



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110769741 A

(43)申请公布日 2020.02.07

(21)申请号 201880030162.6

(22)申请日 2018.06.29

(30)优先权数据

62/527,469 2017.06.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.11.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/040198 2018.06.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/006248 EN 2019.01.03

(71)申请人 佐治亚州立大学研究基金会

地址 美国佐治亚州亚特兰大

(72)发明人 江毅 陈皓 张斌

谢尔盖·克利莫夫

(74)专利代理机构 北京航信高科知识产权代理
事务所(普通合伙) 11526

代理人 高原 刘传准

(51)Int.Cl.

A61B 5/00(2006.01)

A61B 8/06(2006.01)

A61B 8/08(2006.01)

A61K 41/00(2020.01)

G01N 33/50(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

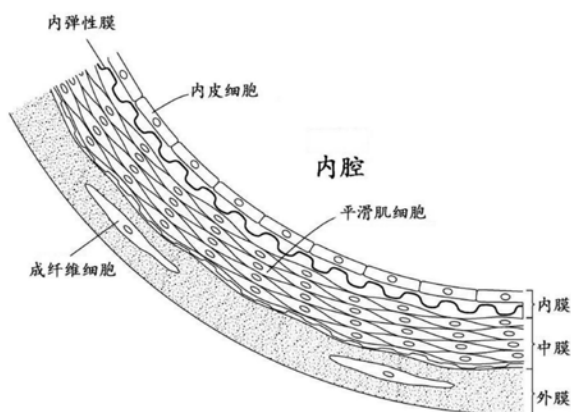
权利要求书3页 说明书12页 附图6页

(54)发明名称

用于检测肝纤维化的非侵入性方法

(57)摘要

本公开涉及用于检测肝纤维化的非侵入性方法。本文公开了非侵入性肝纤维化检测方法,所述方法使用多普勒超声装置和基于物理学的机器学习方法。本文进一步公开了通过检测和测量肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率是否存在频移来检测受试者的肝纤维化的方法。



1. 一种用于检测受试者体内肝纤维化的方法,所述方法包括以下步骤:
测量所述受试者的心率;
利用多普勒超声测量所述受试者的门静脉中的血流频率;
利用多普勒超声测量所述受试者的肝静脉中的血流频率;以及
确定所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率是否存在频移;其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率的升高是肝纤维化的指征。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的至少两个位置处的所述血流频率。
3. 根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的三个位置处的所述血流频率。
4. 根据权利要求1至权利要求3中任一项所述的方法,其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0401Hz的频移是4期肝纤维化的指征。
5. 根据权利要求1至权利要求3中任一项所述的方法,其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0251Hz且小于约0.0401Hz的频移是3期肝纤维化的指征。
6. 根据权利要求1至权利要求3中任一项所述的方法,其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0200Hz且小于约0.0251Hz的频移是2期肝纤维化的指征。
7. 根据权利要求1至权利要求3中任一项所述的方法,其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0068Hz且小于约0.0200Hz的频移是1期肝纤维化的指征。
8. 根据权利要求1至权利要求7中任一项所述的方法,其中如果所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率有所升高,则利用治疗剂对所述受试者进行治疗。
9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。
10. 一种用于检测受试者体内肝纤维化的方法,所述方法包括以下步骤:
测量所述受试者的心率;
使用多普勒超声系统测量受试者肝脏中至少两个位置处的血流频率;以及
测定肝脏中至少两个位置之间的血流频率的频移;
其中所述至少两个位置之间的血流频率的所述频移是所述受试者体内存在肝纤维化的指征。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的至少三个位置处的所述血流频率。
12. 根据权利要求10或权利要求11所述的方法,其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的三个位置处的所述血流频率。
13. 根据权利要求10至权利要求12中任一项所述的方法,其中所述肝静脉中的所述血

流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0401Hz的频移是4期肝纤维化的指征。

14. 根据权利要求10至权利要求12中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0251Hz且小于约0.0401Hz的频移是3期肝纤维化的指征。

15. 根据权利要求10至权利要求12中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0200Hz且小于约0.0251Hz的频移是2期肝纤维化的指征。

16. 根据权利要求10至权利要求12中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0068Hz且小于约0.0200Hz的频移是1期肝纤维化的指征。

17. 根据权利要求10至权利要求16中任一项所述的方法, 其中如果所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率有所升高, 则利用治疗剂对所述受试者进行治疗。

18. 根据权利要求17所述的方法, 其中所述治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。

19. 一种用于治疗或预防受试者体内肝纤维化的方法, 所述方法包括以下步骤:

测量所述受试者的心率;

利用多普勒超声测量所述受试者的门静脉中的血流频率;

利用多普勒超声测量所述受试者的肝静脉中的血流频率;

确定所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率是否存在频移; 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率的升高是肝纤维化的指征; 以及

如果所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率有所升高, 则施用治疗剂或进行治疗处理。

20. 根据权利要求19所述的方法, 其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的至少两个位置处的所述血流频率。

21. 根据权利要求19或权利要求20所述的方法, 其中利用多普勒超声测量所述受试者的所述肝静脉中的三个位置处的所述血流频率。

22. 根据权利要求19至权利要求21中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0401Hz的频移是4期肝纤维化的指征。

23. 根据权利要求19至权利要求21中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0251Hz且小于约0.0401Hz的频移是3期肝纤维化的指征。

24. 根据权利要求19至权利要求21中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0200Hz且小于约0.0251Hz的频移是2期肝纤维化的指征。

25. 根据权利要求19至权利要求21中任一项所述的方法, 其中所述肝静脉中的所述血

流频率相比于所述门静脉中的所述血流频率存在大于约0.0068Hz且小于约0.0200Hz的频率移是1期肝纤维化的指征。

26. 根据权利要求19至权利要求25中任一项所述的方法, 其中所述治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。

27. 根据权利要求19至权利要求26中任一项所述的方法, 其中施用所述治疗剂以预防肝纤维化分期之间的进展。

用于检测肝纤维化的非侵入性方法

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年6月30日提交的美国临时专利申请号62/527,469的优先权权益,其全文据此以引用方式并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及用于检测肝纤维化的非侵入性方法。

背景技术

[0004] 肝纤维化由肝脏慢性损伤引起,包括乙型肝炎和丙型肝炎、酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 和自身免疫性肝炎。随着肝纤维化的进展,细胞外基质蛋白的过度积累导致肝硬度增加,造成肝硬化、肝功能衰竭和肝癌。

[0005] 根据美国疾病控制和预防中心 (CDC) 的统计,肝硬化和慢性肝病是美国男性和女性的主要死因,每年造成约38000人死亡。在美国,约有320万人慢性感染丙型肝炎,估计每年有8000至10000人死亡;每年有19000人因酒精相关性肝病而死亡。此外,中国面临高风险肝纤维化的人口有3亿,其中包括超过1亿乙肝和丙肝病毒携带者以及2亿脂肪肝患者。据保守估计,中国每年新增的肝纤维化患者人数为400万至800万。

[0006] 肝纤维化非常严重,肝硬化 (4期肝纤维化) 在5年内转变为肝癌的几率为6-15%,而肝癌患者在5年内的死亡率高于90%。肝硬化是不可逆的,因此检测处于早期的肝纤维化极其重要。然而,早期肝纤维化是无症状的。因此,在大多数情况下,对于肝病 (肝炎和脂肪肝) 患者来说,甚至在他们意识到存在肝纤维化问题时通常为时已晚。此外,当前的技术只允许在大医院对患者进行检测。

[0007] 目前用于检测肝纤维化的金标准是使用侵入式针吸活组织检查,并且依赖于病理学家对组织图像进行目视检查。针吸活组织检查的问题包括:1) 准确度低,这是由于取样误差大并且病理学家的判读结果可变性;2) 疼痛以及与侵入式手术相关的潜在医疗风险 (例如,大出血)。还存在一种非侵入性技术,该技术是一种基于弹性成像技术来测量肝硬度的超声装置。这种竞争性技术采用体积庞大且价格昂贵的设备,可在有限的医院中使用,且准确度有限。本文公开的方法满足了这些及其他需求。

发明内容

[0008] 本文公开了用于检测和诊断肝纤维化的新方法。本发明改善了超声波方法的现有用途,以改善对肝纤维化的检测。经过多年研究和开发,本发明人首次确定了肝静脉和门静脉之间的多普勒超声频移差异与肝纤维化分期之间的关系。

[0009] 虽然本文使用的方法使用超声技术,但是这些方法以非常规方式使用超声技术。例如,超声技术通常用于对器官进行成像或检查生长胎儿的发育情况。相比之下,如本文所公开,本发明人使用非常规方法以非常规步骤应用该技术,以便通过非侵入性手段检测肝纤维化。

[0010] 既往用于检测肝纤维化的金标准包括肝活检。这种侵入式活检方法痛苦、昂贵、耗时，并且准确度低。因此，本发明人使用了传统上医生不希望用于检测肝纤维化的仪器。以此类非常规方式使用多普勒超声使医生能够提高准确度，同时为患者提供一种非侵入性技术。

[0011] 本文所公开的非侵入性方法还允许患者能够在各级医院和诊所中提供的定期年度医学检查中了解其肝纤维化分期，从而缓解使早期肝纤维化检测未诊断出的问题得到缓解。该技术使用广泛可用的标准超声装置，可降低成本并且提高检查的便利性。大部分医院和诊所可提供这些用于检测肝纤维化的新方法，允许更多的患者接受检测并确定其肝纤维化分期，从而解决早期检测中存在的困难。

[0012] 在一个方面，本文提供了一种用于检测受试者中肝纤维化的方法，包括以下步骤：测量受试者的心率；利用多普勒超声测量受试者的门静脉中的血流频率；利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的血流频率；以及确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移是否存在；其中肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的升高是肝纤维化的指征。

[0013] 在一些实施例中，利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的至少两个位置处的血流频率。在一些实施例中，利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的三个位置处的血流频率。

[0014] 在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0068Hz和约0.0200Hz之间的频移是1期肝纤维化的指征。在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0068Hz和0.0200Hz之间的频移是1期肝纤维化的指征。

[0015] 在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0200Hz至约0.0251Hz之间的频移是2期肝纤维化的指征。在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0200Hz至0.0251Hz之间的频移是2期肝纤维化的指征。

[0016] 在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0251Hz至约0.0401Hz之间的频移是3期肝纤维化的指征。在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0251Hz至0.0401Hz之间的频移是3期肝纤维化的指征。

[0017] 在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.0401Hz的频移是4期肝纤维化（4期肝纤维化也称为肝硬化）的指征。在一些实施例中，肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.0401Hz的频移是4期肝纤维化的指征。

[0018] 在一些实施例中，如果肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率有所增加，则利用治疗剂对受试者进行治疗。在一些实施例中，治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。

[0019] 在另一个方面，本文公开了一种用于检测受试者中肝纤维化的方法，该方法包括以下步骤：测量受治疗者的心率；使用多普勒超声系统测量受试者肝脏中至少两个位置处的血流频率；以及测定肝脏中至少两个位置之间的血流频率的频移；其中所述至少两个位

置之间的血流频率的频移是受试者存在肝纤维化的指征。

[0020] 附图简要说明

[0021] 包含在本说明书中并构成其一部分的附图示出了下文所述的几个方面。

[0022] 图1是静脉壁的分层结构的示意图。

[0023] 图2是由静脉舒张和收缩引起的血流波形的示意图。

[0024] 图3是肝脏中静脉结构和组织的示意图。

[0025] 图4A是患者的肝中静脉的多普勒超声图像。水平轴是时间。图中显示的示例总共记录了6.6秒。垂直轴是血流速度,单位为cm/s。

[0026] 图4B是经过预处理的多普勒超声图像,其中移除了坐标轴信息。

[0027] 图4C是图4B中经处理的图像,示出了血流波形的边界。

[0028] 图5显示了图4C中波形的傅里叶变换结果,即速度与频率的关系。速度单位为cm/s,频率单位为Hz。

[0029] 图6显示了比较来自肝脏中不同静脉(门静脉、肝左静脉、肝中静脉和肝右静脉)的各种频率模式的图。频率单位为Hz,血流速度单位为cm/s。

[0030] 图7示出了血流波形的频移(Hz)与肝纤维化分期(1期至4期)的关系图。

具体实施方式

[0031] 本文公开了用于检测和诊断肝纤维化的新方法。本发明人开发出一种非侵入性、准确的肝纤维化检测方法,该方法使用基于物理学的机器学习方法来分析使用大多数医院和诊所中已有的超声装置所采集的数据。这些新方法可通过将检测整合到常规体检中来缓解早期肝纤维化检测的问题。此外,与当前的侵入式金标准肝活检相比,该技术提供了更方便、更廉价的替代选择。

[0032] 现将更详细地参考本发明的实施例,在附图和实例中说明所述优选实施例的实例。然而,本发明可以多种不同的形式体现,并且不应将本发明理解为受限于本文所述的实施例。

[0033] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术术语和科技术语都与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。提供以下定义是为了充分理解本说明书中使用的术语。

[0034] 术语

[0035] 如本说明书和权利要求书中所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代物,除非上下文另外明确规定。例如,术语“单元”包括多个单元,其中包括它们的混合物。

[0036] 如本文所用,术语“可”、“任选地”和“可任选地”可互换使用,并且意指包括发生疾病的情况以及不发生疾病的情况。因此,例如,制剂“可包括赋形剂”的陈述意在包括其中制剂包含赋形剂的情况以及制剂不包含赋形剂的情况。

[0037] 如本文所用,术语“0期”或“S0”或“0级”是指正常或健康的肝脏,其中在门静脉区域和中央静脉壁中不存在可检测到的纤维化或纤维组织非常少,与Metavir纤维化评分的0期相同。

[0038] 如本文所用,术语“1期”或“S1”或“1级”是指在某些门静脉区域发生纤维化扩张的肝纤维化,但是不存在短纤维化隔膜,与Metavir纤维化评分的1期相同。

[0039] 如本文所用,术语“2期”或“S2”或“2级”是指在大多数门静脉区域发生纤维化扩张的肝纤维化,其中存在短纤维化隔膜,与Metavir纤维化评分的2期相同。

[0040] 如本文所用,术语“3期”或“S3”或“3级”是指在大多数门静脉区域发生纤维化扩张的肝纤维化,其中存在门静脉之间的桥接,与Metavir纤维化评分的3期相同。

[0041] 如本文所用,术语“4期”或“S4”或“4级”是指肝纤维化进展为肝硬化,与Metavir纤维化评分的4期相同。术语“肝硬化”用于描述慢性肝病,其特征不在于肝组织被替代为纤维瘢痕组织以及再生结节(在受损组织再生过程中发生的肿块),导致肝功能逐渐丧失。

[0042] 如本文所用,术语“多普勒超声检查”、“多普勒超声检测”、“多普勒超声测量”或“多普勒超声成像”是指用于估计超声波散射的移动速率的技术。一般来讲,多普勒原理描述了相对于波源运动的观察者对波的频率和/或波长的感知的或明显的变化。称为“多普勒效应”的明显变化可能由观察者的运动、波源的运动或者观察者和波源两者的运动引起。关于超声技术,术语“多普勒”来源于可靠地应用的连续波系统。

[0043] 如本文所用,术语“血流频率”通常是指血流的空间频率,即由于血液泵送通过身体引起血管舒张和收缩所造成的周期性经过空间中的某一位置的行进波形的那些组分。“血流频率”与血流速度相关,并且这些频率组分可通过波形的时域表示的傅立叶变换来确定。应当指出的是,多普勒频率通常在数百Hz至数千Hz的范围内,并且不同的多普勒超声用途对于本领域的技术人员应当是显而易见的。

[0044] 如本文所用,术语“肝的”或“肝脏”在本领域中被认为通常是指体内最大的腺体,其位于膈膜的偏下方和胃的前方。它由两个呈楔形的肝叶组成。

[0045] 当提及可测量值诸如含量、百分比等时,本文所用的术语“约”意指涵盖可测量值 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 或 $\pm 1\%$ 的变化。

[0046] 如本文所用,术语“有益剂”和“活性剂”在本文中可互换使用,是指具有有益生物效应的化合物或组合物。有益的生物效应包括治疗效应和预防效应,其中治疗效应即治疗疾病或其他不希望的生理症状,预防效应即预防疾病或其他不希望的生理症状。该术语还涵盖本文中具体提及的有益剂在药学上可接受的药理学活性衍生物,包括但不限于盐、酯、酰胺、前药、活性代谢物、同分异构体、片段、类似物等。当使用术语“有益剂”或“活性剂”时,或者当明确标识特定的药剂时,应当理解,该术语包括药剂本身以及在药学上可接受的药理学活性盐、酯、酰胺、前药、钆合物、活性代谢物、异构体、片段、类似物等。

[0047] 如本文所用,术语“处理”或“治疗”受试者包括向受试者施用药物,其目的是预防、治愈、愈合、缓解、减轻、改变、修复、改进、改善、稳定或影响疾病或病症或者疾病或病症的症状。术语“处理”或“治疗”还可以指减轻症状的严重程度和/或频率、消除症状和/或潜在病因、预防症状和/或其潜在病因的发生以及改善或修复损伤。

[0048] 如本文所用,术语“预防”受试者的病症或不希望的生理事件具体是指防止症状和/或其潜在病因的发生,其中受试者可能或可能不表现出对病症或事件的高度易感性。

[0049] 术语治疗剂的“有效量”意指无毒但足够量的有益剂以提供所需的效应。“有效的”有益剂的量将在不同受试者之间变化,取决于受试者的年龄和一般情况、特定的一种或多种有益剂等。因此,并不总是能够指定确切的“有效量”。然而,任何受试者病例中的适当的“有效”量可由本领域的普通技术人员使用常规实验方法确定。此外,如本文所用并且除非另外特别说明,否则有益剂的“有效量”也可以指涵盖治疗有效量和预防有效量的量。

[0050] 实现治疗效应所需的药物的“有效量”可根据诸如受试者的年龄、性别和体重等因素而变化。可调整剂量方案以提供最佳治疗反应。例如，可每天施用若干分开的剂量，或者可按照治疗情况的紧急程度按比例减少剂量。

[0051] 如本文所用，治疗剂的“治疗有效量”是指有效实现所需的治疗效果的量，并且治疗剂的“预防有效量”是指有效预防不必要的生理症状的量。给定治疗剂的治疗有效量和预防有效量通常将根据诸如所治疗的疾病或病症的类型和严重程度以及受试者的年龄、性别和体重等因素而变化。

[0052] 术语“治疗有效量”还可指有效促进期望的治疗效应的治疗剂的量或治疗剂的递送速率(例如，随时间推移的量)。精确期望的治疗效应将根据待治疗的症状、受试者的耐受性、待施用的药物和/或药物制剂(例如，治疗剂(药物)的效力、制剂中的药物浓度等)以及本领域中的普通技术人员所理解的各种其他因素而变化。

[0053] 如本文所用，术语“受试者”或“宿主”可指活的生物体诸如哺乳动物，包括但不限于人类、牲畜、狗、猫及其他哺乳动物。治疗剂的给药可采用有效治疗的受试者的剂量和时间进行。在一些实施例中，受试者是人。在一些实施例中，对于男性和女性受试者，本发明的系统的药代动力学特征类似。

[0054] 肝纤维化

[0055] 由慢性肝病引起的肝纤维化可能影响肝功能，是世界范围内的一个重大公共健康问题。肝纤维化与其他疾病(包括糖尿病和癌症)存在很强的关联。最近，对肝纤维化的生理学和病理生理学的理解改善了许多患者的生活质量。

[0056] 在病理组织学上，肝纤维化似乎是受损肝组织被胶原纤维替代。其进展取决于肝病和环境等诸多因素。随着肝纤维化的进展，肝小叶中的胶原纤维积聚阻止了血液与正常组织之间的营养物质交换。按照Metavir纤维化评分，肝纤维化的进展分为5期(S0至S4)。

[0057] S0:门静脉区域和中央静脉中的纤维组织很少。

[0058] S1:一些门静脉区域发生纤维化扩张，不存在短纤维化隔膜。

[0059] S2:大多数门静脉区域发生纤维化扩张，存在短纤维化隔膜。

[0060] S3:大多数门静脉区域发生纤维化扩张，存在门静脉之间的桥接。

[0061] S4:肝硬化。

[0062] 在肝纤维化的每个分期，纤维生长伴随着肝脉管的扭曲。这导致门静脉和窦状隙中血流的改变，并减少了肝脉管和邻近肝实质之间的物质交换。

[0063] 目前，研究人员正在探索多种用于诊断肝纤维化的技术。其中包括侵入式和非侵入性测量。肝活检是一种侵入式诊断技术，并且仍被视为肝纤维化的金标准。然而，当活组织检查的长度介于15mm和25mm之间时，肝活检的准确度仅有65%-75%。侵入式手术还包括在一些病理生理学变化诸如肝癌中的高操作风险，并且可能给患者造成显著疼痛。

[0064] 目前的非侵入性手术对肝的硬度进行超声检测，准确度低。低准确度可能是由仪器准确度或操作人员的主观性或两者引起。由于肝脏是一个大器官并且深深嵌入体内，因此其他组织和器官可能影响超声波的活动，使肝纤维化分级变得困难。

[0065] 许多研究已经表明，肝的硬度与肝纤维化分期之间存在显著的正相关关系。肝脏的机械特性被生长胶原纤维网络改变，并且可以由肝脏的物理参数来描述。

[0066] 本发明人开发出一种基于物理学的数学模型，该模型构建了血流动力学与肝组织

机械特性之间的新关系。该数学模型预测了肝纤维化分期与血流关键特征之间的关系,并且结果已通过肝纤维化患者的多普勒超声图像得到验证。

[0067] 虽然多普勒超声已用于测量血流速度多年,但是尚未被用于检测和诊断肝纤维化。众所周知的多普勒频移现象导致由运动目标反射的超声信号将具有与平行于超声波束方向的目标速度成正比的频移。对于以给定速度运动的任何物体,频移是相同的,而检测信号的振幅是反射超声的运动物体的声反射率的函数。脉冲多普勒超声系统通常产生作为特定样品体积中的时间的函数的检测到的返回信号频率(即,速度)的频谱图,其中频谱图由医师用于确定患者的血流特性。多普勒超声成像的标准指南得到应用并且是本领域中已知的。

[0068] 本文所公开的结果和方法提供了用于肝纤维化的新型非侵入性诊断工具。

[0069] 用于检测纤维化的方法

[0070] 本发明涉及用于非侵入性检测肝纤维化的新型实用方法。虽然这些方法涉及已知的多普勒超声技术,但这些方法以非常规方式应用该技术,使得本发明者率先确定了肝静脉和门静脉中多普勒超声频移差异与肝纤维化存在之间的关系。

[0071] 既往用于检测肝纤维化的金标准包括肝活检。侵入式方法痛苦、昂贵且耗时。因此,本发明人使用了传统上医生不希望用于检测肝纤维化的仪器。以此类非常规方式使用多普勒超声使医生能够减少错误,同时为患者提供一种非侵入性技术。

[0072] 由于本领域中没有人通过比较波频率来诊断肝纤维化,因此本发明的要素对于本领域的技术人员并不是众所周知和常规的。例如,最近一篇科学期刊论文(Doppler ultrasonography combined with transient elastography improves the noninvasive assessment of fibrosis in patients with chronic liver diseases.Alempijevic T et.al Med Ultrason.2017Jan 31;19(1):7-15)报道了用于诊断肝纤维化的现有超声研究中使用的最先进技术。这些研究涉及以下参数:肝动脉直径、肝动脉收缩和舒张速度、脾动脉收缩速度和脾动脉阻力指数。显然不存在对本发明人的改进方法的任何引用,这些方法确定门静脉和肝静脉中的相对流体动力学(通过波频率)作为肝纤维化的标记。本文所述的方法允许更精确地识别早期纤维化。

[0073] 另外,在本发明的方法之前,既往用于检测肝纤维化的非侵入性方法的尝试存在许多缺点,其中包括但不限于操作者之间的可变性、异质性、脂肪肝与纤维化肝脏之间的非辨别性、回声性预测性差、肥胖患者的有效性有限。相比之下,本发明通过计算频率水平来改善操作者之间的可变性,该频率水平不受操作员之间可变性的影响,并且由组织硬度的条件决定。另外,本文所述的方法不依赖于密度图像。最后,本文所公开的方法不受脂肪层厚度的影响,因此在肥胖患者群体中的有效性不受限制。

[0074] 本文公开了使用多普勒超声检测和诊断肝纤维化的新方法。

[0075] 在一个方面,本文提供了一种用于检测受试者中的肝纤维化的方法,该方法包括以下步骤:

[0076] 测量受试者的心率;

[0077] 利用多普勒超声测量受试者的门静脉中的血流频率;

[0078] 利用多普勒超声测量受试者的其中一条肝静脉中的血流频率;以及

[0079] 确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移是否存在;其中肝静

脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的升高是肝纤维化的指征。

[0080] 在一些实施例中,利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的至少两个位置处的血流频率。在一些实施例中,利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的三个位置处的血流频率。

[0081] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0068Hz和约0.0200Hz之间的频移是1期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0068Hz和0.0200Hz之间的频移是1期肝纤维化的指征。

[0082] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0200Hz至约0.0251Hz之间的频移是2期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0200Hz至0.0251Hz之间的频移是2期肝纤维化的指征。

[0083] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于约0.0251Hz至约0.0401Hz之间的频移是3期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在介于0.0251Hz至0.0401Hz之间的频移是3期肝纤维化的指征。

[0084] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.0401Hz的频移是4期肝纤维化(4期肝纤维化也称为肝硬化)的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.0401Hz的频移是4期肝纤维化的指征。

[0085] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.045的频移是4期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.045的频移是4期肝纤维化的指征。

[0086] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.05的频移是4期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.05的频移是4期肝纤维化的指征。

[0087] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.055的频移是4期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.055的频移是4期肝纤维化的指征。

[0088] 在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于约0.06的频移是4期肝纤维化的指征。在一些实施例中,肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率存在大于0.06的频移是4期肝纤维化的指征。

[0089] 在一些实施例中,如果肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率有所增加,则利用治疗剂对受试者进行治疗。在一些实施例中,治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。

[0090] 在另一个方面,本文公开了一种用于检测受试者中的肝纤维化的方法,该方法包括以下步骤:

[0091] 测量受试者的心率;

[0092] 使用多普勒超声系统测量受试者肝脏中至少两个位置处的血流频率;

[0093] 测定肝脏中至少两个位置之间的血流频率的频移；

[0094] 其中所述至少两个位置之间的血流频率的频移是受试者存在肝纤维化的指征。

[0095] 除肝脏以外,动态血液低测量结果(检测血流的频率频移)也用于检测身体的其他器官中的疾病。例如,本文所述的方法可用于肺部(用于检测和诊断囊性纤维化、特发性肺纤维化或癌症治疗后的放射性肺损伤)、心脏(用于检测和诊断心房纤维化,心内膜心肌纤维化和老年心肌梗死)、脑部(用于检测和诊断胶质瘢痕)、肾脏和/或脾脏。此外,其他器官的动态血液测量也可用于检测疾病,诸如动脉僵直度;关节纤维化(膝关节、肩关节、其他关节);克罗恩病(肠);掌腱膜挛缩(手、手指);瘢痕疙瘩(皮肤);纵隔纤维化(纵隔软组织);骨髓纤维化(骨髓);阴茎硬结症(阴茎);肾源性系统性纤维化(皮肤);进行性大块纤维化(肺部;煤工尘肺病的并发症);腹膜后纤维化(腹膜后的软组织);硬皮病/系统性硬化症(皮肤、肺部);以及某些形式的粘连性关节囊炎(肩部)。

[0096] 在另一个方面,本文公开了一种用于检测受试者器官中的纤维化(纤维化疾病)的方法,该方法包括以下步骤:

[0097] 测量受试者的心率;

[0098] 使用多普勒超声系统测量受试者器官中至少两个位置处的血流频率;

[0099] 测定受试者器官中至少两个位置之间的血流频率的频移;

[0100] 其中所述至少两个位置之间的血流频率的频移是受试者存在纤维化(纤维化疾病)的指征。

[0101] 在一个方面,本文提供了一种用于检测受试者的肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移的方法,该方法包括以下步骤:

[0102] 测量受试者的心率;

[0103] 利用多普勒超声测量受试者的门静脉中的血流频率;

[0104] 利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的血流频率;以及

[0105] 确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率是否存在频移。

[0106] 另外,本文公开了一种用于检测受试者的肝纤维化的方法,该方法包括:利用在皮肤区域上移动到多普勒超声装置来测量受试者的门静脉中的血流频率并且测量受试者的肝静脉中的血流频率,以电子方式确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率是否存在频移。

[0107] 本文进一步公开了一种用于检测受试者的肝纤维化的方法,该方法包括:

[0108] 利用多普勒超声监测受试者的门静脉中的血流频率的变化,并且利用多普勒超声监测受试者的肝静脉中的血流频率的变化;

[0109] 分析所监测的变化,以确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率是否存在频移;以及

[0110] 确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移是否存在;其中肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的升高是肝纤维化的指征。

[0111] 用于治疗肝纤维化的治疗剂

[0112] 在另外的方面,本文公开了方法的额外步骤,其中利用治疗剂对受试者进行进一步治疗。在一些实施例中,如果肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率有所增加,则利用治疗剂(或治疗处理)对受试者进行治疗。在一些实施例中,治疗剂选自抗病毒剂、抗

生素、利尿剂或轻泻剂。

[0113] 在一个方面,本文提供了一种用于治疗或预防受试者中的肝纤维化的方法,该方法包括以下步骤:

[0114] 测量受试者的心率;

[0115] 利用多普勒超声测量受试者的门静脉中的血流频率;

[0116] 利用多普勒超声测量所述受试者的肝静脉中的血流频率;

[0117] 确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移是否存在;其中肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的升高是肝纤维化的指征;以及

[0118] 如果肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率有所增加,则施用治疗剂或治疗处理。

[0119] 在一些实施例中,施用治疗剂以用于治疗肝纤维化,或者在一些实施例中,施用治疗剂以用于预防肝纤维化的进展(例如,肝纤维化分期之间的进展)。在一些实施例中,治疗剂以足以治疗肝纤维化相关联的症状的有效量施用。

[0120] 在一些实施例中,如果肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率有所增加,则利用治疗剂对受试者进行治疗。

[0121] 在一些实施例中,治疗剂选自抗病毒剂、抗生素、利尿剂或轻泻剂。可施用给受试者的其他治疗剂可包括硫胺素、类固醇、乙酰半胱氨酸或己酮可可碱。

[0122] 可以开抗生素以帮助清除感染。失代偿期肝硬化患者通常需要入院并监测体液平衡,例如利用利尿剂。利尿剂可能是抑制腹水的必要条件。住院治疗的利尿剂选择包括醛固酮拮抗剂(螺内酯)和袢利尿剂。可以处方轻泻剂诸如乳果糖以降低相关便秘的厌倦风险。

[0123] 然而,肝硬化造成的肝损伤通常不可逆,并且许多晚期肝硬化患者需要接受肝移植。因此,本文所公开的方法可改善早期检测,并且有助于减少对昂贵且复杂的肝移植的需要。在一些实施例中,治疗处理是肝移植。

[0124] 肝硬化通常也可以由乙型肝炎或丙型肝炎引起。在一些实施例中,受试者进一步接受抗病毒剂的治疗。在一些实施例中,抗病毒剂选自索非布韦、西咪匹韦、雷迪帕韦、帕利瑞韦、奥比他韦、达萨布韦、聚乙二醇干扰素和利巴韦林或它们的组合。

[0125] 在一个实施例中,治疗剂使肝纤维化水平,即纤维组织、纤维瘤或纤维变性的形成,减小约90%以上。在一个实施例中,纤维化水平,即纤维组织、纤维瘤或纤维变性的形成,减小至少约90%、至少80%、至少约70%、至少约60%、至少约50%、至少约40%、至少约30%、至少约20%、至少约10%、至少约5%或至少约2%。

[0126] 本文所述的方法代表了用于评估肝纤维化以提供对肝纤维化的早期干预和预防和/或治疗的全新方法。多普勒技术的显著改善以及在多个位置进行测量的多普勒超声的非常规应用,使本发明人首次检测到受试者的肝纤维化,该方法包括以下步骤:测量受试者的心率;利用多普勒超声测量受试者的门静脉中的血流频率;

[0127] 利用多普勒超声测量受试者的肝静脉中的血流频率;以及确定肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的频移是否存在;其中肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率的升高是肝纤维化的指征。

[0128] 实例

[0129] 以下实施例用于示出根据本发明所公开的主题的理论、装置、方法和结果。本实例

并非旨在包括本文所公开的主题的所有方面,而是示出代表性的方法和结果。本实例并非旨在排除对本领域的技术人员显而易见的本发明的等同物和变异形式。

[0130] 实例1.利用肝脏中的血流动力学来区分肝纤维化等级

[0131] 肝硬化是一个重大公共健康问题。早期肝纤维化无症状并且难以诊断。与专门研究肝纤维化的临床医生合作,本发明人开发出一种基于物理学的数学模型,该模型整合对纤维化发展的经验性理解,将纤维化分期与组织和器官的机械特性(硬度)和血流动力学联系起来。该模型预测血流模式随门静脉周围组织硬度变化的变化。该预测得到肝纤维化患者的多普勒超声测量结果的支持。血流动力学与纤维化分期的特定的对应关系通过采用相同的肝纤维化患者数据的机器学习来确定。因此,该模型和多普勒超声图像分析为肝纤维化的所有分期提供一种新型非侵入性诊断工具。

[0132] 随着肝纤维化的进展,胶原蛋白的沉积增加了肝组织的硬度,从而影响门静脉和肝静脉中的血流。静脉壁由三层组成:内膜、中膜和外膜(图1)。内膜层由内皮细胞和基底膜组成;组织和血液之间的这种光滑界面也是一种保护性屏障。中膜层由平滑肌细胞组成,为血管壁提供弹性。中膜层中平滑肌的扩张和收缩为静脉血流提供主要驱动力。外膜层包括成纤维细胞,其在活化时产生并且沉积胶原纤维。

[0133] 在肝纤维化进展过程中,在外膜层中,活化的成纤维细胞(称为肌成纤维细胞)释放外膜中的胶原纤维。胶原纤维交联形成纤维网络,其逐渐包围静脉,并且限制平滑肌的扩张能力,从而改变静脉中的血流模式。将平滑肌视为弹性材料时,可以对这种改变进行量化。当血液脉冲流过静脉时,平滑肌层扩张以适应额外的体积,有效地将血流的动能转换为弹性势能。一旦其潜在能量达到阈值,肌层开始收缩,其将势能转换为血液的动能。因此,血液的最低速度发生在A点,血液的最高速度发生在B点(图2)。在沿静脉血管壁的每个点重复类似的振荡,其驱动力来自脉冲血流的压力。

[0134] 在正常情况下,平滑肌收缩的频率与压力相同。振荡可以近似为谐波振荡,其中每个点的运动被描述为

$$[0135] \quad m\ddot{x} + kx = 0,$$

[0136] 其中m是每个点的质量,k是平滑肌层的弹性刚度,x是每个点的位移。求解运动方程,得出:

$$[0137] \quad x(t) = A \cos(\omega t + \phi),$$

[0138] 其中A是振荡振幅,角速度 ω 与振荡频率f有关

$$[0139] \quad \omega = \sqrt{\frac{k}{m}} = 2\pi f$$

[0140] 在肝纤维化的情况下,纤维网络包封静脉,有效地增加血管壁的弹性刚度: $k_{\text{纤维化}} > k$ 。节能要求刚度和幅值平方的乘积保持不变。因此,振荡振幅减小为

$$[0141] \quad A_{\text{fibrosis}} = \sqrt{\frac{k}{k_{\text{fibrosis}}}} A^2$$

[0142] 接下来,血管壁的运动仍然被描述为

$$[0143] \quad x(t) = A_{\text{纤维化}}(\omega t + \phi)$$

[0144] 其中

$$[0145] \quad \omega = \sqrt{\frac{k_{\text{fibrosis}}}{m}} = 2\pi f_{\text{fibrosis}} > 2\pi f$$

[0146] 这表明纤维化肝脏中血管壁振荡的频率应当大于正常肝脏。由于血液的流速由静脉的振荡引起,因此血流速度的频率也应当表现出相同的趋势。

[0147] 在肝脏中,血液通过门静脉进入器官,通过肝组织扩散,然后从肝静脉离开(图3)。由于纤维化增加肝组织的刚度,因此预期入口和出口血流之间的差异将反映肝脏的刚度变化。为显示血流速度的频率与血管壁的刚度相关并对其产生响应,因此分别利用多普勒超声测量来自门静脉和肝静脉的血液速度。

[0148] 多普勒超声成像在一段观察期内使用高频声波来测量肝脏中的血流速度(图4A)。从超声图像中提取血流速度的波形图(图4B)。提取并进一步分析波形的包络线(图4C)。

[0149] 由于频率是关注的主要参数,因此曲线通过傅立叶变换从时域转换为频域,该变换被写为,

$$[0150] \quad \tilde{f}(\xi) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-2\pi i t \xi} dt.$$

[0151] 对于任何实数 ξ ,其中 t 代表时间(图5)。通过该分析发现,门静脉频率在所有早期纤维化患者中与心率完全匹配(1-3期)。因此,心率可用作参考,分别用于选择门静脉和肝静脉中的特征频率。

[0152] 图6显示了一名患者的代表性数据。在该实例中,进行4次多普勒超声测量(分别在门静脉入口以及肝左静脉、肝中静脉和肝右静脉的出口)。心率已在图6中标出。

[0153] 为了理解由于过量胶原纤维引起的血流变化的动力学模式,考虑到由血流测量和确定的肝纤维化分期。这里,纤维结构导致血管壁发生受限的变形。为确定纤维-血液模型是否表现出这种全局行为,利用模拟血液测量。在模拟中观察到不同分期的肝纤维化发生明显变化。在组织柔韧性初始增加之后,随着纤维开始出现在静脉周围,峰值血流速度的频率向更高的值频移。

[0154] 然后测量200名患者和10名健康对照的临床数据。每位患者的数据包括四幅超声图像(分别在门静脉入口以及肝左静脉、肝中静脉和肝右静脉的出口)和心率值。在所有健康对照中,肝静脉和门静脉之间的特征频率之间的差异为约0或远小于0.006Hz。将200名患者的肝静脉和门静脉之间的特征频率之间的差异或频移绘制为由病理学家确定的纤维化分期的函数(图7)。该图明确表明频移和纤维化分期之间的正相关关系。因此,对这一大量临床数据的分析证实了我们模型的结果,其中血流频率与纤维化分期密切相关。肝纤维化分期越高,多普勒图像中波形图案的频移越高(图7)。

[0155] 总之,该实例描述了一种用于诊断肝纤维化的新方法。该方法模拟了由肝纤维化引起的血流动力学的变化。该方法进一步示出了多普勒超声测量如何能够用于诊断患者的肝纤维化分期。这些观察结果避免了与其他疾病和患者身体的生理状态的影响混淆,因为这些结果的重点在于纤维化肝脏中的胶原纤维结构与血流之间的物理相关性。从这些患者采集的数据的结果表明,这种非侵入性方法为肝纤维化诊断提供了一种新范式,并且有利于更好地理解肝纤维化。

[0156] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。本文引用的出版物以及那些出版物所引用的材料以引用方式明确地并入本文。

[0157] 本领域的技术人员应当理解,可以对本发明的优选实施例进行多种改变和修改,并且可以在不脱离本发明的精神的前提下实施此类改变和修改。因此,所附权利要求旨在覆盖属于本发明的真实精神和范围内的所有此类等效的变型。

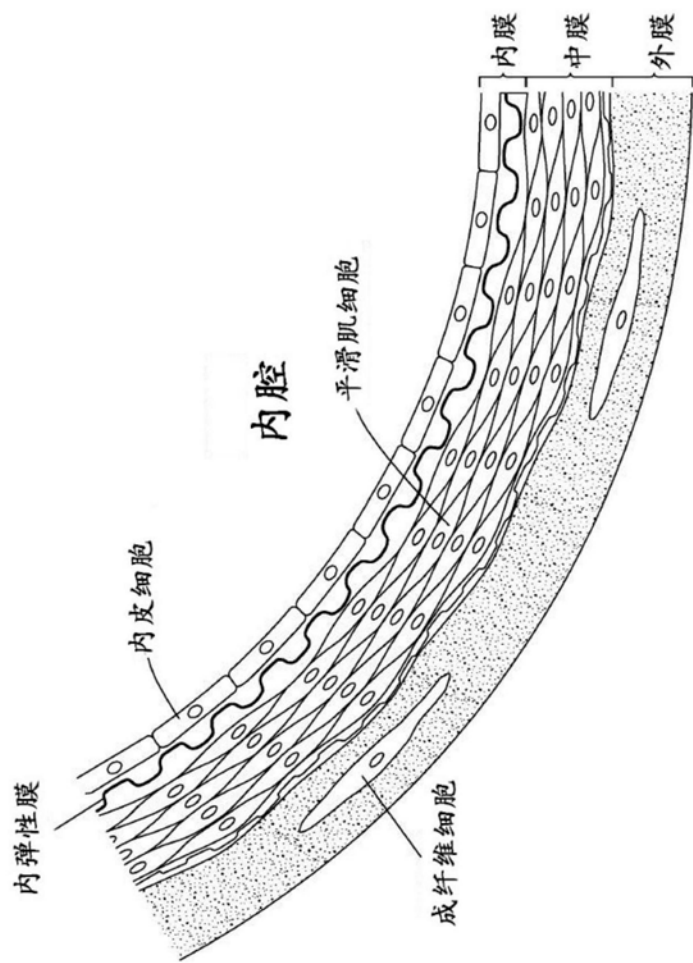


图1

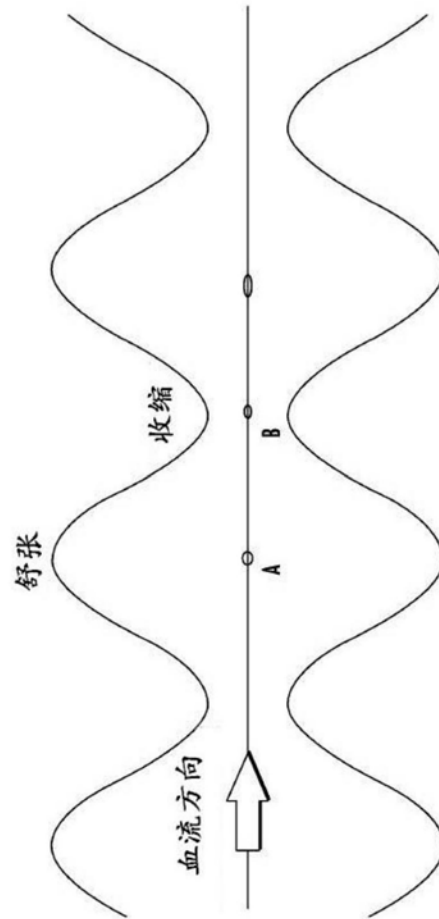


图2

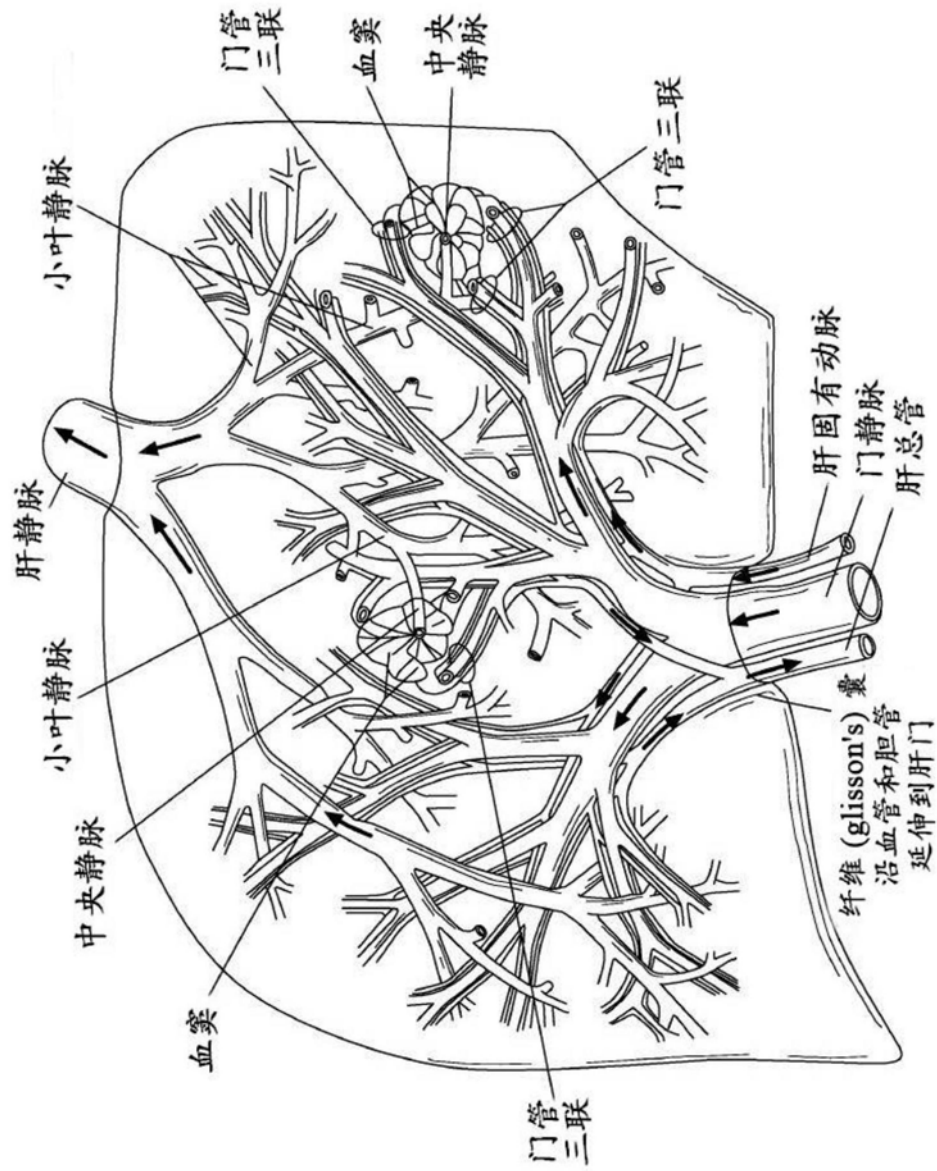


图3

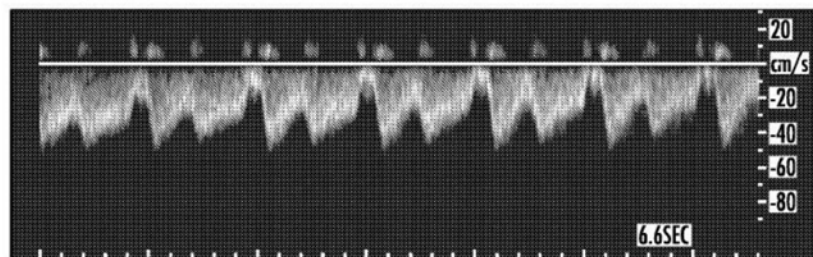


图4A

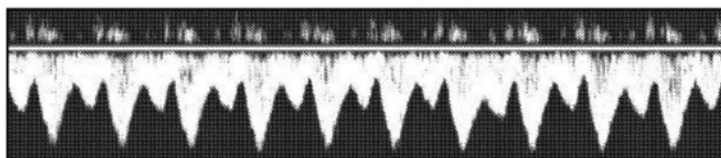


图4B

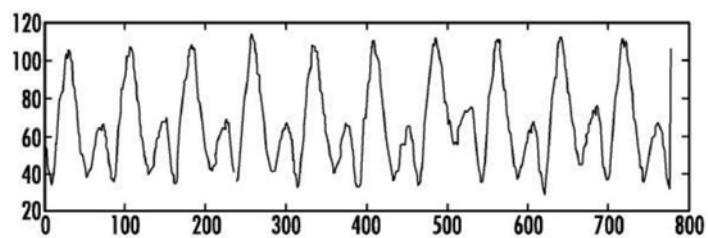


图4C

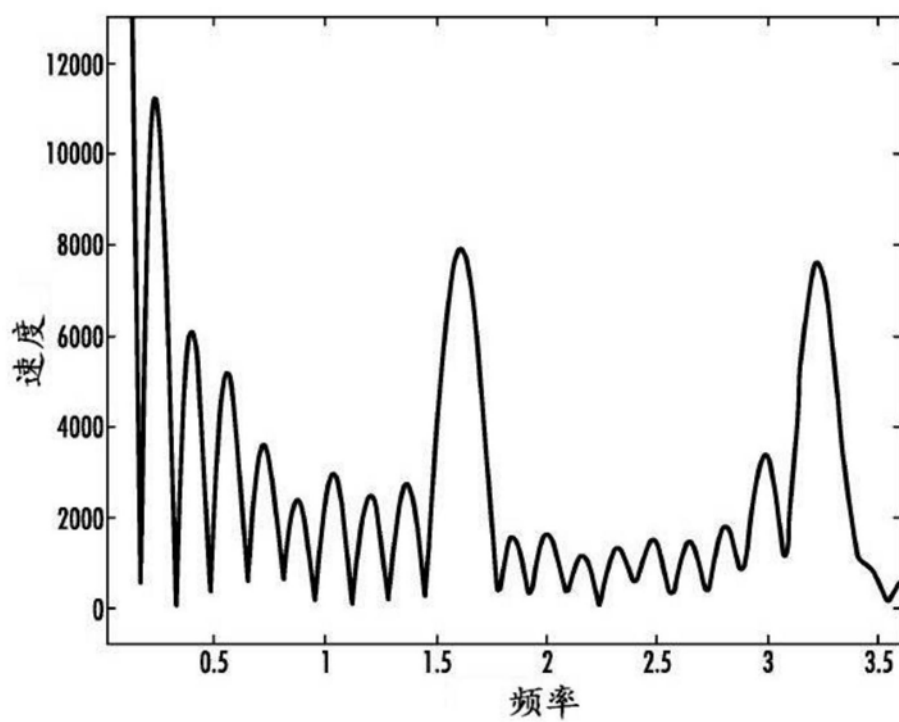


图5

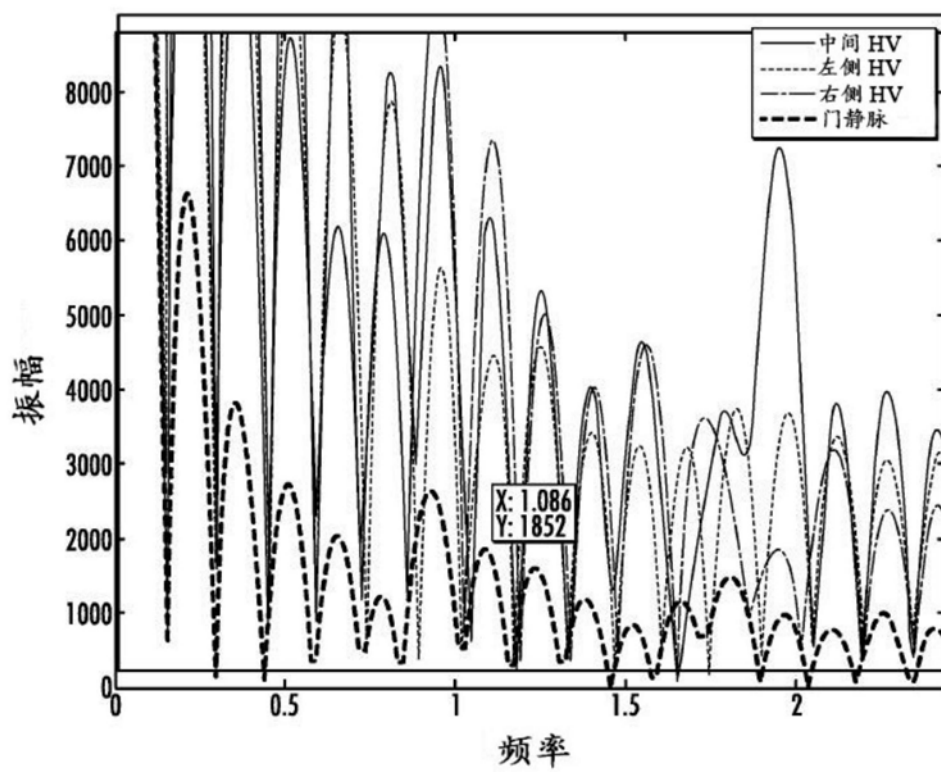


图6

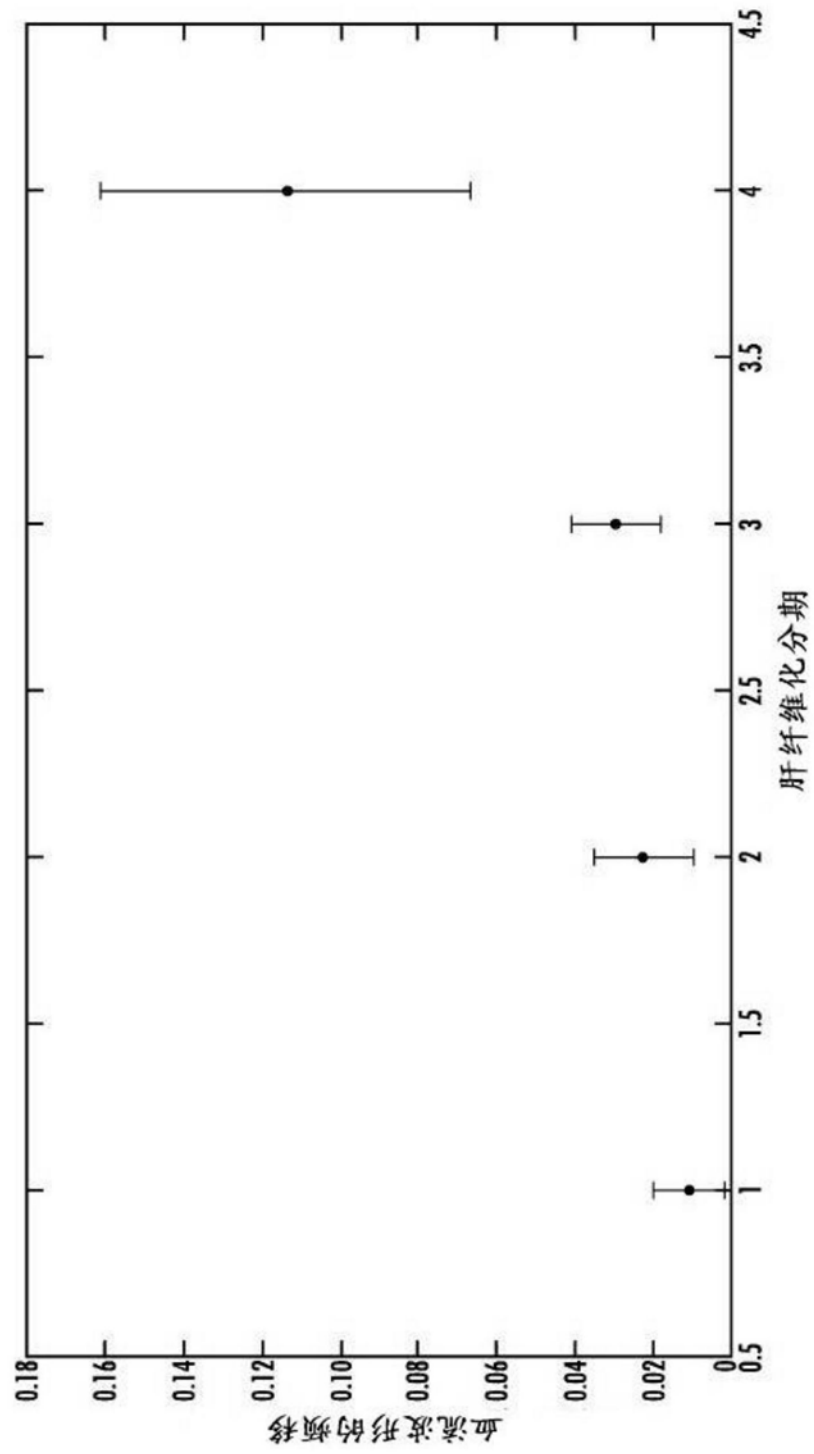


图7

专利名称(译)	用于检测肝纤维化的非侵入性方法		
公开(公告)号	CN110769741A	公开(公告)日	2020-02-07
申请号	CN201880030162.6	申请日	2018-06-29
申请(专利权)人(译)	佐治亚州立大学研究基金会		
当前申请(专利权)人(译)	佐治亚州立大学研究基金会		
[标]发明人	江毅 陈皓 张斌		
发明人	江毅 陈皓 张斌 谢尔盖·克利莫夫		
IPC分类号	A61B5/00 A61B8/06 A61B8/08 A61K41/00 G01N33/50 G01N33/68		
CPC分类号	A61B8/06 A61B8/08 A61B8/488 A61B8/5223 G16H50/30 A61B5/024 A61B5/4244 A61B5/4842 A61B5/4848		
代理人(译)	高原		
优先权	62/527469 2017-06-30 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本公开涉及用于检测肝纤维化的非侵入性方法。本文公开了非侵入性肝纤维化检测方法，所述方法使用多普勒超声装置和基于物理学的机器学习方法。本文进一步公开了通过检测和测量肝静脉中的血流频率相比于门静脉中的血流频率是否存在频移来检测受试者的肝纤维化的方法。

