

# 腹腔镜联合术中冰冻肝活检对胆道闭锁的诊断价值分析

刘智文<sup>1</sup> 杨文萍<sup>2</sup> 黄金狮<sup>1</sup> 陶 强<sup>1</sup> 陈 快<sup>1</sup> 陶俊峰<sup>1</sup> 樊 伟<sup>1</sup>

**【摘要】 目的** 探讨腹腔镜下胆道探查联合术中快速冰冻切片肝活检对胆道闭锁的诊断价值。**方法** 在腹腔镜胆道探查术中同时剪取肝边缘少量肝组织,送快速冰冻切片活检,并将肝组织内病理形态改变与术后石蜡切片进行比较研究。**结果** 2012 年 9 月至 2013 年 12 月作者收治 57 例梗阻性黄疸患儿,全部经腹腔镜探查、胆道造影、术中冰冻切片肝活检联合诊断,其中胆道闭锁 55 例,胆汁淤积症 2 例。术中冰冻切片与术后石蜡切片对比,两者对肝纤维化、胆管增生程度、BA 分级等判断一致性高(Kappa 值分别为 0.675、0.871、0.775);但冰冻切片对汇管区及肝小叶炎性细胞浸润观察效果较差,Kappa 值为 0.309,差异有统计学意义。**结论** 术中肝组织冰冻切片与腹腔镜探查、胆道造影及术后石蜡切片相对照符合率高,能够准确判断肝脏纤维化以及小胆管增生程度,有助于胆道闭锁的术中诊断及预后评估。

**【关键词】** 腹腔镜;活组织检查;胆道闭锁;诊断

**Analysis on diagnosis of Laparoscopic combined intraoperative frozen liver biopsy in patients with biliary atresia.** LIU Zhi-wen, YANG Wen-ping, HUANG Jin-shi, et al. Department of Pediatric Surgery, Jiangxi Children's Hospital, Nanchang 330006, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the clinical application value of laparoscopic cholangiogram exploration combined intraoperative liver biopsy in diagnosis and treatment of infants with obstructive jaundice. **Methods** In laparoscopic cholangiogram exploration, a small amount of liver tissue was sheared, then the quick frozen biopsy was got to assist the diagnosis, and the result was compared with postoperative pathology of paraffin section. **Results** 57 children with obstructive jaundice treated in our hospital between September 2012 and December 2013 underwent laparoscopic exploration, biliary cholangiography and intraoperative liver biopsy, 55 cases were diagnosed as biliary atresia, and 2 cases cholestasis. According to the contrast of the intraoperative frozen section and postoperative paraffin section, both the degree of liver fibrosis and bile duct hyperplasia judgment is highly consistent(Kappa = 0.675、0.871、0.775), but inflammation in the hepatic lobule and portal area of frozen section is poorer(Kappa = 0.309), the difference is statistically significant. **Conclusions** Intraoperative liver biopsy combined laparoscopic exploration, biliary cholangiography is highly coincident with postoperative pathology, which can help get accurate judgment of the liver fibrosis degree and small bile duct hyperplasia, and get diagnosis and pre-evaluation.

**【Key words】** Laparoscopes; Biopsy; Biliary atresia; Diagnosis

胆道闭锁(Biliary Atresia, BA)、婴儿肝炎综合征及代谢性疾病等是引起婴儿梗阻性黄疸的主要原因。腹腔镜胆道造影对胆道闭锁的诊断价值已被小儿外科医师认可并广泛应用<sup>[1]</sup>。但遵循循证医学原则,胆道探查造影对胆囊、胆总管显影而近端肝胆

管不显影的Ⅲb型胆道闭锁(图1,张金山、李龙等<sup>[2]</sup>)、胆管发育不全症及部分婴儿肝炎病例诊断尚存不足。为此,作者自2012年9月起开展腹腔镜联合术中快速冰冻肝活检对婴儿梗阻性黄疸进行诊治,并将术中冰冻切片与术后石蜡切片的病理诊断结果进行比较研究,现总结如下:

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.05.002  
基金项目:江西省卫计委科技计划项目,项目名称:腹腔镜联合快速冰冻肝活检诊断胆道闭锁的研究,项目号:20151140  
作者单位:江西省儿童医院(江西省南昌市,330006),1,新生儿外科;2,病理科,E-mail: tinklerlw@126.com

## 材料与方法

### 一、临床资料

对 57 例术前检查考虑为梗阻性黄疸的患儿行腹腔镜下胆道探查术,如术中观察见胆囊呈纤维条索状,肝脏呈棕褐色,表面有结节样改变,无法行胆道造影,则可初步诊断为胆道闭锁,同时等待术中肝脏活检病理结果联合确诊(图 2);如胆囊基本形态存在、外观稍小,则于腹腔镜下游离胆囊后将胆囊底经右上腹穿刺孔拖出腹腔,插管行胆囊腔造影,同时所有病例术中同时剪取少量肝组织(图 3),送快速冰冻切片活检。

二、研究方法

所有肝组织术后均常规行石蜡切片,并与术中冰冻切片结果进行比较研究,必要时行免疫组化检测。根据 GS 标准(2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订病毒性肝炎防治方案)+小胆管增生分级诊断肝脏综合病变<sup>[3]</sup>。

另外,本组病例根据汇管区及汇管区周围细小胆管增生和纤维化程度将 BA 分为:0 级-无细小胆管及纤维组织的增生;1 级-汇管区细小胆管轻度增生、畸形,伴汇管区轻度纤维组织增生;2 级-汇管区细胆管中度增生、畸形,伴随纤维组织增生向小叶间延伸,肝小叶结构存在;3 级-汇管区细小胆管明显增生、畸形或萎缩,伴纤维组织增生,纤维间隔形成,小叶结构紊乱。4 级-汇管区小胆管增生或减少、萎缩,伴纤维组织明显增生,肝假小叶形成。本研究术中术后病理诊断均由同两名经验丰富的病理科医师完成。

三、统计学处理

运用 SPSS17.0 统计分析软件进行统计学处理,一致性采用 Kappa 检验判断二者差异,Kappa 值≥0.75 为一致性极好;0.75>Kappa≥0.4 为中度至高度一致;Kappa<0.4 为一致性较差。

结 果

一、腹腔镜胆道探查及结果

探查见纤维化未发育的胆囊 31 例(Ⅲa 型);有胆囊,但形态、大小不一,造影见胆囊管、胆总管及肠道显影、肝总管及以上不显影 16 例(Ⅲb 型);胆囊管不通畅 8 例(Ⅲc 型)。肝外胆管全部显影 2 例。实施 Kasai 手术 30 例,放弃治疗 25 例。

二、术中冰冻检查结果

1 例与腹腔镜造影结果不符合。该例为术中探查考虑为Ⅲa 型的 41 日龄患儿,术中冰冻切片汇管区未见明显细小胆管增生,纤维化相当于 S1,考虑

为胆汁淤积。但根据胆道萎缩情况及肉眼肝脏病变程度观察,考虑 BA 的可能性大,经与病理科医师沟通,再次取材,多次切片后仍确诊为 BA。

三、术中冰冻切片及术后石蜡切片比较结果

肝细胞和毛细胆管淤胆、小叶间胆管、汇管区小胆管中胆栓形成及小胆管增生,冰冻切片较易观察,与石蜡切片对比,Kappa 值=0.675。对肝脏纤维化分级,冰冻切片与石蜡切片判断高度一致,Kappa 值=0.871。对汇管区及肝小叶内轻-中度单个核细胞

表 1 两组肝纤维化分级诊断结果

冰冻切片	石蜡切片				合计
	S1	S2	S3	S4	
S1	2	0	0	0	2
S2	0	10	0	0	10
S3	0	1	34	3	38
S4	0	0	0	7	7
合计	2	11	34	10	57

注:Kappa 值=0.871,P<0.01。

表 2 两组汇管区小胆管增生分级诊断结果

冰冻切片	石蜡切片					合计
	0	1	2	3	4	
0	5	0	0	0	0	5
1	3	6	0	0	0	9
2	0	4	18	1	0	23
3	0	0	2	9	1	12
4	0	0	0	3	5	8
合计	8	10	20	13	6	57

注:Kappa 值=0.775,P<0.05。

表 3 两组对 BA 分级诊断结果

冰冻切片	石蜡切片					合计
	0	1	2	3	4	
0	0	0	0	0	0	0
1	0	2	0	0	0	2
2	0	0	9	2		11
3	0	0	0	23	4	27
4	0	0	0	0	14	14
合计	0	2	9	25	18	54

注:Kappa 值=0.675,P<0.05。

表 4 两组对汇管区及肝小叶内炎性细胞浸润诊断结果

冰冻切片	石蜡切片		合计
	G1	G2	
G1	22	15	37
G2	5	15	20
合计	27	30	57

注:Kappa 值=0.309,P<0.05。

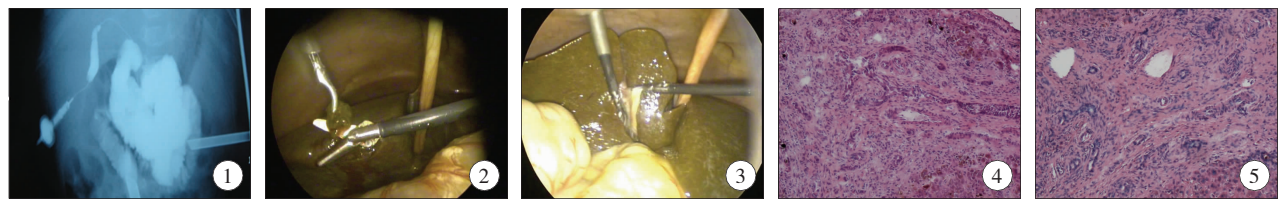


图 1 肝外胆道造影；图 2 取肝组织活检；图 3 腹腔镜胆囊探查；图 4 肝活检(术中冰冻切片,HE10×10)；图 5 肝组织病理(石蜡切片,HE 10×10)

及分叶核细胞的浸润,冰冻切片诊断欠佳,Kappa 值 = 0.309。对 BA 分级二者一致性高,Kappa 值 = 0.775。另外,33 例(57.9%) 在石蜡切片中可见少-中等量多核巨肝细胞,冰冻切片不易观察。

### 讨 论

胆道闭锁是新生儿、小婴儿严重肝胆系统病变,其诊治有一定的时限性,而新生儿、小婴儿梗阻性黄疸病因复杂,尚可由其它肝内或肝外病变引起,如病毒性肝炎、长期胃肠外营养及遗传代谢性疾病等<sup>[4]</sup>;这些疾病临床表现相似,鉴别诊断较困难,目前常采用肝功能检验、B 超、SPECT 及 MRCP 等影像学检查进行鉴别诊断,但均有一定的局限性,存在较高的假阳性或假阴性率,不能作为明确诊断的理想方法。肝活检是区分 BA 与婴儿特发性肝炎的重要检测方法,其准确率可达 90% 以上<sup>[5]</sup>。有文献报道在发达国家该项技术被视为胆道闭锁诊断的金标准,但肝穿刺活检存在大出血风险、穿刺取材过小等缺点,目前国内应用尚不理想,仅有少数单位采用。腹腔镜胆道探查造影创伤小、安全、操作简便,已替代传统开腹手术成为梗阻性黄疸鉴别诊断广泛应用的有效方法,腹腔镜胆道探查术中如发现为未发育的纤维条索状胆囊(本组 31 例,占 56.4%),或造胆胆囊仅为一小囊、胆囊管不通畅(本组 8 例,占 14.5%),则胆道闭锁的可能性很大;但也有少数可能为胆囊发育不全所致。且单纯腹腔镜探查+胆道造影在对胆囊、胆总管开放型的Ⅲb 型胆道闭锁的诊断尚存疑惑(肝总管与左、右肝管不显影是否为造影压力不足所致),本组有 16 例(占 29.1%)腹腔镜观察见存在胆囊,但形态、大小不一,造影见胆囊、胆囊管、胆总管及肠道显影、肝总管及以上不显影的患儿,根据大陆地区胆道闭锁诊治专家共识,需压迫胆总管增加压力后再次造影,甚至部分病例需开腹探查来明确诊断<sup>[6]</sup>。但本组该 16 例患儿经术中快速冰冻肝活检均得出胆道闭锁的诊断,避免了反复术中放射造影及中转开腹手术。

BA 基本的肝脏病理组织的病理形态可表现为:①肝脏组织汇管区门脉周围进行性胆汁性肝纤维化,最后导致肝硬化;②汇管区小胆管增生、畸形,常伴随纤维化进行性发展;③毛细胆管淤胆及小叶间胆管胆栓形成;④肝脏门脉及门脉周围不同程度的炎症细胞浸润及胆管炎;⑤无或少数多核巨肝细胞<sup>[7,8]</sup>。BA 病理形态观察常常可以发现小胆管增生常伴随纤维化同时发生,且纤维化程度和小胆管增生呈正相关,因此观察肝内汇管区纤维化与小胆管的增生可作为诊断的重要指标之一。但小胆管增生并不是 BA 特异性的病理改变,在不同原因引起的新生儿期持续性黄疸均可出现,因此在进行 BA 临床病理诊断中,应用 GS 标准加小胆管增生分级综合评价系统,能较全面反应 BA 的病理特征,有助于提高病理诊断的准确率。

本研究 57 例患儿中,冰冻切片诊断有 1 例与术中探查结果不符,分析原因可能与患儿日龄小、肝脏病变程度较轻、标本取材较小有关。另外,通过对 57 例冰冻和石蜡切片的肝组织纤维化、小胆管增生、肝小叶汇管区炎症、汇管区胆栓、肝细胞毛细胆管淤胆及肝多核巨肝细胞等胆道闭锁主要病理特征,进行比较观察发现,尽管分级或分期存在一些差别,但比较差异无统计学意义,因此术中冰冻病理诊断对 BA 具有较高的准确率。本组病例肝组织标本均取于肝左叶或肝右叶肝缘处,一般均含有 10 个肝小叶以上,能够在显微镜下清晰显示病理特征,并不存在有因边缘肝组织较中心肝组织病变严重而导致诊断错误的情况。但是,冰冻切片对多核巨肝细胞的判断较石蜡切片差,对诊断婴儿肝炎综合征或与 BA 密切相伴的 CMV 感染的诊断价值有限<sup>[9]</sup>。因此术中除外 BA 诊断,其进一步的诊断分析还需待石蜡切片并佐以免疫组化等检查。

肝脏的病变程度与患儿的预后密切相关<sup>[10]</sup>。单纯从腹腔镜下观察肝脏的大体形态评估肝脏病变程度并不完全可靠<sup>[11,12]</sup>。因此,本研究期望能将腹腔镜胆道探查与术中肝组织快速冰冻活检结合起来,准确、快速诊断疾病的同时对病情进行评估。但

目前尚缺乏针对小儿胆道闭锁的病理病变程度的判定标准,对胆道闭锁患儿肝脏综合病变病理判定标准常参照 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的病毒性肝炎防治方案<sup>[13]</sup>。两种疾病的发生机制完全不同,将成人肝炎肝脏病理诊断标准应用于小儿胆道闭锁的评估有欠妥当。而且目前对 BA 的诊断分级通常对肝纤维化及小胆管增生分别进行分期和分级<sup>[14]</sup>;不利于对疾病的整体判断,BA 的小胆管增生常伴随纤维化进程,而小胆管增生、肝纤维化的程度亦和疾病的预后直接相关<sup>[15]</sup>。本组资料显示 BA 早、中期细小胆管增生和纤维程度化呈正相关,但当 BA 后期肝硬化时,常出现小胆管萎缩而纤维组织增生较明显的情况,因此,我们建议将纤维化和细小胆管异常增生综合分析建立一个评价系统,即本文前面提到的 BA 分级系统,以全面、准确地反映 BA 的病理特征,但仍需更多病例进行研究及后期随访。

综上所述,腹腔镜胆道探查造影联合冰冻肝活检诊断胆道闭锁操作简单、安全、准确率高,术中冰冻切片病理诊断快速及时,在病理分级及纤维化的判断中,与石蜡切片具有较好的一致性,有利于手术中对疾病诊断和预后的判断。

## 参考文献

- 1 Tang ST, Li SW, Ying Y, et al. The evaluation of laparoscopy-assisted cholangiography in the diagnosis of prolonged jaundice in infants [J]. Journal of laparoendoscopic & advanced surgical techniques, 2009, 19(6): 827-830.
- 2 张金山, 李龙, 等. III 型胆道闭锁不同亚型与预后关系的探讨 [J]. 临床小儿外科杂志, 2012, 11(4): 244-246.
- 3 周李, 金龙, 李桂生, 等. 胆小管增生诱导胆道闭锁早期肝纤维化 [J]. 中华小儿外科杂志, 2005, 26(6): 281-284.
- 4 Kliegman RM, Stanton BF, Schor NF, et al. Nelson textbook of pediatrics [M]. 19th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2011: 966.
- 5 Dehghani SM, Haghighat M, Imanieh MH, et al. Comparison of different diagnostic methods in infants with cholestasis [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(36): 5893-5896.

- 6 中华医学会小儿外科分会新生儿外科学组、小儿肝胆外科学组. 中国大陆地区胆道闭锁诊断及治疗(专家共识) [J]. 中华小儿外科杂志, 2013, 34(9): 700-705.
- 7 Russo P, Magee JC, Boitnott J, et al. Design and validation of the biliary atresia research consortium histologic assessment system for cholestasis in infancy [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(4): 357-362.
- 8 Yamaguti DC, Patrício FR. Morphometrical and immunohistochemical study of intrahepatic bile ducts in biliary atresia [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(9): 759-765.
- 9 Amy G, Cara L. Biliary atresia: cellular dynamics and immune dysregulation [J]. Semin Pediatr Surg, 2012, 21(3): 192-200.
- 10 Baumann U, Ure B. Biliary atresia [J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2012, 36(3): 257-259.
- 11 刘钧澄, 李桂生, 钟思陶, 等. 胆道闭锁葛西手术后肝脏病理变化 [J]. 中华小儿外科杂志, 1994, 15(6): 332-334.
- 12 刘丹丹, 詹江华, 高伟. 胆道闭锁患者肝门的病理解剖学研究 [J]. 临床小儿外科杂志, 2015, 14(01): 20-24.
- 13 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订. 病毒性肝炎防治方案 [J]. 中华内科杂志, 2001, 40(1): 62-68.
- 14 张金山, 李龙, 邹继珍, 等. 胆道闭锁肝胆病理改变与预后的关系研究 [J]. 中华小儿外科杂志, 2011, 32(8): 590-594.
- 15 Sheyer E, Ramm GA, Xu C, et al. Outcome after portoenterostomy in biliary atresia: pivotal role of degree of liver fibrosis and intensity of stellate cell activation [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2006, 42(1): 93-99.
- 16 Leonhardt J, Kuebler JF, Turowski C, et al. Predictive parameters in children with biliary atresia [J]. Chirurg, 2009, 80(7): 628-633.
- 17 杨文萍, 吴艳, 张守华. 胆道闭锁患者肝脏组织病理改变的综合评价 [J]. 临床小儿外科杂志, 2015, 14(01): 10-15.
- 18 Miza Q, Kvist N, Petersen BL. Histologic features of the portal plate in extrahepatic biliary atresia and their impact on prognosis-a Danish study [J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(7): 1344-1348.