

细胞角蛋白18在非酒精性脂肪性肝病风险预测和疾病进展评估中的研究进展

胡盛龙¹, 刘守胜², 庄立琨², 赵真真², 辛永宁¹ (1. 青岛大学附属青岛市市立医院 感染性疾病科, 山东 青岛 266011; 2. 青岛大学附属青岛市市立医院 临床研究中心, 山东 青岛 266011)

摘要: 非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 已成为全球最流行的慢性肝脏疾病。肝组织活检仍是评估NAFLD疾病严重程度的金标准, 但由于其存在有创性、潜在并发症、取样误差等局限, 不适用于常规监测疾病进展与治疗预后。肝细胞凋亡可反映NAFLD疾病进展, 其中角蛋白18 (cytokeratin 18, CK-18) 与肝细胞凋亡密切相关, 被认为是NAFLD预测与诊断最有潜力的无创生物标志物之一。本文主要对CK-18及其相关无创预测模型在NAFLD、非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 及肝纤维化等不同疾病特征中的表现进行综述, 评估其对NAFLD风险预测和疾病进展评估中的价值, 并讨论CK-18未来作为临床广泛使用的NAFLD无创诊断工具的可能性。

关键词: 脂肪性肝病, 非酒精性; 细胞角蛋白18; 肝纤维化; 生物标志物

Research progress of cytokeratin 18 on the risk prediction and disease progression assessment of non-alcoholic fatty liver disease

Hu Shenglong¹, Liu Shousheng², Zhuang Likun², Zhao Zhenzhen², Xin Yong-ning¹ (1. Department of Infectious Diseases, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266011, Shandong Province, China; 2. Clinical Research Center, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266011, Shandong Province, China)

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most prevalent chronic liver disease in the world. At present, liver biopsy is still the gold standard for the assessment of NAFLD, but the clinical application of liver biopsy is limited due to some deficiencies such as invasiveness, potential complications, and sampling errors and so on. Hepatocyte apoptosis is a typical manifestation of the progression of NAFLD. Cytokeratin 18 (CK-18) is closely related to hepatocyte apoptosis and is regarded as one of the most potential non-invasive biomarkers for the risk prediction of NAFLD. This review summarized the main performances of CK-18 and its related non-invasive prediction models in different disease grades such as NAFLD, non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and liver fibrosis, and assessed its value on the prediction and diagnosis of NAFLD, and discussed the possibility of CK-18 as a clinically widely used non-invasive diagnostic tool for NAFLD.

Key words: Fatty liver disease, non-alcoholic; Cytokeratin 18; Liver fibrosis; Biomarker

随着全球环境和生活方式的改变及人口老龄化的日益加重, 非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic

fatty liver disease, NAFLD) 已成为全球最流行的慢性肝病, 同时, 肥胖症、代谢综合征及糖尿病的流行也加剧了NAFLD的发生与发展^[1]。据统计, 目前全球NAFLD平均患病率约为25%, 中国NAFLD患病率为22.4%, 预计未来十年内, 这一数据仍将

持续增加,中国NAFLD患病率增幅或超欧美等发达国家,成为肝癌及肝脏相关死亡病例最多的国家,加重国内卫生健康与医药行业负担^[1-3]。

NAFLD从组织学上分为非酒精性单纯性脂肪肝(non-alcoholic simple fatty liver, NAFL)与非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH),虽然NAFL通常为良性的,但近20% NAFL患者可进展为NASH,而NASH具有导致肝硬化和肝癌的风险,因此,预测NAFLD严重程度并监测NAFLD患者疾病动态变化对制定NAFLD治疗方案与了解疾病预后至关重要^[1]。目前肝组织活检仍为准确区分NAFL与NASH的唯一方法,但因其具有潜在并发症、有创性、取样误差等诸多局限性,不适用于NAFLD的临床风险评估与监测^[4]。因此,需开发安全简便、重复性高的方法或工具用于NAFLD的临床筛查与诊断。

肝细胞凋亡与NAFLD严重程度密切相关^[5]。在凋亡过程中,半胱天冬酶3(caspases 3)被激活,可裂解多种细胞底物,包括细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK-18)。CK-18是肝脏中主要的中间丝蛋白,主要维持肝细胞稳定性,参与亚细胞功能,防止细胞凋亡与坏死。CK-18是肝细胞凋亡的标志物,细胞凋亡与坏死决定疾病的活动性及进展,CK-18水平可评估疾病活动及进展,并反映细胞凋亡与坏死在NAFLD发病机制中的作用,是研究最广泛的生物标志物之一^[6]。本文系统回顾了CK-18在NAFLD疾病中的研究进展,并介绍CK-18及其相关无创预测模型在NAFLD、NASH及纤维化中的表现,讨论其对NAFLD高风险患者诊断及预测的潜在应用价值。

1 CK-18对NAFLD的预测和诊断

NAFLD的发生是肝内甘油三酯累积的结果,最初阶段为NAFL,被普遍认为是非进展性临床阶段。随着肝内脂肪不断堆积,肝细胞内死亡受体被激活并介导肝细胞凋亡与坏死,进而激活caspases 3,产生CK-18片段及未裂解的CK-18^[7]。本文汇总了CK-18在NAFL方面的相关研究(表1)。Monseerrat等^[8]与Darweesh等^[9]均发现血清CK-18浓度随肝脏脂肪变严重程度加重而升高。Shen等^[10]研究表明,在146例经活检证实的NAFLD受试者中,CK-18 M30预测NAFLD的受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线下面积为0.91;随后又在147例经活检证实的NAFLD受试者中进一步发现CK-18 M30、CK-18 M65及M65 EpiDeath(M65ED)预测NAFLD的ROC曲线

下面积均 > 0.9 ^[11],这表明CK-18是一种有效预测NAFLD的生物标志物。多项研究也显示出CK-18对NAFLD有较好的诊断价值(ROC曲线下面积:0.709~0.875),但其敏感性(63%~89%)或特异性(57.14%~87.93%)偏低^[12-15]。2019年一项针对NAFLD与2型糖尿病的研究表明,在无2型糖尿病患者组中,CK-18 M30与M65诊断NAFLD的ROC曲线下面积、临界值、敏感性、特异性分别为0.917、126 U/L、82.8%、88.8%与0.707、210 U/L、82.8%、52%;在2型糖尿病患者组中,CK-18 M30与CK-18 M65的ROC曲线下面积、临界值、敏感性、特异性分别为0.757、136 U/L、64.3%、81.3%与0.789、391 U/L、61.9%、84%^[16]。另一项研究也显示CK-18在老年2型糖尿病患者中为NAFLD的独立预测因素^[12],然而,一项在NAFLD患者中的研究却报道了相反的结论^[17]。这些结果提示血清CK-18水平可能受高血糖环境影响,需在今后研究中进一步验证。目前,关于CK-18诊断NAFL的研究相对较少,并且这些研究大多采用CK-18 M30 ELISA试剂盒对血清CK-18含量进行检测,缺乏CK-18 M65相关研究数据。2012年德国一项研究显示相较于CK-18 M30, M65能更好地区分NAFLD与健康对照者,说明CK-18 M65水平可能与NAFLD早期阶段有关^[18]。因此,CK-18 M30与CK-18 M65对NAFL的预测和诊断价值仍有待进一步验证,研究对象的种族、基础疾病和环境因素等都可能对研究结果产生较大影响。

2 CK-18对NASH的预测和诊断

与NAFL相比,NASH患者预后更差,疾病进展风险更大,并且与慢性肾病、心血管疾病、睡眠呼吸暂停综合征等肝外表现密切相关^[1,19]。本文汇总了CK-18在NASH中的相关研究(表2)。Feldstein等^[20]首先发现NASH患者caspases活性更高,并且caspases水平与肝细胞凋亡和NASH进展密切相关。Wieckowska等^[21]进一步利用ELISA法对NASH患者血清CK-18 M30和M65水平进行了检测,发现CK-18为NASH的独立危险因素,并与NASH的组织学严重程度相关,随后一些研究也证实了这一结果^[10,11,15,22,28]。一项小型前瞻性研究表明,血清CK-18 M30、M65及M65ED在预测NASH方面均具有较高的诊断价值(ROC曲线下面积:0.77、0.93、0.92;敏感性:75%、100%、100%;特异性:70%、80%、80%)^[18],有望成为监测NASH严重程度的无创生物标志物。然而,近期研究对CK-18预测NASH的表现并不理想。Cusi等^[14]研究证

表1 CK-18 在 NAFLD 中的研究汇总

第一作者	国家	受试者（例）	ROC曲线下面积	诊断准确性	诊断方式
Shen 2012 ^[10]	中国	220	0.92（M30）	存在多个临界值	肝组织活检
Shen 2012 ^[11]	中国	198	0.92（M30&M65） 0.94（M65ED）	均存在多个临界值	肝组织活检
Cusi 2014 ^[14]	美国	424	0.77（M30）	临界值：165 U/L，Se：63.0%，Sp：83.0%	MRS
Aida 2014 ^[15]	日本	116（肝酶异常）	0.762（M30）	临界值：230 U/L，Se：89.0%，Sp：65.0% PPV：34%，NPV：97%	肝组织活检
Valva 2018 ^[13]	阿根廷	54	0.709（M30） M65无相关性	临界值：196.38 U/L，Se：85.71%， Sp：57.14%，PPV：66.7%，NPV：80%， 无DM：0.917（M30）	肝组织活检
Chang 2019 ^[16]	中国	244（T2DM）	0.707（M65） 有DM：0.757（M30） 0.789（M65）	临界值：210 U/L，Se：82.8%，Sp：52.0% 临界值：136 U/L，Se：64.3%，Sp：81.3% 临界值：391 U/L，Se：61.9%，Sp：84.0%	腹部超声 FLI指数
Zhao 2021 ^[12]	中国	158（老年T2DM）	0.875（M30）	临界值：11.09 ng/L，Se：72.0%，Sp：87.93%	病史

注：Se 为敏感性；Sp 为特异性；PPV 为阳性预测值；NPV 为阴性预测值；T2DM 为 2 型糖尿病；DM 为糖尿病；MRS 为磁共振波谱。

表2 CK-18 在诊断非酒精性脂肪性肝炎中的表现

第一作者	国家	受试者（例）	ROC曲线下面积			诊断准确性
			M30	M65	M65ED	
Wieckowsks 2006 ^[21]	美国	39（肝酶异常，MetS）	0.93	-	-	临界值：395 U/L，Se：85.7%，Sp：99.9%，PPV：99.9%，NPV：85.7%
Diab 2008 ^[26]	美国	86（病态肥胖）	0.88	-	-	存在多个临界值
Younossi 2008 ^[25]	美国	101（病态肥胖）	0.711	0.814	-	均存在多个临界值
Feldstein 2009 ^[24]	美国	289（病态肥胖）	0.83	-	-	存在多个临界值
Shen 2012 ^[10]	中国	220	0.7	-	-	存在多个临界值
Shen 2012 ^[11]	中国	198	0.66	0.71	0.70	均存在多个临界值
Joka 2012 ^[18]	德国	22	0.77	0.93	0.92	临界值（M30）：149.5 U/L，Se：75.0%，Sp：70.0% 临界值（M65）：386.0 U/L，Se：100.0%，Sp：80.0% 临界值（M65ED）：237.0 U/L，Se：100.0%，Sp：80.0%
Feldstein 2013 ^[27]	美国	201（儿童，肝酶异常）	0.934	-	-	临界值：233 U/L，Se：85.0%，Sp：86.9%，PPV：93.7%，NPV：71.6%
Aida 2014 ^[15]	日本	116（肝酶异常）	0.757	-	-	临界值：270 U/L，Se：64.0%，Sp：76.0%，PPV：72.0%，NPV：67.0%
Cusi 2014 ^[14]	美国	424	0.65	-	-	临界值：212 U/L，Se：58.0%，Sp：68.0%，PPV：75.0%，NPV：49.0%
Arab 2017 ^[28]	智利	41	0.732	-	-	临界值：130.5 U/L，Se：92.9%，Sp：63.0%，PPV：56.5.0%，NPV：94.9%
Kobayashi 2017 ^[32]	日本	229	0.72	-	-	临界值：408 U/L，Se：67.0%，Sp：73.0%
Mohammed 2019 ^[34]	埃及	100（病态肥胖）	0.768	-	-	临界值：307 U/L，Se：89.7%，Sp：87.4%
Bril 2020 ^[36]	美国	213（T2DM）	0.76	-	-	临界值：241 U/L，Se：63.0%，Sp：80.0%

注：T2DM 为 2 型糖尿病；MetS 为代谢综合征；AUROC，接受者工作特征曲线；Se 为敏感性；Sp 为特异性；PPV 为阳性预测值；NPV 为阴性预测值；“-”为未报道。

实CK-18与疾病严重程度相关，但其敏感性有限，不足以作为NASH的监测工具。随后一项Meta分析证实CK-18诊断NASH的敏感性和特异性为68.4%和74.2%^[29]。这表明CK-18作为NASH无创诊断标志物的诊断准确性尚有待商榷。

为提高对NASH的诊断准确性，多项研究将CK-18与其他标志物进行组合（表3）。Younossi等^[25]将血清CK-18 M30和M65与血清脂联素、抵抗素结

合，其诊断NASH的ROC曲线下面积为0.908。这一模型在病态肥胖受试者中显示出对NASH较高的诊断价值，在另一组相同受试者队列中对该模型进行验证，发现其对NASH的诊断价值并不理想（ROC曲线下面积为0.732）。随后研究人员将CK-18 M30和M65与受试者临床特征（糖尿病、性别、体重指数、甘油三酯）联合，组成NAFLD Diagnostic Panel，该模型诊断NASH的ROC曲线下面积为0.81，其表现并不

优于先前的模型^[30]。另一项研究利用CK-18 M30与可溶性Fas结合，在起始队列中对NASH诊断的ROC曲线下面积为0.93，敏感性与特异性分别为88%和89%，而在验证队列中对NASH诊断的ROC曲线下面积为0.79，能正确预测其中83%受试者^[22]。其他研究将CK-18与一些生物标志物相结合，如Nice模型（代谢综合征、ALT）^[23]、常规血液参数（PLT、ALT、TG）^[31]、透明质酸（hyaluronic acid, HA）与FIB-4指数^[32]、FIC-22（FIB-4指数）^[33]、FICK-3评分（FIB-4指数、HOMA-IR）^[34]、膜蛋白（高尔基体膜糖蛋白73, GP73）^[35]、HOMA-IR^[36]等，以期提高对NASH的诊断效能。

综上，目前虽有多个组合模型显示出对NASH具有较好的潜在诊断价值，但尚不能达到临床应用标准。此外，这些模型均是在样本量相对较少及特定人群（如种族、年龄、肥胖症、糖尿病等）中进行的开发和验证，若将其应用于NASH的临床预测和诊断，还需在更大规模、具有不同特征的人群中进行多中心验证。

3 CK-18对肝纤维化的预测和诊断

纤维化为影响NAFLD预后的最重要因素，与疾病进展风险和肝脏相关死亡率增加密切相关^[37]。NAFL及NASH患者均可伴有进展性肝纤维化，而NASH患者肝纤维化进展比NAFL患者更快，尤其是伴有中度以上肝纤维化的NASH患者有进展为肝硬化的风险，更需及时识别及监测肝纤维化进

展并进行早期干预^[19,38]。本文总结了CK-18与肝纤维化的相关研究（表4）。目前，越来越多的证据显示，血清CK-18水平与组织学纤维化进展呈正相关^[9,11,18,24,31,39]。中国香港一项研究表明，在51例分别于基线与36个月后接受配对肝组织活检的受试者中，血清CK-18 M65ED水平可准确预测肝纤维化进展（ROC曲线下面积为0.8）^[11]。德国一项研究显示，相比于广泛研究的CK-18 M30，M65能更好地识别早期肝纤维化阶段，但此研究纳入了不同病因所致慢性肝病患者（包括NAFLD/NASH、病毒性肝炎、自身免疫性肝炎等），结果代表性欠佳^[18]。由此可见，CK-18 M30与M65都具有作为肝纤维化诊断生物标志物的潜能。但Valva等^[13]研究发现虽然CK-18 M30在预测NAFLD患者、可疑及确诊NASH患者显著纤维化（ $\geq F2$ ）方面具有较高的准确性（ROC曲线下面积分别为0.848、0.852和0.844），但未观察到CK-18 M65与组织学纤维化的相关性。同样，Cusi等^[14]研究发现CK-18 M30水平与肝纤维化相关性较低（ $r = 0.32$ ），其诊断肝纤维化的ROC曲线下面积仅为0.68，敏感性（54%）与阴性预测值（56%）均较低。2020年发表的一篇Meta分析表明CK-18 M30对NASH肝纤维化、显著纤维化（F2~F4）与晚期纤维化（F3~F4）诊断的ROC曲线下面积分别为0.73、0.68和0.75，表明CK-18 M30对肝纤维化的诊断价值较之前结论低^[40]。

许多研究尝试将CK-18与其他生物标志物结合

表3 CK-18 相关预测模型在诊断非酒精性脂肪性肝炎中的表现

第一作者	国家	模型组成	受试者（例）	ROC曲线下面积		诊断准确性
				T	V	
Younossi 2008 ^[25]	美国	CK-18 M30&M65、脂联素、抵抗素	101（病态肥胖）	0.908	0.732	存在多个临界值
Anty 2010 ^[23]	法国	CK-18 M30、ALT、MetS	464（病态肥胖）	0.88	0.83	临界值：0.14，Se：84.0%，Sp：86.0%，PPV：44.0%，NPV：98.0%
Younossi 2011 ^[30]	美国	CK-18 M30&M65、T2DM、性别、BMI、TG	79	0.81	-	存在多个临界值
Tamimi 2011 ^[22]	美国	CK-18 M30、可溶性Fas	177	0.93	0.79	临界值：36.6%，Se：88.0%，Sp：89.0%，PPV：86.0%，NPV：91.0%
Cao 2013 ^[31]	中国	CK-18 M30、ALT、PLT、TG	95	0.92	-	临界值：0.361，Se：89.0%，Sp：86.0%，PPV：89.0%，NPV：89.0%
Kobayashi 2017 ^[32]	日本	CK-18 M30、FIB-4指数、HA	229	0.84	-	-
Tada 2018 ^[33]	日本	FIC-22：CK-18 M30、FIB-4指数	170	0.82	-	临界值：1，Se：89.1%，Sp：62.5%，PPV：88.5%，NPV：64.1%
Mohammed 2019 ^[34]	埃及	FICK-3：CK-18 M30、FIB-4指数、HOMA-IR	100	0.817	-	NR临界值：1，Se：95.6%，Sp：91.1%
Bril 2020 ^[36]	美国	CK-18 M30、HOMA-IR	213	0.78	-	临界值：0.255，Se：55.0%，Sp：93.0%，PPV：88.5%，NPV：64.1%
Zheng 2020 ^[35]	中国	CK-18 M30、GP73	NASH：53 （肝酶正常）	0.846 0.828	-	-

注：NASH为非酒精性脂肪性肝炎；NAFL为非酒精性脂肪肝；MetS为代谢综合征；HA为透明质酸；BMI为体重指数；TG为甘油三酯；ALT为丙氨酸氨基转移酶；PLT为血小板计数；HOMA-IR为胰岛素抵抗稳态模型；GP73为高尔基体膜糖蛋白73；Se为敏感性；Sp为特异性；PPV为阳性预测值；NPV为阴性预测值；T为训练队列；V为验证队列；“-”为未报道。

表4 CK-18 在诊断 NAFLD 相关肝纤维化中的表现

第一作者	国家	模型组成	受试者 (例)	ROC曲线下面积		诊断准确性
				T	V	
Lebensztejn 2011 ^[44]	波兰	CK-18 M30、HA	52 (儿童)	0.73	-	Se: 74.0%, Sp: 79.0%, PPV: 56.0%, NPV: 63.0%
Younossi 2011 ^[30]	美国	CK-18 M30& M65 T2DM、性别、 BMI、TG	79	0.8	-	优于ELF、NFS、ELF + NFS模型、APRI
Shen 2012 ^[11]	中国	CK-18 M65ED	51	0.8	-	预测纤维化进展临界值: 236 U/L, Se: 71.4%, Sp: 81.1%, PPV: 58.8%, NPV: 88.2%
Cusi 2014 ^[14]	美国	CK-18 M30	318	0.68	-	临界值: 262 U/L, Se: 54.0%, Sp: 85.0%, PPV: 83.0%, NPV: 56.0% 临界值< 35排除纤维化, Sp: 97.0%, NPV: 86.0%; 临界值> 82预测纤维化, Se: 88.0%, PPV: 91.0%
Mandelia 2016 ^[43]	意大利	CK-18 M30、腰围	201 (儿童)	0.846	-	临界值: 312.5 U/L, Se: 96.4%, Sp: 28.6%, PPV: 77.9%, NPV: 75% 临界值: 374.5 U/L, Se: 97.1%, Sp: 54.1%, PPV: 95.7%, NPV: 66.7%
Huang 2017 ^[48]	中国	CK-18 M30	76	≥ F2: 0.776 ≥ F3: 0.942	- -	-
Kobayashi 2017 ^[32]	日本	CK-18 M30、FIB-4 指数	229	0.77	-	Se: 87.4%, Sp: 56.1%, PPV: 86.0%, NPV: 59.0%
Tada 2018 ^[33]	日本	FIC-22: CK-18 M30、FIB-4指数	170	≥ F2: 0.76 ≥ F3: 0.72	- -	Se: 81.6%, Sp: 55.7%, PPV: 52.7%, NPV: 94.9% Se: 58.8%, Sp: 72.4%, PPV: 35.1%, NPV: 87.4%
Boursier 2018 ^[39]	法国	MACK-3: CK-18 M30、HOMA-IR、 AST	846	FN: 0.845	FN: 0.847	所有受试者中预测NASH纤维化: ROC 曲线下面积0.846, 临界值≤ 0.134与≥ 0.550, Se: 90.0%, Sp: 94.2%
Chuah 2019 ^[42]	马来西 亚	MACK-3: CK-18 M30、HOMA-IR、 AST	196	F1~F3: 0.75 F4: 0.78 FN: 0.8	- - -	FN: Se: 100%, Sp: 43.8%, PPV: 43.1%, NPV: 100.0%
Mohammed 2019 ^[34]	埃及	FICK-3: CK-18 M30、HOMA-IR、 FIB-4指数	100	F1~F2: 0.835 F3~F4: 0.907 F2~F4: 0.803 FN: 0.79	- - -	Se: 92.6%, Sp: 88.4% Se: 94.1%, Sp: 91.1% Se: 91.4%, Sp: 89.81% T: Sp: 93.2%, NPV: 94.7%
Gao 2020 ^[41]	中国	MACK-3、代谢综合 征、PLT	636		FN: 0.81	V: Sp: 90.4%, NPV: 93.2%

注: NASH 为非酒精性脂肪性肝炎; NAFL 为非酒精性脂肪肝或单纯性脂肪变性; MetS 为代谢综合征; F 为肝纤维化阶段; FN 为 NASH 纤维化; HA 为透明质酸; BMI 为体重指数; TG 为甘油三酯; AST 为天门冬氨酸氨基转移酶; PLT 为血小板计数; HOMA-IR 为胰岛素抵抗稳态模型; Se 为敏感性; Sp 为特异性; PPV 为阳性预测值; NPV 为阴性预测值; T 为训练队列; V 为验证队列; “-” 为未报道。

组成多标志物模型, 从而增加对纤维化的诊断效能^[30,32-34,39,41-44]。Kobayashi等^[32]发现CK-18 M30和FIB-4指数诊断NASH伴轻度肝纤维化的ROC曲线下面积均为0.7, 且Logistic回归显示CK-18 M30和FIB-4都与NASH伴轻度肝纤维化独立相关, 二者联合诊断NASH伴轻度肝纤维化的ROC曲线下面积为0.77, 这与随后Tada等^[33]研究结果相似 (ROC曲线下面积0.72~0.78)。近期, Boursier等^[39]开发了一种新的评分模型MACK-3 (包括CK-18 M30、HOMA和AST), 在训练与验证队列中, MACK-3诊断肝纤维化和NASH的ROC曲线下面积均> 0.8, 且敏感性及特异性均≥ 90%, 显示出极高的诊断

准确性, 优于BARD评分、NFS和FIB-4指数。随后, Chuah等^[42]进一步研究MACK-3在不同肝纤维化阶段中的表现, 结果发现MACK-3在显著肝纤维化及晚期肝纤维化阶段诊断价值并不优于NFS与FIB-4指数, 而在诊断NASH且NAFLD活动度评分 (NAFLD Activity Score, NAS) ≥ 4及活动性NASH方面优于NFS与FIB-4指数。为提高对肝纤维化的诊断准确性, Mohammed等^[34]用FIB-4指数替代AST, 组成新的评分模型“FICK-3”, 发现其在诊断NASH纤维化 (NAS ≥ 4, ≥ F2) 方面显著优于MACK-3与FIC-22, 并发现该模型评分与NAFLD组织学特征呈正相关。Gao等^[41]也尝试对MACK-3进

行改善,将MACK-3与代谢综合征和PLT组合,在验证队列中显示出优于MACK-3、FIB-4、NFS的诊断价值,与肝硬度值(liver stiffness measurement, LSM)顺序组合或可有效减少不必要的肝组织活检。总之,上述生物标志物模型均显示出较高的诊断价值,有望成为肝纤维化进展的诊断与监测手段。但这些模型是否能在临床广泛应用仍需进一步验证。

4 CK-18预测和诊断NAFLD的现状与未来研究方向

当前,大量研究报道了CK-18在评估NAFLD风险分层及疾病进展中的实用性与局限性。CK-18水平在NASH患者中显著升高,且已被广泛证实与NAFLD组织学特征如脂肪变性、小叶炎症、气球样变性和纤维化阶段密切相关。到目前为止,CK-18是预测诊断NAFLD和NASH最有价值的生物标志物之一,但CK-18作为NAFLD和NASH的诊断标志物也存在若干问题:①缺乏在不同种族人群的验证,且可能会受肥胖症、高血糖、心血管疾病、高尿酸血症等因素影响;②敏感性及特异性不足,缺乏明确的临界值;③NAFLD与NASH的发病与发展机制复杂,存在个体差异,可能涉及蛋白质组学、脂质组学、代谢组学、转录组学、基因组学等多个方面,CK-18作为单一生物标志物诊断价值有限;④缺乏大型前瞻性临床试验。因此,仍需进行多中心研究对CK-18的诊断效能进行优化。另外,通过CK-18与临床、生物化学、代谢、脂质等生物标志物进行组合,可提高诊断准确性,不仅局限于血液生物标志物,也可尝试与影像学标志物组合,如与瞬时弹性成像(transient elastography, TE)^[45]组合也有较高价值。最近,一种新颖的“组学”方法也被用于识别NAFLD、NASH和晚期纤维化^[46],有研究表明*PNPLA3*基因型不同,可能影响CK18的诊断准确性^[47]。这均需进一步研究验证。

综上所述,目前CK-18对于NAFLD的全面评估取得了显著进展,尤其是CK-18与其他指标或生物标志物联合的预测模型,显示出非侵入性生物标志物的优势,但仍存在局限性,需进一步改善及验证,使其不仅能识别高风险NAFLD患者,还可监测NAFLD进展与预后。

参考文献

- [1] COTTER T G, RINELLA M. Nonalcoholic fatty liver disease 2020: the state of the disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7):1851-1864.
- [2] XIAO J, WANG F, WONG N K, et al. Global liver disease burdens and research trends: analysis from a Chinese perspective[J]. *J Hepatol*, 2019, 71(1):212-221.
- [3] ESTES C, ANSTEE Q M, ARIAS-LOSTE M T, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(4):896-904.
- [4] VILAR-GOMEZ E, CHALASANI N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(2):305-315.
- [5] SHOJAIE L, IORGA A, DARA L. Cell death in liver diseases: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24):9682.
- [6] KANDA T, MATSUOKA S, YAMAZAKI M, et al. Apoptosis and non-alcoholic fatty liver diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(25):2661-2672.
- [7] HIRSOVA P, IBRAHIM S H, GORES G J, et al. Lipotoxic lethal and sublethal stress signaling in hepatocytes: relevance to NASH pathogenesis[J]. *J Lipid Res*, 2016, 57(10):1758-1770.
- [8] MONSERRAT-MESQUIDA M, QUETGLAS-LLABRES M, ABBATE M, et al. Oxidative stress and pro-inflammatory status in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(8):759.
- [9] DARWEEH S K, ABDELAZIZ R A, ABD-ELFATAH D S, et al. Serum cytokeratin-18 and its relation to liver fibrosis and steatosis diagnosed by FibroScan and controlled attenuation parameter in nonalcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus patients[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 31(5):633-641.
- [10] SHEN J, CHAN H L, WONG G L, et al. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(6):1363-1370.
- [11] SHEN J, CHAN H L, WONG G L, et al. Assessment of non-alcoholic fatty liver disease using serum total cell death and apoptosis markers[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36(11-12):1057-1066.
- [12] ZHAO C, LOU F, LI X, et al. Correlation of CD37/CD4⁺ and serum CK-18 fragment levels with glucose and lipid metabolism in elderly type 2 diabetes patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(4):2546-2554.
- [13] VALVA P, RIOS D, CASCIATO P, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: biomarkers as diagnostic tools for liver damage assessment in adult patients from Argentina[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 30(6):637-644.
- [14] CUSI K, CHANG Z, HARRISON S, et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(1):167-174.
- [15] AIDA Y, ABE H, TOMITA Y, et al. Serum cytokeratin 18 fragment level as a noninvasive biomarker for non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(11):4191-4198.
- [16] CHANG Y H, LIN H C, HWU D W, et al. Elevated serum cytokeratin-18 concentration in patients with type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Ann Clin Biochem*, 2019, 56(1):141-147.
- [17] QIAN L L, WU L, ZHANG L, et al. Serum biomarkers combined with ultrasonography for early diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease confirmed by magnetic resonance spectroscopy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(4):554-560.
- [18] 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.
- [19] YOUNOSSE Z M. Non-alcoholic fatty liver disease - a global public health perspective[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3):531-544.
- [20] FELDSTEIN A E, CANBAY A, ANGULO P, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human

- nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Gastroenterology*,2003,125(2):437-443.
- [21] WIECKOWSKA A, ZEIN N N, YERIAN L M, et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*,2006,44(1):27-33.
- [22] TAMIMI T I, ELGOUHARI H M, ALKHOURI N, et al. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis[J]. *J Hepatol*,2011,54(6):1224-1229.
- [23] ANTY R, IANNELLI A, PATOURAUX S, et al. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2010,32(11-12):1315-1322.
- [24] FELDSTEIN A E, WIECKOWSKA A, LOPEZ A R, et al. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study[J]. *Hepatology*,2009,50(4):1072-1078.
- [25] YOUNOSSI Z M, JARRAR M, NUGENT C, et al. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH)[J]. *Obes Surg*,2008,18(11):1430-1437.
- [26] DIAB D L, YERIAN L, SCHAUER P, et al. Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2008,6(11):1249-1254.
- [27] FELDSTEIN A E, ALKHOURI N, DE VITO R, et al. Serum cytokeratin-18 fragment levels are useful biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis in children[J]. *Am J Gastroenterol*,2013,108(9):1526-1531.
- [28] ARAB J P, HERNANDEZ-ROCHA C, MORALES C, et al. Serum cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker of nonalcoholic steatohepatitis in the chilean population[J]. *Gastroenterol Hepatol*,2017,40(6):388-394.
- [29] VERHAEGH P, BAVALLIA R, WINKENS B, et al. Noninvasive tests do not accurately differentiate nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2018,16(6):837-861.
- [30] YOUNOSSI Z M, PAGE S, RAFIQ N, et al. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis[J]. *Obes Surg*,2011,21(4):431-439.
- [31] CAO W, ZHAO C, SHEN C, et al. Cytokeratin 18, alanine aminotransferase, platelets and triglycerides predict the presence of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*,2013,8(12):e82092.
- [32] KOBAYASHI N, KUMADA T, TOYODA H, et al. Ability of cytokeratin-18 fragments and FIB-4 index to diagnose overall and mild fibrosis nonalcoholic steatohepatitis in Japanese nonalcoholic fatty liver disease patients[J]. *Dig Dis*,2017,35(6):521-530.
- [33] TADA T, KUMADA T, TOYODA H, et al. New scoring system combining the FIB-4 index and cytokeratin-18 fragments for predicting steatohepatitis and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Biomarkers*,2018,23(4):328-334.
- [34] MOHAMMED M A, OMAR N M, MOHAMMED S A, et al. FICK-3 score combining Fibrosis-4, insulin resistance and cytokeratin-18 in predicting non-alcoholic steatohepatitis in NAFLD Egyptian patients[J]. *Pak J Biol Sci*,2019,22(10):457-466.
- [35] ZHENG K I, LIU W Y, PAN X Y, et al. Combined and sequential non-invasive approach to diagnosing non-alcoholic steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease and persistently normal alanine aminotransferase levels[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*,2020,8(1):e001174.
- [36] BRIL F, MCPHAUL M J, CAULFIELD M P, et al. Performance of plasma biomarkers and diagnostic panels for nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*,2020,43(2):290-297.
- [37] SCHWABE R F, TABAS I, PAJVANI U B. Mechanisms of Fibrosis development in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Gastroenterology*,2020,158(7):1913-1928.
- [38] RINELLA M E, SANYAL A J. Management of NAFLD: a stage-based approach[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*,2016,13(4):196-205.
- [39] BOURSIER J, ANTY R, VONGHIA L, et al. Screening for therapeutic trials and treatment indication in clinical practice: MACK-3, a new blood test for the diagnosis of fibrotic NASH[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2018,47(10):1387-1396.
- [40] LEE J, VALI Y, BOURSIER J, et al. Accuracy of cytokeratin 18 (M30 and M65) in detecting non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis: A systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*,2020,15(9):e0238717.
- [41] GAO F, HUANG J F, ZHENG K I, et al. Development and validation of a novel non-invasive test for diagnosing fibrotic non-alcoholic steatohepatitis in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2020,35(10):1804-1812.
- [42] CHUAH K H, WAN YUSOFF W N I, STHANESHWAR P, et al. MACK-3 (combination of hoMa, Ast and CK18): A promising novel biomarker for fibrotic non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Liver Int*,2019,39(7):1315-1324.
- [43] MANDELIA C, COLLYER E, MANSOOR S, et al. Plasma cytokeratin-18 level as a novel biomarker for liver fibrosis in children with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*,2016,63(2):181-187.
- [44] LEBENSZTEJN D M, WIERZBICKA A, SOCHA P, et al. Cytokeratin-18 and hyaluronic acid levels predict liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Acta Biochim Pol*,2011,58(4):563-566.
- [45] ROSSO C, CAVIGLIA G P, ABATE M L, et al. Cytokeratin 18-Aspartate396 apoptotic fragment for fibrosis detection in patients with non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis[J]. *Dig Liver Dis*,2016,48(1):55-61.
- [46] PIROLA C J, SOOKOIAN S. Multiomics biomarkers for the prediction of nonalcoholic fatty liver disease severity[J]. *World J Gastroenterol*,2018,24(15):1601-1615.
- [47] LIU W Y, ZHENG K I, PAN X Y, et al. Effect of PNPLA3 polymorphism on diagnostic performance of various noninvasive markers for diagnosing and staging nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2020,35(6):1057-1064.
- [48] HUANG J F, YEH M L, HUANG C F, et al. Cytokeratin-18 and uric acid predicts disease severity in Taiwanese nonalcoholic steatohepatitis patients[J]. *PLoS One*,2017,12(5):e0174394.

收稿日期: 2021-09-01

胡盛龙, 刘守胜, 庄立琨, 等. 细胞角蛋白18在非酒精性脂肪性肝病风险预测和疾病进展评估中的研究进展[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2023,15(1): 12-18.