

胆道闭锁发病机制研究进展



彭 飞 综述 段翔飞 审校

胆道闭锁(Biliary Atresia, BA)是婴幼儿期常见的肝内外胆管进行性闭塞性病变,该病进展迅速,很快引起肝纤维化,最终导致肝硬化^[1-2]。若不进行有效治疗,患儿将在 1 岁左右死亡^[3]。患儿 Kasai 手术后 2 年生存率约为 60%,5 年存活率仅 30%,75% 以上的患儿最终进展为肝功能衰竭^[4]。尽快明确 BA 的病因及发病机制,并给予针对性的预防和治疗对改善 BA 的预后有着重要意义。本文就近年来胆道闭锁发病机制的研究进展作一综述。

一、先天性发育异常

近年来,胆管板畸形(ductal plate malformation, DPM)学说逐渐引起人们的重视。在胚胎第 8 周,肝门及肝内围绕邻近门静脉支形成的圆柱状单层细胞层是肝内胆道的最原始层,即胆管板(ductal plate, DP)。从胚胎期第 11 至 13 周开始,DP 自肝门部进行胆板重塑,伴随胎儿的发育重塑过程从肝门部向肝脏末梢推进形成肝内胆管,此过程即为 DP 重塑,直至形成肝内胆道系统。然而出生时大部分肝末梢胆管并不与门静脉分支伴行,有些还处于胆管板阶段,DP 重塑仍在进行,如果残留 DP 不能充分重塑,则称为胆管板畸形(DPM)。Tan 等提出肝门部胆管板重塑畸形可能导致 BA^[5]。胆管板畸形的胎儿可能胆管很少被间充质细胞支持,之后在围生期胆汁流量增加时,出现胆汁外漏。而外漏的胆汁则可能引起周围组织强烈的炎症反应,最终引起各级胆管树的纤维化闭塞。

BA 偶然也可见于同卵双胞胎,提示 BA 可能存在某些易感基因^[6]。日本小儿外科学会登记了 1989—2000 年全日本共 1 483 例患儿,359 例合并畸形,以多脾、内脏反位多见^[7]。Carmi 等^[8]回顾性分析了 251 例合并畸形的 BA 患儿,30 例合并有心、胃肠道、泌尿道的单一或二重畸形,15 例与位置序列有关,包括多脾或无脾、内脏转位、肠旋转不良、心血管畸形、门静脉和肝动脉畸形。有研究发现某

些肝细胞生长因子(HGF)/分离因子,细胞黏附因子和细胞表面凝集素与胆管上皮细胞发育相关,HGF 可通过其受体 c-met 癌基因进而影响胆道系统形成^[9]。此外,基因多态性可能也会使不同患儿肝脏、胆管组织对病毒感染、炎症反应及组织纤维化易感性存在差异,已被证明与 BA 发生相关^[10]。

二、病毒感染

有研究发现包括轮状病毒和呼肠病毒 3 型在内的病毒可能也是 BA 的致病原因,目前已建立由恒河猴轮状病毒(Rhesus monkey rotavirus, RRV)和呼肠病毒感染导致的小鼠 BA 的动物模型^[11]。向野生型新生小鼠腹腔注射已活化的 RRV,不仅肝脏及肝内外胆管病理改变与人类 BA 病理改变类似,而且还表现出相似的临床症状,如全身皮肤黄染,尿液深黄,排陶土色大便,小鼠生长明显延迟^[12]。胆管上皮细胞表达的整合素 $\alpha 2\beta 1$ 蛋白是 RRV 对小鼠胆管上皮细胞的易感性主要原因,抑制整合素 $\alpha 2\beta 1$ 蛋白可降低 RRV 对胆管上皮细胞的黏附作用,由此减少了由 RRV 导致的 BA 动物模型数量^[13]。相关研究已明确整合素 $\alpha 2\beta 1$ 蛋白同样也表达于 BA 患儿的胆管上皮细胞^[14]。呼肠病毒 3 型病毒在新生小鼠中制造的 BA 模型,肝脏及肝内外胆管损伤的病理性改变同样与人类 BA 有着相类似的病理及临床改变^[11]。有文献报道 BA 患儿呼肠孤 3 型病毒免疫学抗体阳性率可高达 62%,新生儿肝炎为 52%,而正常婴儿或其他疾病患儿阳性率明显降低仅为 12%^[15]。既往巨细胞病毒曾被认为是引起婴幼儿 BA 可能的病原体,且巨细胞病毒性肝炎的肝脏及胆管组织病理改变与部分 BA 患儿肝脏及胆管组织的病理改变有相似之处,约 42% 的 BA 患儿血中可检测到巨细胞病毒抗体阳性,其中约 80% 为 IgM 抗体^[16-17]。但巨细胞病毒不仅可引起患儿肝炎,也可导致心血管、神经及血液等系统疾病改变,上述疾病改变并没有出现在 BA 患儿中^[18]。人乳头瘤病毒也可能与 BA 发生相关,有文献报道,在 18 例 BA 患儿中,有多达 16 例患儿的肝脏组织中可检测到人乳头瘤病毒的 RNA,但对照组未见 1 例阳性患儿^[19]。

但无论如何改进检测手段,也并不是所有 BA 患儿的肝脏、胆管组织和血清中均可以检测到上述病毒的抗体、病毒颗粒或 RNA,各个实验室及研究组对人类 BA 标本的检测结果也并不完全一致,有的甚至差异非常大。在正常人群中同样有一部分婴幼儿虽然感染上述病毒,但并没有形成 BA,说明病毒感染并不一定导致 BA,它们可能是众多引起 BA 可能因素中的一个^[20]。

三、免疫和(或)炎症反应异常

根据患儿的临床特征,可将 BA 分为两型,即胚胎型和围生期型。大部分 BA 患儿为围生期型,出生时可排出正常胎便,出生后短期内仍可排出含有胆汁的大便。术后病理检查提示肝内胆汁淤积,门管区周围组织中有大量炎性单核细胞及淋巴细胞浸润。肝十二直肠韧带内常可见肝外胆管残余,肝门部存在纤维板块及炎性细胞浸润,且较少合并其他畸形。由此可见,免疫炎症反应可能在围生期型 BA 的形成过程中起重要作用。目前,免疫炎症反应异常学说已得到众多学者关注^[2]。宫内感染和围生期病毒感染与 BA 的关系已获人体和动物实验证实,学者们认为某些病毒的围生期感染或毒素损伤作用,可能成为 BA 的始动因素,诱发 BA 患儿肝内外胆管异常免疫炎症反应,炎症反应即使是在病毒已被机体清除的情况下仍可持续存在,不断造成肝内、外胆管上皮细胞的损伤、坏死、凋亡,最终引起纤维化增生,BA 形成^[21]。

研究已证实特异免疫反应参与了 BA 肝脏及肝内、外胆管组织持续性免疫损伤^[22]。Bezerra 等^[23]研究发现 BA 患儿肝脏及肝内外胆管组织中 TH1 类炎性细胞因子的基因表达上调,而 TH2 类细胞因子的基因表达却明显下调,同时 BA 患儿 TH1 类细胞因子表达相应上调,提示 TH1 免疫途径在 BA 的形成过程中起重要作用,而 TH2 类细胞因子表达则明显下调。研究发现 BA 患儿术后病理检查均提示肝脏及肝内外胆管周围组织有大量单克隆 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞浸润,提示在特定抗原的再次刺激下 T 淋巴细胞活化并增殖,进入肝脏及肝内、外胆管组织,参与免疫反应^[24]。Shivakumar 等^[25]研究发现 CD8⁺ T 淋巴细胞可能是 BA 形成的重要效应细胞,而不是 CD4⁺ T 淋巴细胞。有报道免疫球蛋白可见于人类 BA 残余肝外胆管组织中,提示体液免疫可能参与了 BA 的形成^[26]。同时在 RRV 诱导的 BA 小鼠模型中,Lu 等学者发现针对胆管上皮细胞上 a-enolase 抗原的 IgG 抗体,而 a-enolase 与 RRV

编码的某一蛋白具有相似的氨基酸序列,由此可能会导致交叉免疫反应^[27]。

近年来非特异性免疫反应在 BA 中所起的作用已逐渐引起人们注意,巨噬细胞(macrophage cell, M ϕ)、树突状细胞及自然杀伤细胞(nature kill cell, NK)等非特异性免疫反应细胞也参与 BA 的形成^[28]。有学者报道 Kasai 术后恢复良好的患儿手术时汇管区只有少量 M ϕ 细胞浸润,但预后不良的患儿术中汇管区却有大量 M ϕ 细胞浸润^[29]。BA 患儿肝内、外胆管周围组织中有 NK 细胞浸润,NK 细胞在 BA 损伤中所起的作用也受到广泛重视^[30-31]。在给新生小鼠腹腔注射 RRV 后肝内外胆管周围组织有大量 NK 细胞聚集,且是肝外胆管周围浸润最多的炎症细胞。这些 NK 细胞可通过 NKG2D 信号通路杀伤胆管上皮细胞,最终导致 BA^[32]。进一步研究发现,通过阻断相应抗体阻断 NKG2D 信号通路或抑制 NK 细胞活化,可降低轮状病毒感染肝内、外胆管上皮细胞引起的胆管上皮细胞损伤、坏死,保持胆管管腔通畅,虽然病毒仍存在于胆管上皮细胞内^[32]。

四、微嵌合体

微嵌合体是指一小部分来自于另一个人,遗传上与宿主不同的细胞在宿主体内存留,可能是一种自身免疫性疾病。有报道含 XX 染色体母体细胞存在于男性胆道闭锁患儿体内,这些来自于母体的含 XX 染色体的细胞可表达 CD8 细胞分子或者细胞角蛋白^[33]。由此可见这种母体微嵌合体可能具有免疫功能而参与了 BA 的形成。

目前 BA 的病因及发病机理仍未明确,可能是多种因素相互作用的结果,其中免疫炎症反应异常在 BA 的形成过程中起着重要作用。但是 BA 的相关理论仍需不断完善和改进,才能为今后 BA 的预防及治疗提供更好的方法。

参考文献

- 1 Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia[J]. Lancet, 2009, 374: 1704-1713.
- 2 Mieli-Vergani G, Vergani D. Biliary atresia[J]. Semin Immunopathol, 2009, 31: 371-381.
- 3 Bessho K, Bezerra JA. Biliary atresia: will blocking inflammation tame the disease? [J]. Annu Rev Med, 2011, 62: 171-185.
- 4 Bijl EJ, Bharwani KD, Houwen RH, et al. The long-term outcome of the Kasai operation in patients with biliary atre-

- sia; a systematic review[J]. *Neth J Med*, 2013,71:170-173.
- 5 Tan CE, Driver M, Howard ER, et al. Extrahepatic biliary atresia: a first-trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry[J]. *J Pediatr Surg*, 1994,29:808-814.
- 6 Hyams JS, Glaser JH, Leichtner AM, et al. Discordance for biliary atresia in two sets of monozygotic twins[J]. *J Pediatr*, 1985,107:420-422.
- 7 Nio M, Ohi R, Miyano T, et al. Five-and 10-year survival rates after surgery for biliary atresia: a report from the Japanese Biliary Atresia Registry[J]. *J Pediatr Surg*, 2003,38:997-1000.
- 8 Carmi R, Magee CA, Neill CA, et al. Extrahepatic biliary atresia and associated anomalies: etiologic heterogeneity suggested by distinctive patterns of associations[J]. *Am J Med Genet*, 1993,45:683-693.
- 9 Funaki N, Sasano H, Shizawa S, et al. Apoptosis and cell proliferation in biliary atresia[J]. *J Pathol*, 1998,186:429-433.
- 10 Santos JL, Carvalho E, Bezerra JA. Advances in biliary atresia: from patient care to research[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010,43:522-527.
- 11 Petersen C, Biermanns D, Kuske M, et al. New aspects in a murine model for extrahepatic biliary atresia[J]. *J Pediatr Surg*, 1997,32:1190-1195.
- 12 Coots A, Donnelly B, Mohanty SK, et al. Rotavirus infection of human cholangiocytes parallels the murine model of biliary atresia[J]. *J Surg Res*, 2012,177:275-281.
- 13 Graham KL, Takada Y, Coulson BS. Rotavirus spike protein VP5 * binds alpha2beta1 integrin on the cell surface and competes with virus for cell binding and infectivity [J]. *J Gen Virol*, 2006,87:1275-1283.
- 14 Jafri M, Donnelly B, Allen S, et al. Cholangiocyte expression of alpha2beta1-integrin confers susceptibility to rotavirus-induced experimental biliary atresia[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008,295:G16-G26.
- 15 Glaser JH, Balistreri WF, Morecki R. Role of reovirus type 3 in persistent infantile cholestasis [J]. *J Pediatr*, 1984,105:912-915.
- 16 Soomro GB, Abbas Z, Hassan M, et al. Is there any association of extra hepatic biliary atresia with cytomegalovirus or other infections? [J]. *J Pak Med Assoc*, 2011,61:281-283.
- 17 Moore SW, Zabiegaj-Zwick C, Nel E. Problems related to CMV infection and biliary atresia[J]. *S Afr Med J*, 2012,102:890-892.
- 18 Jevon GP, Dimmick JE. Biliary atresia and cytomegalovirus infection: a DNA study[J]. *Pediatr Dev Pathol*, 1999,2:11-14.
- 19 Soderberg-Naucler C. Treatment of cytomegalovirus infections beyond acute disease to improve human health[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014,12:211-222.
- 20 Drut R, Gomez MA, Drut RM, et al. Human papillomavirus, neonatal giant cell hepatitis and biliary duct atresia [J]. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 1998,28:27-31.
- 21 Alvarez F. Is biliary atresia an immune mediated disease? [J]. *J Hepatol*, 2013,59:648-650.
- 22 Feldman AG, Mack CL. Biliary atresia: cellular dynamics and immune dysregulation[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2012,21:192-200.
- 23 Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC, et al. Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia[J]. *Lancet*, 2002,360:1653-1659.
- 24 Mack CL, Falta MT, Sullivan AK, et al. Oligoclonal expansions of CD4 + and CD8 + T-cells in the target organ of patients with biliary atresia [J]. *Gastroenterology*, 2007,133:278-287.
- 25 Shivakumar P, Sabla G, Mohanty S, et al. Effector role of neonatal hepatic CD8 + lymphocytes in epithelial injury and autoimmunity in experimental biliary atresia[J]. *Gastroenterology*, 2007,133:268-277.
- 26 Feldman AG, Tucker RM, Fenner EK, et al. B cell deficient mice are protected from biliary obstruction in the rotavirus-induced mouse model of biliary atresia [J]. *PLoS One*, 2013,8:e736-44.
- 27 Lu BR, Brindley SM, Tucker RM, et al. alpha-enolase autoantibodies cross-reactive to viral proteins in a mouse model of biliary atresia. *Gastroenterology*, 2010,139:1753-1761.
- 28 Harada K, Nakanuma Y. Cholangiopathy with respect to biliary innate immunity [J]. *Int J Hepatol*, 2012,2012:7935-7969.
- 29 Nattee P, Honsawek S, Chongsrisawat V, et al. Elevated serum macrophage migration inhibitory factor levels in post-operative biliary atresia [J]. *Asian J Surg*, 2009,32:109-113.
- 30 Guo C, Zhu J, Pu CL, et al. Combinatory effects of hepatic CD8 + and NK lymphocytes in bile duct injury from biliary atresia[J]. *Pediatr Res*, 2012,71:638-644.
- 31 Okamura A, Harada K, Nio M, et al. Participation of natural killer cells in the pathogenesis of bile duct lesions in biliary atresia[J]. *J Clin Pathol*, 2013,66:99-108.
- 32 Shivakumar P, Mourya R, Bezerra JA. Perforin and granzymes work in synergy to mediate cholangiocyte injury in experimental biliary atresia[J]. *J Hepatol*, 2014,60:370-376.
- 33 Muraji T, Hosaka N, Irie N, et al. Maternal microchimerism in underlying pathogenesis of biliary atresia: quantification and phenotypes of maternal cells in the liver[J]. *Pediatrics*, 2008,121:517-521.