

胆道闭锁与肝移植专题·论著·

胆道闭锁与婴儿肝炎综合征肝活检病理对比分析

李英存 张明满 蒲从伦 郭春宝 康 权 戴小科 熊 强 邓玉华 陈柏林

【摘要】 目的 对比分析胆道闭锁、婴儿肝炎综合征患儿肝组织活检病理表现,明确胆道闭锁与婴儿肝炎综合征的相关性及不同病理表现。 方法 收集 2004 年 1 月至 2014 年 1 月在本院因黄疸保守治疗效果不佳而疑为胆道畸形并行胆道探查、胆道造影患儿的肝活检标本 32 例,其中胆道闭锁 25 例,婴儿肝炎综合征 7 例,分别就两者肝活检 HE 染色切片肝细胞淤胆、变性,毛胆管淤胆,汇管区胆管增生,胆管内胆栓,汇管区炎性细胞浸润,肝脏纤维化程度进行比较。 结果 虽然婴儿肝炎综合征胆道造影存在胆道形态异常,但同年龄段胆道闭锁与婴儿肝炎综合征患儿肝细胞淤胆、变性,毛胆管淤胆,汇管区炎性细胞浸润等情况比较无明显差异;胆道闭锁患儿汇管区胆管增生,肝脏纤维化程度明显高于婴儿肝炎综合征组($P < 0.05$)。 结论 婴儿肝炎综合征与胆道闭锁病理表现明显不同;汇管区胆管增生、肝纤维化程度是鉴别胆道闭锁与婴儿肝炎综合征的主要病理依据;婴儿肝炎综合征能否最终发展为胆道闭锁尚需进一步随访研究。

【关键词】 胆道闭锁; 肝炎; 综合征; 病理; 婴儿

Comparative analyses of differential liver histological features between biliary atresia and infantile hepatitis syndrome. Li Yingcun, Zhang Mingman, Pu Conglun, Guo Chunbao, Kang Quan, Dai Xiaoke, Xiong Qiang, Deng Yuhua, Chen Bolin. Department of Hepato-biliary Surgery, Affiliated Children's Hospital, Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development & Disorders, China International Science & Technology Cooperation Base of Child Development & Critical Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China. Corresponding author: Zhang Mingman, E-mail: hangmingman-a@163.com

【Abstract】 **Objective** To comparatively analyze the differential liver histological features between biliary atresia (BA) and infantile hepatitis syndrome (IHS) and elucidate their relationship. **Methods** From January 2004 to January 2014, a total of 32 patients (including 25 BA and 7 medication-resistant IHS) were recruited. Cholestasis and degeneration of hepatocyte, cholestasis of bile ductule, bile ductal proliferation, bile plug and inflammatory cell infiltration in portal area, viral inclusion body and stages of liver fibrosis were examined by hematoxylin & eosin-staining slides. **Results** No differences existed between cholestasis and degeneration of hepatocyte, cholestasis of bile ductule or cell infiltration in portal area in BA and IHS. However, bile ductal proliferation and stages of liver fibrosis were more severe in BA than those in IHS ($P < 0.05$). **Conclusions** Marked differences of hepatic histological features exist between BA and IHS. Longer follow-ups are required for clarifying whether or not IHS evolves into BA. Bile ductal proliferation and advanced liver fibrosis in hepatic histology are two major differential points for BA and IHS.

【Key words】 Biliary Atresia; Hepatitis; Syndrome; Pathology; Infant

胆道闭锁(biliary atresia, BA)及婴儿肝炎综合

征(infantile hepatitis syndrome, IHS)是婴幼儿黄疸的主要原因,两者鉴别困难,病因都与巨细胞病毒感染关系密切。近年来诸多研究表明,肝脏巨细胞病毒感染可能发展为胆道闭锁^[1-5]。本院在对因保守治疗效果不佳而疑为 BA 的黄疸患儿进行手术探查,并于术中造影发现部分患儿胆道虽然存在,但形态异常,表现为胆道内壁毛糙、肝内外胆道纤细。肝组织活检是诊断 BA 的重要手段^[6-8]。但 BA 与 IHS 是否存在类似病理学改变,值得进一步探讨。

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2017.02.009

基金项目:重庆市卫生局资助项目(2012-2-104);国家临床重点专科建设项目(国卫办医函[2013]544);重庆市科技计划项目(cstc2014yykfA110014)

作者单位:重庆医科大学附属儿童医院肝胆外科,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地,儿科学重庆市重点实验室(重庆市,400014)

通信作者:张明满, E-mail: zhangmingman-a@163.com

本研究对内科保守治疗效果不佳、术中造影诊断为 IHS 的患儿与 BA 患儿进行肝组织活检病理学对比分析,以明确 IHS 与 BA 是否存在相关性。

材料与方法

一、临床资料
选取 2004 年 1 月至 2014 年 1 月于本院肝胆外科行胆道探查、胆道造影的患儿共 32 例,其中胆道造影提示肝内外胆道存在者 7 例,男 6 例,女 1 例,平均手术年龄(79.9 ± 30.4)d,诊断为 IHS; BA 25 例,男 13 例,女 12 例,平均手术年龄(95.6 ± 39.4)d。

二、胆道探查及造影
术中于胆囊底切一小口,置入 8 号硅胶尿管,缝合固定,以 300 mg/mL 碘海醇 3 ~ 5 mL 经硅胶尿管注入,床旁摄片。

三、病理切片制备及读片
术中分别于肝脏边缘切取肝组织活检,约 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 大小,石蜡包埋,10 μm 连续切片,HE 染色后,双盲法由高年资病理医师在光学显微镜下读片,内容包括:肝细胞淤胆、毛胆管胆栓、枯否细胞吞噬胆汁等非特异性淤胆表现;汇管区胆管增生、胆管内胆栓、汇管区炎性细胞浸润、胆纤维化程度等阻塞性黄疸表现。肝细胞淤胆采用计数法,200 个细胞/HP,以肝细胞浆有棕黄色颗粒为阳性;胆管增生以汇管区胆管数目 > 5 个为阳性^[9-10];肝纤维化程度采用 2000 年西安会议病理分级诊断

标准^[11]:分为 S0 至 S4 期,S0 为无纤维化;S1 汇管区纤维化扩大,局限窦周及小叶内纤维化;S2 汇管区周围纤维化,纤维间隔形成,保留小叶结构;S3 纤维间隔伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4 早期肝硬化。

四、随访方法
对于 IHS 患儿术后半个月、1 个月、3 个月、6 个月分别随访黄疸、大便、及肝功能情况。

五、统计学处理
采用 SPSS21.0 软件进行统计学分析,计数资料两组间比较采用 *t* 检验,计量资料采用确切概率计算法,等级资料采用 Wilcoxon 秩和检验, *P* < 0.05 为差异有显著统计学意义。

结 果

7 例 IHS 患儿胆道造影均显示胆道全程通畅,其中 5 例胆道形态异常,表现为胆管纤细或胆管壁毛糙(图 1)。

统计分析结果显示:BA 患儿与 IHS 患儿在手术时平均年龄[(79.9 ± 30.4 vs 95.6 ± 39.4)d, *P* = 0.133]、肝细胞淤胆(31.4 ± 28.5 vs 14.8 ± 11.5, *P* = 0.073)、毛胆管淤胆、枯否细胞吞噬胆汁三种非特异性淤胆上比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),汇管区胆管增生数目在 BA 中明显增多(*P* < 0.0001),见图 2 和表 1,BA 患儿肝纤维化程度明显高于 IHS 患儿(*P* < 0.005),见表 1。

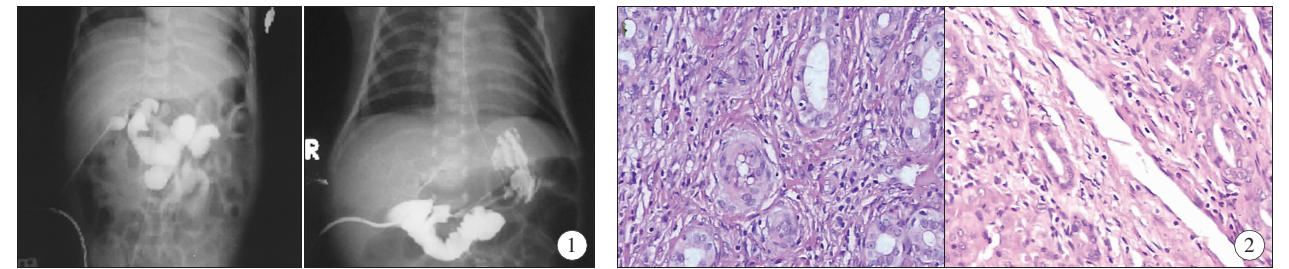


图 1 IHS 患儿术中胆道造影显示胆道形态异常; 图 2 BA 患儿肝组织活检显示汇管区胆管增生(HE 染色 10 × 20)
Fig. 1 Abnormal morphology of bile duct on cholangiography in HIS children; Fig. 2 Bile ductal proliferation in portal area in BA children (HE staining 10 × 20)

表 1 BA 与 IHS 患儿肝组织活检对比
Table 1 Differences of hepatic histology between BA and IHS

疾病	毛胆管淤胆 <i>n</i> (%)		枯否细胞吞噬胆汁 <i>n</i> (%)		胆管增生 <i>n</i> (%)	
	+	-	+	-	+	-
BA(<i>n</i> = 25)	17(68.00)	8(32.00)	5(20.00)	20(80.00)	20(80.00)	5(20.00)
婴儿肝炎综合征(<i>n</i> = 7)	3(42.86)	4(57.14)	0(0.00)	7(100.00)	0(0.00)	7(100.00)
χ^2/Z 值	1.475		1.659		14.933	
<i>P</i> 值	0.218		0.264		<0.000 1	

续表 1 BA 与 IHS 患儿肝组织活检对比
Table 1 Differences of hepatic histology between BA and IHS

胆管内胆栓 <i>n</i> (%)		汇管区炎性细胞浸润 <i>n</i> (%)		肝细胞纤维化程度 <i>n</i> (%)			
+	-	中性 <i>i</i>	淋巴	S1	S2	S3	S4
2(8.00)	23(92.00)	9(36.00)	16(64.00)	1(4.00)	2(8.00)	4(16.00)	18(72.00)
0(0.00)	7(100.00)	4(57.14)	3(42.86)	5(71.43)	0(0.00)	2(29.57)	0(0.00)
	0.597		1.013			3.800	
	0.605		0.281			<0.005	

5 例胆道造影异常的 IHS 患儿经随访 6 个月,除 1 例术后因肝细胞坏死严重,肝功能衰竭而死亡外,其余 4 例均黄疸消退、大便转黄、肝功能好转而治愈。

讨 论

新生儿及婴幼儿黄疸病因较复杂,鉴别诊断困难,是临床诊断治疗的难点,主要包括 BA 及 IHS 两种。BA 是新生儿及婴幼儿阻塞性黄疸的主要病因,发病率约为 1/8 000~1/14 000。根据患儿临床表现不同可分为围产期型及胚胎型,围产期型占 80%,这些患儿出生时胆道存在,在新生儿期病原侵袭、炎症进展而出现胆道纤维闭锁。其特征为较迟出现黄疸,在生理性黄疸消退后再次出现黄疸。胚胎型占 20%,其特征为生后持续性黄疸。IHS 是以黄疸、肝脏及胆道系统病损、肝脏增大,肝功能异常为特征的临床征候群,通常由感染及代谢性疾病所致。两者在临床表现上往往难以区分,需尽早手术探查,术中行胆道造影以明确胆道通畅情况。近年诸多研究表明,病毒感染是 BA 及 IHS 的主要病因,病毒感染可发展为胆道闭锁^[1-5],病毒感染亦可用于判断胆道闭锁预后^[12]。在临床工作中,对近 40 例内科疗效不佳的黄疸患儿进行腹腔镜胆道探查,术中于胆囊插管行胆道造影。其中 7 例胆道存在,故行胆囊造瘘术,术后诊断为 IHS;约 30 余例诊断为 BA,除外放弃治疗者共行 Kasai 术 25 例。在确诊为 IHS 的患儿胆道造影平片中,5 例形态异常,表现为肝内外胆管细线样或胆管腔毛糙不光滑。结合 IHS 与 BA 病因相似,是否这部分患儿最终发展为 BA,为 BA 的前期表现,尚未见文献报道,值得我们探讨。本文就内科疗效不佳的黄疸患儿,术中造影表现为胆道异常者与 BA 患儿肝组织活检病理表现作对比,推测胆道造影异常的 IHS 与 BA 是否存在疾病相关性。

肝组织活检是鉴别胆道闭锁及其它胆汁淤积性

肝病的重要方法,其准确性可以达到 88.2%~96.8%,在欧美等发达国家及发展中国家被作为胆道闭锁的主要诊断方式之一^[6],内容包括实质细胞改变(包括肝细胞羽毛变性、毛胆管扩张淤胆、枯否细胞吞噬胆汁),是梗阻及非梗阻性黄疸患者共同存在的非特异性表现;而汇管区胆管增生、胆栓形成、水肿及中性粒细胞浸润为 BA 特有的病理表现。应用肝活检评分系统有助于诊断胆道闭锁,敏感度达 94.7%,特异度达 86.2%,准确率达 91.9%^[9]。本研究对 IHS 及 BA 患儿手术肝组织活检病理表现作了详细比较,发现 BA 患儿与 IHS 患儿在肝细胞淤胆、毛胆管淤胆、枯否细胞吞噬胆汁三种非特异性淤胆上的表现无明显差异,提示两者均存在肝细胞胆汁排泄障碍及胆管胆汁淤滞现象。但汇管区胆管增生数目在 BA 中明显增多,统计分析两者存在明显差异($P<0.0001$)。与 Li 等报道一致^[7,10,13],故认为汇管区胆管增生是 BA 肝组织活检各项指标中最具诊断价值的指标。但胆栓形成、水肿及中性粒细胞浸润三种病理表现在本研究中 BA 患儿与 IHS 患儿未见明显差异($P>0.05$),与部分现有报道不符,需进一步研究验证。

同时,本研究发现,BA 患儿肝纤维化程度明显高于 IHS 患儿($P<0.005$),考虑与胆道梗阻后肝脏损害进一步加重,病情进展快,肝细胞死亡及纤维再生迅速,导致快速形成肝纤维化有关。因此,该研究结果不支持 IHS 是 BA 前期病变的假设。

在 IHS 患儿中,5 例胆道造影呈细线样胆道,合并胆管壁毛糙,经短期随访,除 1 例因肝细胞坏死严重(病理检查提示大部分肝细胞变性坏死)、肝功能差而于术后出现肝功能衰竭死亡外,其余 4 例均黄疸消退、大便转黄、临床症状完全缓解而治愈。提示胆道细线样形态异常可经胆道冲洗及保肝治疗痊愈,而不会进展为 BA。

综上所述,本研究结论如下:①虽然 IHS 与 BA 有相似的病因,且胆道造影在 IHS 患儿存在胆道形态异常,但两者肝组织活检病理表现存在明显差异。

IHS 患儿肝组织活检不具备梗阻性黄疸的病理特征,且随访发现患儿均可通过保守治疗而治愈,故不提示 IHS 合并胆道形态异常患儿是 BA 的前期表现,两者可能具有不同发病过程。进一步研究可通过大样本胆道形态异常 IHS 患儿术后保留胆囊造瘘管,择期行胆道造影而明确其形态的动态变化。②肝穿刺活检病理显示汇管区小胆管增生及肝纤维化程度较高(>S3 级),对提示 BA 具有一定的指导意义,可作为临床诊断 BA 的辅助检查之一。

参考文献

- 1 Mack CL. The pathogenesis of biliary atresia: evidence for a virus-induced autoimmune disease [J]. *Semin Liver Dis*, 2007, 27(3):233-242. DOI: 10.1055/s-2007-985068.
- 2 Mack CL, Sokol RJ. Unraveling the pathogenesis and etiology of biliary atresia [J]. *Pediatr res*, 2005, 57(5):87R-94R. DOI:0031-3998/05/5705-0087R.
- 3 Fjær RB, Bruu A-L, Nordbø SA. Extrahepatic bile duct atresia and viral involvement [J]. *Pediatr Transplant*, 2005, 9(1):68-73. DOI: 10.1111/j.1399-3046.2005.00257.x.
- 4 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(3):281-283.
- 5 Xu Y, Yu JK, Zhang RZ, et al. The perinatal infection of cytomegalovirus is an important etiology for biliary atresia in China [J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 2012, 51(2):109-113. DOI: 10.1177/0009922811406264.
- 6 Rastogi A, Krishnani N, Yachha SK, et al. Histopathological features and accuracy for diagnosing biliary atresia by prelaparotomy liver biopsy in developing countries [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(1):97-102. DOI:10.1111/j.1440-1746.2008.05737.x.
- 7 Lee JY, Sullivan K, Demellawy D, et al. The value of pre-operative liver biopsy in the diagnosis of extrahepatic biliary atresia: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Pediatr Surg*, 2016, 51(5):753-761. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2016.02.016.
- 8 Mahjoub FE, Khairkhan RH, Sani MN, et al. CD 56 staining in liver biopsies does not help in differentiating extrahe-

patic biliary atresia from other causes of neonatal cholestasis [J]. *Diagnostic Pathology*, 2008, 3:10. DOI: 10.1186/1746-1596-3-10.

- 9 Chen G, Xue P, Zheng S, et al. A pathological scoring system in the diagnosis and judgment of prognosis of biliary atresia [J]. *J Pediatr Surg*, 2015, 50(12):2119-2123. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2015.08.041.
- 10 Lee WS, Looi LM. Usefulness of a scoring system in the interpretation of histology in neonatal cholestasis [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(42):5326-5333. DOI: /10.3748/wjg.15.5326.
- 11 中华肝脏病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效共识 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2002, 10(5):327-329. DOI: 10.3760/j.issn:1007-3418.2002.05.002.

Hepatic Fibrosis Study Group of Chinese Liver diseases Association. Consensus on evaluation of the diagnosis and efficacy of hepatic fibrosis [J]. *Chin J Hepatol*, 2002, 10(5):327-329. DOI: 10.3760/j.issn:1007-3418.2002.05.002.

- 12 董昆, 杨体泉, 董淳强, 等. 巨细胞病毒感染与胆道闭锁 Kasai 手术预后的关系 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2016, 15(1):23-25. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2016.01.007.

Dong K, Yang TQ, Dong CQ, et al. Relationship between cytomegalovirus infection and prognosis of biliary atresia after Kasai operation [J]. *J Clin Ped Sur*, 2016, 15(1):23-25. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2016.01.007.

- 13 Li MK, Crawford JM. The pathology of cholestasis [J]. *Semin Liver Dis*, 2004, 24(1):21-42.

(收稿日期:2017-01-01)

(本文编辑:王爱莲 仇 君)

本刊引文格式: 李英存, 张明满, 蒲从伦, 等. 胆道闭锁与婴儿肝炎综合征肝活检病理对比分析 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2017, 16(2):142-145. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2017.02.009.

Citing this article as: Li XC, Zhang MM, Pu CL, et al. Comparative analyses of differential liver histological features between biliary atresia and infantile hepatitis syndrome [J]. *J Clin Ped Sur*, 2017, 16(2):142-145. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2017.02.009.