

·述评·

胆道闭锁发病机制研究概述与启示

詹江华¹ 余晨²

胆道闭锁(biliary atresia, BA)是引起新生儿梗阻性黄疸的常见原因之一。肝内外胆管的进行性炎症阻塞及肝纤维化是制约BA患儿生存的关键因素。一直以来,BA的诊治是小儿外科医生面临的一大挑战。关于BA的病因、诊治及预后的探索与研究,世界各国的医生从来没有停止,但其发病机制仍然不完全清楚。20世纪中叶,关于胆道闭锁的治疗取得了突破性的进展,Morio kasai首次采用肝门空肠吻合术(Hepatic portoenterostomy)治疗Ⅲ型BA,完成了胆道闭锁从“不可治”到“可治”的飞跃,得到小儿外科医生的认可并被广泛采用。1963年,Thomas starzl教授成功完成第一例胆道闭锁肝移植手术,这是BA治疗的一项革命性进步,也使得BA患儿整体存活率由60%提高到90%以上^[1,2]。然而,与BA的治疗进展相比,BA的病因研究相对滞后,许多发现仍然没有明确,其发病机制、炎症免疫损伤、肝纤维化等问题的解决仍然是摆在研究者们面前的重要课题。

一、流行病学调查

流行病学调查对于疾病的研究至关重要,它为疾病的发病机制、影响因素及预防等提供了思路 and 方向。有调查发现,BA的发病有明显的地区和种族差异,亚裔地区包括日本(发病率为1.1/10 000)、中国台湾(发病率为1.5/10 000)^[3](中国大陆地区尚未见确切统计)等地的调查数据都表明其发病率高于欧美地区^[4](欧美地区发病率为0.58/10 000~0.85/10 000)。BA发病率的地区和种族差异提示其发病可能与遗传易感性有关,亦可能与地区经济和社会环境因素有关^[5]。基于地域和种族差异的原因,目前已有研究人员对BA患儿进行基因方面的探索,他们发现了多个与胆道闭锁发病相关的遗传易感基因,包括ADD3、VEGFA等^[6,7]。也有动物实验对研究结果进行验证,如何在基因水平上对BA的发病机制与诊治进行探索和调控是目前关注的热点问题。

在我国,按照上述报告中的亚洲发病率来估算,以国内每年1 600万新出生人口计算,我国每年BA新发病例为1 600~3 200例^[2]。显然,我国人口基数大,BA发病率高,这使我们有机会获得充足的第一手临床资料,从而对该病进行更加严谨完善的探索。在2018年9月举行的中华医学会第十四届全国小儿外科学术年会上,我们欣喜地发现大家把更多的目光聚焦在了胆道闭锁发病机制的研究上,基因突变、炎症反应、免疫应答、肝纤维化以及这些因素如何介导肝损伤、加速肝硬化,如何进行相应临床干预等成为大家探讨的热点话题。

二、遗传易感基因与BA

临床问题为BA的研究提供了重要的线索。但是只有在基础研究中,潜在的病因和发病机制才会变得清晰^[1]。临床发现同卵双胞胎中发生BA的情况极为罕见,且多数为单胎发病^[8];同卵双胞胎来自同一受精卵,有相同的子宫内环境以及相似的生活环境,而患病情况却不同,这对于该病研究具有重要意义^[9]。因此,同卵双胞胎中BA患儿的遗传学背景研究越来越受到人们的关注。依据现有研究发现,是否可以借助全外显子测序技术,通过多模型分析来探索双胎BA患儿发病的遗传易感基因,并在动物实验中加以验证,这可能是研究双胎胆道闭锁病因学较为可行的方向之一。

三、免疫应答与炎症反应

目前有很多实验研究利用RRV/CMV病毒感染小鼠制作动物模型,动物模型的建立证明病毒感染可能与BA的发生相关^[10,11]。病毒感染可激活由核因子介导的一系列炎症反应过程,同时释放出大量炎症介质,

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2018.11.001

基金项目:1. 国家自然科学基金项目(编号:81570471); 2. 天津市卫生行业重点攻关项目(编号:14KG129)

作者单位:1. 天津市儿童医院普外科(天津市,300134); 2. 天津医科大学研究生院(天津市,300070), Email:

zhanjianghuatj@163.com

介导肝细胞和胆管上皮细胞损伤,导致胆汁淤积等^[12,13]。有学者研究发现,在轮状病毒感染的动物模型中,随着感染病毒时间的延长,肝脏炎症因子 IFN- β 、IL-1 α 及 IL-6 的表达量增多^[10]。此外,免疫因子 IL-10、MCP-1 在 BA 患儿的血清中也呈现明显升高的趋势, HMGB1 蛋白高表达且与 GGT 水平呈正相关^[14]。这些炎症指标的发现为我们提示了影响 BA 病情进展的一些重要因素,有望成为临床诊断 BA 的重要指标,并为监测疾病的进展提供可靠依据。

炎症基因在 BA 患儿及小鼠模型中过度表达,是导致 BA 患儿胆管损伤的重要因素^[15,16]。对这些炎症基因进行相应的干预,是否会减缓胆管受损的严重程度呢?有学者研究发现,在利用 BA 小鼠模型进行炎症因子 NLRP3 介导胆管上皮损伤的实验中, NLRP3 的靶向敲除,可以使新生小鼠受保护,从而抵抗 RRV 诱导的胆管阻塞,减少胆管细胞的损伤^[17]。我们推测如果对该研究进行更深入的探索,有望为精准治疗 BA 提供新的靶点。

与此同时,过度的炎症反应也是影响 BA 患儿预后的重要因素。BA 患儿 CD4⁺T 淋巴细胞亚群浸润水平与预后明显相关,高浸润水平的 Th17 和 ICOS⁺Treg 与患儿的不良预后显著相关^[18],而 ICOS⁻Treg 细胞可以有效抑制 CD4⁺T 淋巴细胞分泌炎症因子,与预后的改善也密切相关。此外,BA 患儿自体肝生存时间与胆管反应程度密切相关,免疫组化实验中 CK7、CD56 及 EpCAM 蛋白可以用来表示胆管反应程度,是 BA 预后的相关指标,其表达量越少,自体肝生存时间越长。基于上述研究结果,在 Kasai 手术前对病毒和炎症施以控制,能否改善 BA 患儿 Kasai 手术的预后?值得临床深思,并且对于指导临床用药也具有重要价值。

四、肝纤维化研究

免疫、炎症损伤、促纤维化通路是导致胆道闭锁肝纤维化的三大重要因素^[19]。不同于其他肝脏疾病,胆道闭锁的肝纤维化进程迅速,有多条促肝纤维化通路,如 TGF- β /Smad、Rho/ROCK、MAPK 和 Notch 等参与了该过程^[20,21]。通过对 Notch 信号通路中相关蛋白 Notch-1、Jagged-1、Hes-1 在 BA 肝纤维化进程中的表达研究发现,上述3种蛋白的表达均高于对照组,且其表达量随肝纤维化程度加重而升高。这充分表明 Notch 信号通路元件在肝组织内异常活化,对胆道闭锁肝纤维化进展起到促进作用。此外,作为上述多种促纤维化通路的下游因子,如基质金属蛋白酶 MMP-7 的表达量在 BA 患儿 Kasai 手术后肝组织中呈高表达。这表明基质金属蛋白酶 MMP-7 可能参与胆道闭锁肝纤维化进程,提示术后自体肝生存状况可能不佳。有动物实验研究也发现, Akt1 基因可通过调控巨噬细胞极化状态来干预胆道闭锁小鼠肝纤维化, Akt1 基因的敲除可促进 M1 巨噬细胞表型活化,在一定程度上可改善小鼠肝纤维化。从上述研究方向来看,目前人们对于 BA 肝纤维化的研究,多集中在对促纤维化通路中的关键节点和相关因子表达量的研究,进而在动物模型中进行抑制实验。这为我们提供了多个可控制 BA 肝纤维化进展的重要靶点,使减轻或遏制 BA 患儿肝纤维化进程成为可能。

五、肝脏代谢与 BA

目前也有一部分研究关注肝脏代谢与 BA 的关系,研究表明肝脏的氧化损伤程度可明显影响 BA 的病情进展^[22]。因此,若在 BA 患儿 Kasai 手术后给予抗氧化治疗,对于缓解肝脏的炎症反应及肝纤维化进程将产生一定的作用。此外,肝脏脂质代谢水平的下降也是导致肝纤维化的另一个重要因素,通过对脂酰辅酶 A 合成酶 ACSL1 表达量的研究,人们发现脂酰辅酶 A 合成酶 ACSL1 下降,有可能引起游离脂肪酸不能活化,细胞能量降低,从而导致肝星形细胞激活并加重肝纤维化^[23]。肝脏代谢的研究从另一个角度为我们打开了 BA 发病机制研究的新方向,也为临床治疗开辟了新思路。

总之,就疾病而言,临床和基础研究同样重要。基础研究应从临床问题出发,凝练和解决临床问题。我们需要重视临床上可疑的因果关系,通过严谨的实验设计来探索可能存在的病理生理规律,为这些临床发现提供真实、可靠、准确的一线证据,这对于深入了解和认识疾病、提高疾病诊治效率和成功率以及改善预后都至关重要。胆道闭锁的研究从早期临床诊断的快慢和 Kasai 手术,到近年来日益被关注的基础研究,如炎症、免疫、肝纤维化等问题,反映了胆道闭锁发病机制研究的迫切性和必要性,对于其发病机制的研究将有助于预防 BA 的发生,进而从根源上解决这一难题。或许胆道闭锁的医学研究仍面临严峻的考验,但欣喜的是越来越多的基础研究为胆道闭锁的诊疗提供了新的思路,这无疑是胆道闭锁患儿的福音。我们期待有更多的研究人员投入到 BA 的临床和基础研究中来,以尽早解决这一医学难题。

参考文献

- 1 Bezerra JA, Wells RG, Mack CL, et al. Biliary Atresia: Clinical and Research Challenges for the 21st Century[J]. *Hepatology*, 2018, 31. DOI:10.1002/hep.29905.
- 2 詹江华,熊希倩.改善胆道闭锁生存状况,提高 Kasai 手术比率[J]. *中华小儿外科杂志*, 2017, 38(11):801-804. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2017.11.001.
Zhan JH, Xiong XQ. Improving the survival of biliary atresia and boosting the operative ratio of Kasai[J]. *Clin J Pediatr Surg*, 2017, 38(11):801-804. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2017.11.001.
- 3 Chiu CY, Chen PH, Chan CF, et al. Biliary atresia in preterm infants in Taiwan: a nationwide survey[J]. *J Pediatr*, 2013, 163(1):100-3. e1. DOI:10.1016/j.jpeds.2012.12.085.
- 4 Chardot C, Carton M, Spire-Bendelac N, et al. Epidemiology of biliary atresia in France: a national study 1986-96[J]. *J Hepatol*, 1999, 31(6):1006-1013.
- 5 卫园园,詹江华.胆道闭锁流行病学研究进展[J]. *天津医科大学学报*, 2017, 23(5):480-482. DOI:1006-8147(2017)05-0480-03.
Wei YY, Zhan JH. Review of epidemiology studies on biliary atresia[J]. *Journal of Tianjin Medical University*, 2017, 23(5):480-482. DOI:1006-8147(2017)05-0480-03.
- 6 Tsai EA, Grochowski CM, Loomes KM, et al. Replication of a GWAS signal in a Caucasian population implicates ADD3 in susceptibility to biliary atresia[J]. *Hum Genet*, 2014, 133(2):235-243. DOI:10.1007/s00439-013-1368-2.
- 7 Liu B, Wei J, Li M, et al. Association of common genetic variants in VEGFA with biliary atresia susceptibility in Northwestern Han Chinese[J]. *Gene*, 2017, 10;628:87-92. DOI:10.1016/j.gene.2017.07.027.
- 8 Chen Y, Zhan JH. Physical development and cognitive performance in a monozygotic twins for biliary atresia: Report of a case and literature reviewing[J]. *J Ped Surg Case Reports*, 2016, 11(C):9-13. DOI:10.1016/j.epsc.2016.05.007.
- 9 Fabre A, Roman C, Roquelaure B. Somatic mutation, a cause of biliary atresia: A hypothesis[J]. *Med Hypotheses*, 2017, 102:91-93. DOI:10.1016/j.mehy.2017.03.015.
- 10 Wu Y, Liu T, Yuan Y, et al. Gene expression profile of TLR7 signaling pathway in the liver of rhesus rotavirus-induced murine biliary atresia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(1):291-296. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.06.018.
- 11 Wen J, Xiao Y, Wang J, et al. Low doses of CMV induce autoimmune-mediated and inflammatory responses in bile duct epithelia of regulatory T cell-depleted neonatal mice[J]. *Laboratory Investigation*, 2015, 95(2):180-192. DOI:10.1038/labinvest.2014.148.
- 12 Lakshminarayanan B, Davenport M. Biliary atresia: A comprehensive review[J]. *J Autoimmun*, 2016, 73:1-9. DOI:10.1016/j.jaut.2016.06.005.
- 13 彭飞,段翔飞.胆道闭锁发病机制研究进展[J]. *临床小儿外科杂志*, 2015, 14(1):62-64. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.01.018.
Peng F, Duan XF. Advances in research on pathogenesis of biliary atresia[J]. *J Clin Ped Sur*, 2015, 14(1):62-64. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.01.018.
- 14 Ye CJ, Wang J, Yang YF, et al. Upregulation of High Mobility Group Box 1 May Contribute to the Pathogenesis of Biliary Atresia[J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2018, 17. DOI:10.1055/s-0038-1660447.
- 15 Taylor AE, Carey AN, Kudira R, et al. Interleukin 2 Promotes Hepatic Regulatory T Cell Responses and Protects From Biliary Fibrosis in Murine Sclerosing Cholangitis[J]. *Hepatology*, 2018, 68(5):1905-1921. DOI:10.1002/hep.30061.
- 16 Shimada T, Imaizumi T, Shirai K, et al. CCL5 is induced by TLR 3 signaling in HuCCT1 human biliary epithelial cells: possible involvement in the pathogenesis of biliary atresia[J]. *Biomed Res*, 2017, 38(5):269-276. DOI:10.2220/biomedres.38.269.
- 17 Yang L, Mizuochi T, Shivakumar P, et al. Regulation of epithelial injury and bile duct obstruction by NLRP3, IL-1R1 in experimental biliary atresia[J]. *J Hepatol*, 2018, 8(18):32123-32128. DOI:10.1016/j.jhep.2018.05.038.
- 18 Hill R, Quaglia A, Hussain M, et al. Th-17 cells infiltrate the liver in human biliary atresia and are related to surgical outcome[J]. *J Pediatr Surg*, 2015, 50(8):1297-1303. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2015.02.005.
- 19 丁美云,詹江华.胆道闭锁肝纤维化研究进展[J]. *天津医药*, 2015, 43(1):4-7. DOI:10.3969/j.issn.0253-9896.2015.01.002.

- Ding MY, Zhan JH. Advances in the research of liver fibrosis in biliary atresia[J]. Tianjin Med J, 2015, 43(1): 4-7. DOI: 10.3969/j. issn. 0253-9896. 2015. 01. 002.
- 20 张树建, 陈扬, 高婷, 等. RhoA、Rac1 及 Cdc42 在胆道闭锁肝纤维化中的作用[J]. 中华小儿外科杂志, 2017, 38(11): 816-821. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-3006. 2017. 11. 003.
- Zhang SJ, Chen Y, Gao T, et al. Effects of RhoA, Rac1 and Cdc42 on liver fibrosis in patients with biliary atresia[J]. Chin J Pediatr Surg, 2017, 38(11): 816-821. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-3006. 2017. 11. 003.
- 21 高婷, 詹江华, 陈扬, 等. JNK2、TIMP-1 及 Collagen III 在胆道闭锁肝纤维化中的作用研究[J]. 临床小儿外科杂志, 2017, 16(2): 127-132. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6353. 2017. 02. 006.
- Gao T, Zhan JH, Chen Y, et al. The effects of JNK2, TIMP-1 and Collagen III on liver fibrosis in patients with biliary atresia[J]. J Clin Ped Sur, 2017, 16(2): 127-132. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6353. 2017. 02. 006.
- 22 Zhao X, Lorent K, Wilkins BJ, et al. Glutathione antioxidant pathway activity and reserve determine toxicity and specificity of the biliary toxin bilitresone in zebrafish[J]. Hepatology, 2016, 64(3): 894-907. DOI: 10.1002/hep. 28603.
- 23 Yan G, Li B, Xin X, et al. MicroRNA-34a Promotes Hepatic Stellate Cell Activation via Targeting ACSL1 [J]. Med Sci Monit, 2015, 21: 3008-3015. DOI: 10.12659/MSM. 894000.

(收稿日期: 2018-08-20)

本文引用格式: 詹江华, 余晨. 胆道闭锁发病机制研究概述与启示[J]. 临床小儿外科杂志, 2018, 17(11): 801-804. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6353. 2018. 11. 001.

Citing this article as: Zhan JH, Yu C. An overview and enlightenment of the pathogenesis of biliary atresia[J]. J Clin Ped Sur, 2018, 17(11): 801-804. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6353. 2018. 11. 001.

论文写作中常用的四种统计图

1. 条形统计图: 是用一个单位长度表示一定的数量, 根据数量的多少画成长短不同的直条, 然后把这些直条按一定的顺序排列起来, 从条形统计图中很容易看出各种数量的多少。条形统计图一般简称条形图, 也可称长条图或直条图。条形统计图是用条形的长短来代表数量的大小, 便于比较。

2. 折线统计图: 是以折线的上升或下降来表示统计数量的增减变化的统计图。与条形统计图比较, 折线统计图不仅可以表示数量的多少, 而且可以反映同一事物在不同时间里发展变化的情况。折线图在生活中运用的非常普遍, 虽然它不直接给出精确的数据, 但只要掌握了一定的技巧, 熟练运用“坐标法”也可以很快地确定某个具体的数据。

3. 扇形统计图: 是用整个圆表示总数(单位“1”), 用圆内各个扇形的大小表示各部分数量占总数的百分之几。通过扇形统计图可以清楚地表示出各部分数量同总数之间的关系。

4. 直方图: 又称柱状图或质量分布图, 是一种统计报告图, 由一系列高度不等的纵向条纹或线段来表示数据分布情况。一般用横轴表示数据类型, 纵轴表示分布情况。在论文写作的过程中还常用于数据正态性分布检验过程。