text{年龄} + 6.172 \times \text{亮氨酸}/\text{酪氨酸}$, $S2 = -11.455 + 0.277 \times \text{年龄} + 6.273 \times \text{亮氨酸}/\text{酪氨酸}$, $S3 = -11.335 + 0.305 \times \text{年龄} + 5.562 \times \text{亮氨酸}/\text{酪氨酸}$, $S4 = -12.811 + 0.371 \times \text{年龄} + 4.622 \times \text{亮氨酸}/\text{酪氨酸}$ 。判别不同病理学分级的Fisher判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%; 判别不同病理学分期的Fisher判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%。

结论: 基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的部分比例模型对判别CHB肝组织不同病理学分级和分期有一定意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 氨基酸; 乙型肝炎; 肝纤维化; 比例模型; 判别分析; 数学模型; 无创诊断

核心提示: 本文探讨血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态有一定的指导意义。

陆伟, 王雁冰, 贾小芳, 张丽军, 丁荣蓉, 周新兰, 冯艳玲. 血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价. *世界华人消化杂志* 2013; 21(14): 1321-1326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1321.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i14.1321>

0 引言

血浆中由各种氨基酸及其浓度组成的氨基酸谱, 即氨基酸模式, 蕴涵着重要的反映机体代谢和功能状态的生物化学信息, 对慢性肝病疾病状态的评估有一定意义, 但很少有文献深入探讨血浆氨基酸模式判别不同病因慢性肝炎肝组织病理状态的价值。生物化学背景下的研究指出, 一些基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型如(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/(酪氨酸+苯丙氨酸)、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸和(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/(酪氨酸+苯丙氨酸+蛋氨酸)摩尔比值对失代偿性肝硬化有一定的诊断价值^[1]。本文就148例慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者6种血浆氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)的测定结果, 参照肝组织病理学诊断, 采用Bayes判别分析探讨基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型判别CHB疾病状态的效能。

1 材料与方法

1.1 材料 收集2009-01/2011-06上海市公共卫生临床中心(复旦大学附属)住院的CHB患者148例, 男108例, 女40例, 男:女=2.7:1.0; 年龄16-72岁, 平均(38.1±11.9)岁。诊断符合2010年中华医学会肝病学会、感染病学分会联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南》中的标准。合并其他病毒性肝炎、自身免疫性肝病、药物性肝病、遗传性肝病、血吸虫性肝病以及妊娠、肾脏疾病、内分泌与代谢疾病、血液系统疾病的患者被排除。所有患者均无失代偿性肝病的临床表现和实验室依据, 并且近3 mo内无输血或血制品史。

1.2 方法

1.2.1 病理学诊断: 肝组织活检采用1 s经皮肝穿刺法, 标本采集后立即置塑料标本管内冰冻送检。肝组织置塑料包埋盒中, 进行中性甲醛固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸入和

表 1 氨基酸血浆比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的Spearman相关系数

比例模型	分级		比例模型	分期	
	值	P值		值	P值
Leu/Tyr	-0.368	0.000	Leu/Tyr	-0.349	0.000
(Leu+Val)/Tyr	-0.368	0.000	(Ile+Leu)/Tyr	-0.350	0.000
(Ile+Leu+Val)/Tyr	-0.368	0.000	(Ile+Leu+Val)/Tyr	-0.345	0.000
Leu/(Tyr+Met)	-0.366	0.000	(Leu+Val)/Tyr	-0.342	0.000
(Ile+Leu)/(Tyr+Met)	-0.359	0.000	(Ile+Val)/Tyr	-0.336	0.000
(Ile+Val)/Tyr	-0.357	0.000	Val/Tyr	-0.311	0.000

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸; Met: 蛋氨酸.

包埋、切片, 苏木素-伊红染色和网状纤维染色. 肝组织标本的质量评价和肝组织病理学诊断由1名有经验的病理学医师独立完成. 肝组织病理学诊断参照2000年西安全国病毒性肝炎及肝病学术会议修订的标准. 病理学分级(grading, G)包括G0、G1、G2、G3、G4共5级, 分期(staging, S)包括S0、S1、S2、S3、S4共5期.

1.2.2 氨基酸血浆浓度测定: 所有患者于肝穿刺前后1周内早晨空腹采集静脉血, EDTA抗凝, 分离血浆. 氨基酸血浆浓度测定采用Agilent 1100系列高效液相色谱仪. 氨基酸标准品及衍生试剂购自Agilent公司. 使用Agilent Zorbax Eclipse AAA色谱柱(4.6×150 mm, 5 μm)和保护柱; 流动相A: 40 mmol/L Na₂HPO₄(pH 7.8), 流动相B: 10%H₂O+45%CAN+45%MeOH; 流速2 mL/min, 线性梯度: 0-18 min: 0%-57%B; 使用DAD UV检测器, 信号A = 338/10 nm, 参考 = 390/20 nm; 柱温40 °C. 采用在线衍生技术, 由液相色谱自动进样器全自动完成衍生化过程.

1.2.3 氨基酸比例模型构建: 肝脏是除支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸)之外的其他氨基酸, 特别是含硫氨基酸(蛋氨酸、胱氨酸、半胱氨酸)和芳香族氨基酸(色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸)的主要代谢部位, 因此, 含硫氨基酸和芳香族氨基酸的血浆摩尔浓度依赖于肝脏对他们的处理能力. 肝脏处理支链氨基酸的能力严格受限. 外周组织特别是骨骼肌是支链氨基酸的主要代谢部位, 因此, 支链氨基酸的血浆摩尔浓度主要被外周组织代谢所控制. 根据氨基酸的主要代谢部位, 6种氨基酸被分成两组, A组为以外周组织为主要代谢部位的氨基酸, 包括N_A个组分A_α(1≤α≤N_A); B组为以肝脏组织为主要代谢部位的氨基酸, 包括N_B个组分B_β(1≤β≤N_B). 建立分数函数 $F = \sum(\sum A_{\alpha} / \sum B_{\beta})$, 即基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的诊断肝组

织病理状态的比例模型; 式中 $\sum A_{\alpha}$ 是部分A_α的总和, $\sum B_{\beta}$ 是部分B_β的总和. 根据组合原理, n个组分的部分组合的数量 = 2ⁿ-1, 因此, 分数函数 $F = \sum(\sum A_{\alpha} / \sum B_{\beta})$ 的数量 = (2^{N_A}-1)×(2^{N_B}-1).

统计学处理 应用SPSS13.0软件处理数据. 基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的相关性采用Spearman等级相关分析. 由于根据部分变量组合构建的比例模型数量较大, 而且不是所有模型对肝组织病理状态有判别意义, 因此, 本文只选择与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个比例模型进行分析. 比例模型在不同病理学分级和分期之间的差异比较采用单因素方差分析; 根据方差齐性与否, 比例模型在肝组织不同病理学分级和分期之间的两两比较分别采用LSD法和Tamhane T2法. 比例模型判别不同病理学分级和分期的效能评价采用Bayes逐步判别分析, 分析方法采用Wilks' lambda法, 模型纳入变量的 $F > 3.84$, 剔除变量的 $F < 2.71$; 基于逐步判别分析构建的Fisher判别函数预测不同病理学分级和分期的一致性分析采用留一交叉验证法.

2 结果

2.1 氨基酸血浆比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的相关性 根据部分变量组合原理, 6种氨基酸共构建49个比例模型. 49个比例模型中, 42个比例模型与病理学分级呈显著负相关($P < 0.05$), 28个比例模型与病理学分期呈显著负相关($P < 0.05$); 其中与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型的Spearman相关系数见表1.

2.2 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分级和分期之间的差异 亮氨酸/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学

■ 相关报道

张占卿等的综述指出, 受数据分析技术的限制, 血浆氨基酸模式蕴涵的反映机体代谢和功能状态的生化信息尚未被充分开发, 包括Fischer摩尔比值或支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值在内的血浆氨基酸比例模型预测慢性肝炎疾病状态的有效性和可靠性还需被进一步评价.

■ 创新盘点

根据氨基酸的主要代谢部位,采用分式函数的方法构建了比血浆氨基酸浓度更加稳定的氨基酸比例模型;采用Bayes逐步判别分析,筛选了对慢性肝炎肝组织病理状态有判别意义的比例模型,构建了对慢性肝炎肝组织病理状态有判别意义的Fisher判别函数。

表 2 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分级之间的差异

分级	<i>n</i>	Leu/Tyr	(Leu+Val)/Tyr	(Ile+Leu+Val)/Tyr	Leu/(Tyr+Met)	(Ile+Leu)/(Tyr+Met)	(Ile+Val)/Tyr
G1	34	1.78 ± 0.69	4.86 ± 1.85	5.87 ± 2.25	1.13 ± 0.39	1.77 ± 0.60	4.09 ± 1.57
G2	59	1.54 ± 0.44	4.16 ± 1.30	5.04 ± 1.47	0.98 ± 0.31	1.53 ± 0.47	3.51 ± 1.05
G3	55	1.27 ± 0.44	3.47 ± 1.24	4.23 ± 1.45	0.81 ± 0.29	1.28 ± 0.45	2.95 ± 1.02
<i>F</i> 值	10.860	10.319	10.441	10.880	10.738	10.011	
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸; Met: 蛋氨酸。

表 3 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分期之间的差异

分期	<i>n</i>	Leu/Tyr	(Ile+Leu)/Tyr	(Ile+Leu+Val)/Tyr	(Leu+Val)/Tyr	(Ile+Val)/Tyr	Val/Tyr
S0	6	1.60 ± 0.51	2.56 ± 0.87	5.34 ± 1.65	4.39 ± 1.29	3.74 ± 1.15	2.79 ± 0.78
S1	29	1.63 ± 0.44	2.55 ± 0.66	5.42 ± 1.56	4.49 ± 1.40	3.79 ± 1.14	2.86 ± 0.99
S2	47	1.66 ± 0.66	2.60 ± 1.04	5.42 ± 2.05	4.48 ± 1.69	3.76 ± 1.41	2.82 ± 1.05
S3	26	1.47 ± 0.45	2.29 ± 0.66	4.72 ± 1.45	3.90 ± 1.26	3.26 ± 1.01	2.43 ± 0.83
S4	40	1.21 ± 0.41	1.91 ± 0.64	4.08 ± 1.49	3.32 ± 1.29	2.87 ± 1.09	2.17 ± 0.87
<i>F</i> 值	4.769	4.712	4.248	4.426	3.967	3.528	
<i>P</i> 值	0.001	0.001	0.003	0.002	0.004	0.009	

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸。

意义($P = 0.027, 0.006, 0.000$), (亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义($P = 0.023, 0.011, 0.000$), (异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义($P = 0.023, 0.010, 0.000$), 亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义($P = 0.028, 0.006, 0.000$), (异亮氨酸+亮氨酸)/(酪氨酸+蛋氨酸)在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义($P = 0.029, 0.006, 0.000$), (异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义($P = 0.022, 0.013, 0.000$)(表2)。

(异亮氨酸+亮氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.998, 0.823, 0.119, 0.063$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.001, 0.000$); 亮氨酸/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.908, 0.814, 0.131, 0.051$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.001, 0.000$); (异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.922, 0.999,$

$0.097, 0.136$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.002, 0.000$); (亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.875, 0.970, 0.102, 0.114$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.001, 0.000$); (异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.929, 0.918, 0.089, 0.200$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.002, 0.001$); 缬氨酸/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义($P = 0.866, 0.854, 0.095, 0.272$), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义($P = 0.003, 0.002$)(表3)。

2.3 氨基酸血浆比例模型判别肝组织不同病理学分级和分期的判别函数 以病理学分级作为因变量, 年龄和与病理学分级有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型作为自变量, 应用Bayes逐步判别分析, 构建Fisher判别函数; 结果, 符合模型纳入变量、进入判别函数的指标只有亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)。基于氨基酸血浆比例模型构建的判别不同病理学分级的Fisher判别函数为: $G1 = -7.263 + 10.876 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $G2 = -5.700 + 9.396 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$,

表 4 基于氨基酸血浆比例模型的Fisher判别函数的预测病理学分级与实际病理学分级的一致性

实际 分级	预测分级					
	G1		G2		G3	
	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)
G1	16	47.1	8	23.5	10	29.4
G2	17	28.8	18	30.5	24	40.7
G3	12	21.8	4	7.3	39	70.9

表 5 基于氨基酸血浆比例模型的Fisher判别函数的预测病理学分期与实际病理学分期的一致性

实际 分期	预测分期									
	S0		S1		S2		S3		S4	
	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)	<i>n</i>	一致率(%)
S0	0	0.0	1	16.7	2	33.3	2	33.3	1	16.7
S1	1	3.4	3	10.3	11	37.9	7	24.1	7	24.1
S2	2	4.3	7	14.9	19	40.4	11	23.4	8	17.0
S3	1	3.8	4	15.4	8	30.8	5	19.2	8	30.8
S4	0	0.0	3	7.5	4	10.0	8	20.0	25	62.5

■应用要点

血浆支链氨基酸、含硫氨基酸和芳香族氨基酸浓度存在日间波动, 但基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型相对稳定. 基于血浆氨基酸比例模型构建的Fisher判别函数对判别肝组织病理状态有一定意义.

酸/(酪氨酸+蛋氨酸), $G3 = -4.249 + 7.775 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$. 以病理学分期作为因变量, 年龄和与病理学分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型作为自变量, 应用Bayes逐步判别分析, 构建Fisher判别函数; 结果, 符合模型纳入变量、进入判别函数的指标只有年龄和亮氨酸/酪氨酸. 基于氨基酸血浆比例模型构建的判别不同病理学分期的Fisher判别函数为: $S0 = -11.569 + 0.290 \times \text{年龄} + 6.067 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $S1 = -12.321 + 0.306 \times \text{年龄} + 6.172 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $S2 = -11.455 + 0.277 \times \text{年龄} + 6.273 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $S3 = -11.335 + 0.305 \times \text{年龄} + 5.562 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$, $S4 = -12.811 + 0.371 \times \text{年龄} + 4.622 \times \text{亮氨酸}/(\text{酪氨酸} + \text{蛋氨酸})$.

2.4 基于氨基酸血浆比例模型构建的判别函数判别肝组织不同病理学分级和分期的一致性
采用留一交叉验证法将亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)代入判别函数, 结果显示, 判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%; 其中判别G1、G3的一致率高于期望一致率42.0%(表4). 采用留一交叉验证法将年龄和亮氨酸/酪氨酸代入判别函数, 结果显示, 判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%; 其中判别S2、S4的一致率高于期望一致率29.4%(表5).

3 讨论

Fischer等^[2]首先将支链氨基酸/芳香族氨基酸摩

尔比值应用于肝性脑病的诊断; 与此同时, Morgan等^[3]也注意到代偿性肝病患者也存在血浆氨基酸模式的变化. Morgan等^[3]的研究指出, 虽然3种支链氨基酸与两种芳香族氨基酸浓度存在日间波动, 但支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值相对稳定; 不管是否存在肝性脑病, 慢性肝病患者的支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值均有不同程度下降, 并且与以组织学标准判定的肝脏损伤的严重程度显著相关. 但是, 血浆氨基酸模式是否可用于慢性肝炎疾病状态的诊断, 至今仍不能被确定. 基于某种病因慢性肝病筛选和构建的诊断肝纤维化程度的无创指标和模型不一定适合于他种病因的慢性肝病. 基于慢性丙型肝炎筛选和构建的诊断肝纤维化程度的无创指标和模型不一定适合于CHB^[4-6]. Morgan等^[7]曾对不同病因慢性肝病患者的血浆氨基酸模式进行了分析, 发现慢性活动型肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝炎或肝硬化、酒精性脂肪肝、病毒性肝炎、隐源性肝炎的血浆氨基酸模式的变化不完全一致. 本文的主要目的是, 探讨基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型判别CHB肝组织病理状态的效能.

氨基酸血浆浓度及其比例模型用于诊断慢性肝炎肝组织病理状态的研究文献较少. Kano等^[8]调查了6种氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)血浆浓度诊断慢性肝炎肝组织不同病理状态的价值. 结果

■同行评价

本文实验数据充足,结果科学,结论明确,统计学分析恰当,具有一定指导意义。

显示,健康对照、慢性迁延型肝炎、轻度慢性活动型肝炎、重度慢性活动型肝炎、代偿性肝硬化和失代偿性肝硬化患者的支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值依次递减,并且彼此之间的差异均有统计学意义;基于该6种氨基酸浓度、支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值和常规生化指标水平的判别分析指出,支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值是诊断慢性迁延型肝炎、轻度慢性活动型肝炎、重度慢性活动型肝炎最可靠的指标。最近, Michitaka等^[9]测定了101例慢性肝炎(乙型肝炎8例,丙型肝炎89例,原因不明肝炎4例)患者支链氨基酸、酪氨酸血浆浓度,结果指出,支链氨基酸和酪氨酸浓度低于正常参考值下限和高于正常参考值上限的比例,在F1、F2、F3、F4分别为18.9%、4.3%、9.5%、20.0%和16.2%、21.7%、42.9%、57.1%;而支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值低于正常参考值下限的比例,在F1、F2、F3、F4分别为16.2%、43.4%、47.6%、75.0%。提示与随慢性肝炎肝组织炎症程度和纤维化程度增加而出现定向变化的氨基酸血浆浓度相比,支链氨基酸/芳香族氨基酸或支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值可能有更大的判别效能。

为提升血浆氨基酸判别CHB肝组织病理状态的效能,本文将分别以外周组织和肝脏组织为主要代谢部位的6种氨基酸被分成两组,通过建立分数函数,构建了基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型。根据相关分析,选择与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型,对其判别肝组织病理状态的价值进行了分析和评价。根据方差分析,亮氨酸/酪氨酸、(亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)、(异亮氨酸+亮氨酸)/(酪氨酸+蛋氨酸)、(异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在不同病理学分级之间的差异具有统计学意义;根据Bayes逐步判别分析,基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%;其中判别G1、G3的一致率高于期望一致率42.0%。根据方差分析,(异亮氨酸+亮氨酸)/酪氨酸、亮氨酸/酪氨酸、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、缬氨酸/酪氨酸在不同病理学分级之间的差异具有统计学

意义;根据Bayes逐步判别分析,基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%;其中判别S2、S4的一致率高于期望一致率29.4%。提示基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的部分比例模型对判别肝组织病理学分级和分期均有一定意义。

总之,氨基酸血浆比例模型对CHB肝组织病理状态有潜在的判别意义,但是,基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数还不能有效地判别部分病理学分级和分期。氨基酸血浆比例模型判别CHB肝组织病理状态的实践价值还需要在扩大样本中进一步验证。

4 参考文献

- 1 张占卿, 张丽军. 血浆氨基酸模式诊断慢性肝炎疾病状态的研究现状. 临床荟萃 2009; 249: 816-818
- 2 Fischer JE, Funovics JM, Aguirre A, James JH, Keane JM, Wesdorp RL, Yoshimura N, Westman T. The role of plasma amino acids in hepatic encephalopathy. *Surgery* 1975; 78: 276-290 [PMID: 807982]
- 3 Morgan MY, Milsom JP, Sherlock S. Plasma ratio of valine, leucine and isoleucine to phenylalanine and tyrosine in liver disease. *Gut* 1978; 19: 1068-1073 [PMID: 730076 DOI: 10.1136/gut.19.11.1068]
- 4 Wai CT, Cheng CL, Wee A, Dan YY, Chan E, Chua W, Mak B, Oo AM, Lim SG. Non-invasive models for predicting histology in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2006; 26: 666-672 [PMID: 16842322 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01287.x]
- 5 Shin WG, Park SH, Jang MK, Hahn TH, Kim JB, Lee MS, Kim DJ, Jun SY, Park CK. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 267-274 [PMID: 18055281 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.011]
- 6 张占卿, 曹婕, 陆伟, 史连国. ROC曲线法评价简易无创模型预测乙型肝炎相关肝硬化. 胃肠病学和肝病杂志 2009; 18: 41-44
- 7 Morgan MY, Marshall AW, Milsom JP, Sherlock S. Plasma amino-acid patterns in liver disease. *Gut* 1982; 23: 362-370 [PMID: 7076013 DOI: 10.1136/gut.23.5.362]
- 8 Kano T, Nagaki M, Takahashi T, Ohnishi H, Saitoh K, Kimura K, Muto Y. Plasma free amino acid pattern in chronic hepatitis as a sensitive and prognostic index. *Gastroenterol Jpn* 1991; 26: 344-349 [PMID: 1889691]
- 9 Michitaka K, Hiraoka A, Kume M, Uehara T, Hidaka S, Ninomiya T, Hasebe A, Miyamoto Y, Ichiryu M, Tanihira T, Nakahara H, Ochi H, Tanabe A, Uesugi K, Tokumoto Y, Mashiba T, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Amino acid imbalance in patients with chronic liver diseases. *Hepatol Res* 2010; 40: 393-398 [PMID: 20236360 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00614.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利

