



# 轮状病毒感染与胆道闭锁的相关性研究

王 江<sup>1,2</sup> 郑 珊<sup>1</sup> 卢丽娟<sup>1</sup> 董 瑞<sup>1</sup> 徐 锦<sup>1</sup>

**【摘要】 目的** 通过检测胆道闭锁患儿不同部位样本 A 组及 C 组轮状病毒 RNA 表达情况,探讨胆道闭锁发病与轮状病毒感染的相关性。**方法** 收集本院经手术确诊的胆道闭锁病例及经胆道探查证实非胆道闭锁病例的临床资料,术中采集组织样本,术晨留取粪便样本并采集空腹静脉血。两组样本均针对轮状病毒主要外壳蛋白抗原 VP4,VP6 和 VP7 设计引物,进行 PCR 扩增。**结果** 本研究共纳入 30 例胆道闭锁患儿和 8 例非胆道闭锁患儿(其中胆道发育不良 2 例,婴儿肝炎综合征 6 例)。两组手术日龄比较,  $(65 \pm 28) \text{ d}$  vs  $(56 \pm 18) \text{ d}$ ,  $P > 0.05$ ;肝功能检测比较:谷丙转氨酶  $(104 \pm 45) \text{ IU/L}$  vs  $(93 \pm 36) \text{ IU/L}$ ,  $P > 0.05$ ;谷草转氨酶  $(140 \pm 60) \mu\text{mol/L}$  vs  $(123 \pm 48) \mu\text{mol/L}$ ,  $P > 0.05$ ;总胆红素  $(156 \pm 40) \mu\text{mol/L}$  vs  $(142 \pm 58) \mu\text{mol/L}$ ,  $P > 0.05$ ;直接胆红素  $(102 \pm 26) \mu\text{mol/L}$  vs  $(91 \pm 35) \mu\text{mol/L}$ ,  $P > 0.05$ ;差异均无统计学意义。胆道闭锁组  $\gamma\text{-GT}$  表达水平明显高于非胆道闭锁组,  $(676 \pm 516) \text{ IU/L}$  vs  $(334 \pm 174) \text{ IU/L}$ ,  $P < 0.05$ 。PCR 扩增结果提示两组所有样本均未扩增出 A 组轮状病毒基因目的片段, C 组轮状病毒基因片段扩增亦阴性,两组均可检测到内参基因正常表达。**结论** 胆道闭锁与轮状病毒感染的相关性尚不明确,本组 Kasai 手术时并未发现轮状病毒存在的证据,仍需进一步扩大样本进行临床研究证实。

**【关键词】** 胆道闭锁; 轮状病毒感染; 聚合酶链反应

**Clinical preliminary discussion on the relationship between biliary atresia and rotavirus infection.** WANG Jiang, ZHENG Shan, LU Li-juan, et al. Department of Surgery, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China. Corresponding author: ZHENG Shan, E-mail: szheng@shmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the relationship between biliary atresia and rotavirus infection through detecting the rotavirus in different samples of children with biliary atresia. **Methods** Clinical data, including blood, fecal, and tissue samples, were collected from patients of the two groups in our hospital. The tissue sample was gotten by surgery, the fecal sample was collected at morning, and the plasma sample was venous blood collected on empty stomach at early morning. All samples were measured by PCR amplification. **Results** 30 cases with biliary atresia (Group A) and 8 cases without biliary atresia (Group C, including 2 cases with biliary dysplasia, 6 cases with infant hepatitis syndrome) were recruited in this study. Age at operation (days) show no significant difference between the groups  $(65 \text{ d} \pm 28 \text{ d}$  vs  $56 \text{ d} \pm 18 \text{ d}$ ,  $P > 0.05$ ), liver function: ALT  $(104 \text{ IU/L} \pm 45 \text{ IU/L}$  vs  $93 \text{ IU/L} \pm 36 \text{ IU/L}$ ,  $P > 0.05$ ), AST  $(140 \text{ IU/L} \pm 60 \text{ IU/L}$  vs  $123 \text{ IU/L} \pm 48 \text{ IU/L}$ ,  $P > 0.05$ ), TBIL  $(156 \mu\text{mol/L} \pm 40 \mu\text{mol/L}$  vs  $142 \mu\text{mol/L} \pm 58 \mu\text{mol/L}$ ,  $P > 0.05$ ), DBIL  $(102 \mu\text{mol/L} \pm 26 \mu\text{mol/L}$  vs  $91 \mu\text{mol/L} \pm 35 \mu\text{mol/L}$ ,  $P > 0.05$ ), show no significant difference between groups. However, gamma-GT expression level with biliary atresia group was obviously higher than that of non-biliary atresia group  $(676 \text{ IU/L} \pm 516 \text{ IU/L}$  vs  $334 \text{ IU/L} \pm 174 \text{ IU/L}$ ,  $P < 0.05$ ). The group A and group C rotavirus were negative in biliary atresia group; as well, the group A and group C rotavirus were negative in control group. Housekeeping gene can be detected in both groups. **Conclusions** The relationship between biliary atresia and rotavirus infection is still not clear, no evidence of rotaviral RNA was found in hepatobiliary samples after Kasai operation with BA, future clinical studies are needed to development the etiology of BA.

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2015.06.009

基金项目:1,国家临床医学重点专科项目,项目号 2014-2016; 2,上海市“非重中之重”临床医学中心项目,项目号 2014-2016; 3,上海市申康发展中心资助项目,项目号:SHDC12014106。

作者单位:1,复旦大学附属儿科医院外科(上海市,201102); 2,湖南省人民医院普外科(湖南省长沙市,410005),通讯作者:郑珊 E-mail:szheng@shmu.edu.cn

【Key words】 Biliary Atresia; Rotavirus Infections; Polymerase Chain Reaction

胆道闭锁(biliary atresia, BA)是一类以肝内外胆道进行性炎症和纤维性梗阻为主要特征的疾病。虽然肝外的胆道梗阻通过 Kasai 手术能够得到改善,但大多数患儿仍发生进行性肝内外胆管破坏和肝纤维化,最终发展至肝硬化和门脉高压而需要肝移植<sup>[1,2]</sup>。该病发病机制不明,目前主流观点认为,BA 可能由遗传易感、病毒感染、免疫损伤以及毒素侵袭等多因素所致<sup>[3-6]</sup>。3 型呼肠病毒、巨细胞病毒、人类疱疹病毒、人乳头瘤病毒等都曾被认为与 BA 相关<sup>[7-9]</sup>。但多项实验均运用特异性差的血清学检测方法,难以得出确定性结论,目前与 BA 有关的病毒病因学热点主要集中于轮状病毒(rotavirus, RV)上<sup>[10-12]</sup>。通过 RV 注射新生小鼠可以造成类似于人 BA 组织学表现的动物模型<sup>[13,14]</sup>。我国台湾地区接种 RV 疫苗可以降低 BA 发病率<sup>[15]</sup>。似乎从正反两方面说明了 RV 感染在 BA 发病中扮演“重要角色”<sup>[16]</sup>。通过 PCR 检测 BA 患儿组织标本中 RV 核酸表达的文献国内外报道较少,尚无定论。本研究通过 PCR 技术对我们收治的 BA 患儿血浆、肝脏、胆囊、肝门纤维块及粪便标本中 RV 的表达进行检测,探讨 BA 与 RV 感染之间的相关性。

材料与方法

一、研究材料

1. 研究对象:收集本院 2013 年 8 月至 11 月本院收住院的 BA 患儿及同期入院的对照组患儿临床样本。所有入组患儿均签署知情同意书。BA 组 30 例,术日晨留取粪便样本,术前取血浆标本,术中取肝脏、胆囊、肝门纤维块样本;对照组 8 例,其中胆总管囊肿 2 例,婴儿肝炎综合征 6 例,对照组留取血浆、粪便、肝脏样本。粪便标本于术日晨收集后半小时内送检;术前 EDTA 抗凝管采集患儿中心静脉全血 4 mL,静置半小时后 3 000 转离心 10 min 留取上清液, - 80 ℃ 保存;肝脏、胆囊、肝门标本离体后用生理盐水冲干净血液后放入含 RNAlater 的 EP 管,干冰运输转至 - 80 ℃ 冰箱。本研究涉及儿童样本的采集均得到患儿监护人的知情同意,并通过复旦大学附属儿科医院伦理委员会的批准。

2. 主要试剂:逆转录及 PCR 试剂盒购自日本 takara 公司, RNA later 及 Trizol 试剂购自英潍捷基(上海)贸易有限公司, RV A 及 RV C 的 VP4、VP6、

VP7 引物序列由上海铂尚生物技术有限公司设计与合成。

二、方法

1. RNA 提取和鉴定:采用 Trizol 法提取组织的总 RNA,通过异丙醇沉淀法浓缩 RNA,并进一步通过紫外分光光度计测定 RNA 浓度,进一步通过 RNA 凝胶电泳鉴定 RNA 完整性。

2. 引物序列:主要针对 RV 外壳结构蛋白基因 VP4、VP6、VP7 设计相应引物,PCR 引物设计如下:

表 1 RV A 的 VP7、VP4 编码基因的 PCR 检测寡核苷酸引物

primer	genotype	location	sequence (5' - 3')	product (bp)
9Con1	G ( + )	37 - 56	TAGCTCCTTTTAATGTATGG	
9Con2	G ( - )	922 - 941	GTATAAAAATACTTGCCACCA	905
9T1	G1 ( - )	176 - 195	TCTTGTCAAAGCAAATAATG	159
9T2	G2 ( - )	262 - 281	GTTAGAAATGATTGTCCACT	245
9T3	G3 ( - )	484 - 503	GTCCAGTTGCAGTGTTAGC	467
9T4	G4 ( - )	423 - 440	GGGTCGATGGAAAATTCT	404
9T9B	G9 ( - )	131 - 147	TATAAAGTCCATTGCAC	111
4Con2	P ( - )	868 - 887	ATTTCCGGACCATTTTATAACC	
4Con3	P ( + )	11 - 32	TGGCTTCGCCATTTTATAGACA	877
1T1	P[8] ( - )	339 - 356	TCTACTTGGATAACGTGC	346
2T1	P[4] ( - )	474 - 494	CTATTGTTAGAGTTAGAGTC	484
3T1	P[6] ( - )	259 - 278	TGTTGATTAGTTGGATTCAA	268
4T1	P[9] ( - )	385 - 402	TGAGACATGCAATTGGAC	392
5T1	P[10] ( - )	575 - 594	ATCATAGTTAGTAGTCGG	584

注: genotype 一栏中( + )代表上游引物, ( - )代表下游引物; G1, G2 等代表 RV A G 型中不同基因型别的引物; P[8]、P[4] 等代表 RV A P 型中不同基因型别的引物。

3. RVA 的 G、P 基因型的多重 PCR 扩增及 RV C 的 PCR 扩增

各取 4 μL 的 RN A 分别用于 VP4、VP6 和 VP7 基因长片段的一步法 RT-PCR 反应。反应体系: 引物各 0.5 μL, DEPC 水 6.5 μL, RT-PCR 一步法反应液 12.5 μL, 酶混合物 1.0 μL, 总体积 25 μL。反应条件: RNA 和引物混合, 97 ℃ 5 min, 立即置冰上, 加入其他反应物, 42 ℃ 1 h, 95 ℃ 2 min; 94 ℃ 30 s, 42 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 30 次循环。RV A 取 G (或 P) 分型的第 1 次 PCR 产物 2 μL, 9con1 (或 con3) 作为共同引物, 其余 G (或 P) 分型的多条引物同时加入一个反应管中, 反应体系: 引物 0.5 μL, 三磷酸脱氧核糖核苷(dNTP) 4 μL, 10 × 缓冲液 5 μL, Taq 酶 2.5 U, 总体积 50 μL。反应条件: 94 ℃ 2 min; 94 ℃ 30 s, 44 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 30 次循环; 72 ℃ 7

表 2 RV C 的 VP4、VP6 和 VP7 编码基因的 PCR 检测寡核苷酸引物

primer	location	sequence (5' - 3')	product (bp)
VP4 - 1F	1 - 25	GGCTTAAAAAGTAGAGATCGATGGC	650
VP4 - 1R	650 - 625	ACCAGGATTACTTCTTGGAACCTCG	
VP4 - 2F	460 - 484	TATTTTGGAAACGAGGGATCTACAC	669
VP4 - 2R	1128 - 1102	TTTCTGAATCATCCCAATAATCAATA	
VP4 - 3F	961 - 987	CATACACTAGAGCAGGAGAAAATGTT	666
VP4 - 3R	1626 - 1601	GTGACATAGCGAGGGAAAGTATATC	
VP4 - 4F	1430 - 1454	CGGTCATGTAGCTAATACAGTTGG	854
VP4 - 4R	2283 - 2258	AGCCACATTATTGAGATCTCATCAC	
VP6 - 1F	1 - 26	GGCATTTAAAATCTCATTCACAATGG	684
VP6 - 1R	684 - 659	ACGTTTGATATGGGTCTTTTTAGTC	
VP6 - 2F	514 - 537	TATTTTACAACGCGCAATCCAC	840
VP6 - 2R	1353 - 1328	AGCCACATAGTTCACATTTTCATCCT	
VP7 - 1F	1 - 25	GGCATTTAAAAAAGAAGAAGCTGTC	621
VP7 - 1R	621 - 597	TGCAGCCCATAAATTGTTTATTC	
VP7 - 2F	456 - 482	AGAAATGACATGCTCTTACAACATAG	608
VP7 - 2R	1063 - 1040	AGCCACATGATCTTGTTFACGCA	
actin - F	340 - 362	TGGCACCCACACCTTCTACAATG	166
actin-R	505 - 483	ATAGCACAGCCTGGATAGCAAC	

min。根据电泳条带的长度确定 RV 的型别。RV C 扩增取 VP4、VP6 和 VP7 共 8 对引物,选  $\beta$ -actin 做为内参基因对照。

三、统计学处理

正态分布的连续变量之间均数的比较采用 Student's *t* 检验或者 ANOVA 方差分析。非正态分布的连续变量之间的比较采用 Mann - Whitney U 检验。分类数据的比较采用卡方检验。统计分析采用 SPSS 统计软件 19.0 版。*P* < 0.05 判定为差异具有统计学意义。

结 果

一、一般资料

本研究共纳入 30 例 BA 患儿和 8 例非 BA 患儿(其中胆道发育不良 2 例,婴儿肝炎综合征 6 例)。BA 组男性 18 例,女性 12 例。非 BA 组男性 3 例,女性 5 例。两组手术日龄、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、直接胆红素比较,差异均无统计学意义(*P* > 0.05),BA 组  $\gamma$ -GT 表达水平明显高于非 BA 组,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 3。

表 3 两组患儿一般资料比较

组别	手术日龄(d)	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	DBIL( $\mu$ mol/L)	GGT(IU/L)
BA 组	65 $\pm$ 28	104 $\pm$ 45	140 $\pm$ 60	156 $\pm$ 40	102 $\pm$ 26	676 $\pm$ 516
非 BA 组	56 $\pm$ 18	93 $\pm$ 36	123 $\pm$ 48	142 $\pm$ 58	91 $\pm$ 35	334 $\pm$ 174
<i>t</i> 值	1. 103	0. 726	0. 842	0. 643	0. 830	3. 040
<i>P</i> 值	0. 135	0. 234	0. 200	0. 260	0. 203	0. 001 *

注: ALT(谷丙转氨酶),AST(谷草转氨酶),DBIL(直接胆红素),TBIL(总胆红素),GGT( $\gamma$ -谷氨酰转氨酶);\* 代表 BA 组 GGT 水平明显高于非 BA 组,差异有显著统计学意义。

二、RV A 组 G、P 基因型多重 PCR 扩增结果

BA 组纳入 30 例患者共 128 份样本(肝脏 30 份,血浆 28 份,粪便 22 份,胆囊 25 份,肝门纤维块 23 份),针对不同的 G、P 型设计引物进行巢氏 PCR,结果各组样本均未检测出 RV A 组 G 型、P 型;非 BA 组纳入 8 例患者共 24 例样本(肝脏、血浆、大便各 8 份),各组样本也未检测出 RV A 组 G 型、P 型(图 1,图 2)。

三、RV C 组 PCR 扩增结果

BA 组及非 BA 组所有样本均针对 RV C 组外壳蛋白 VP4、VP6、VP7 基因设计的对应引物进行 PCR 扩增,两组所有样本均未扩增出 RV C 组 VP4、VP6、VP7 基因片段,可扩增出内参基因(图 3)。

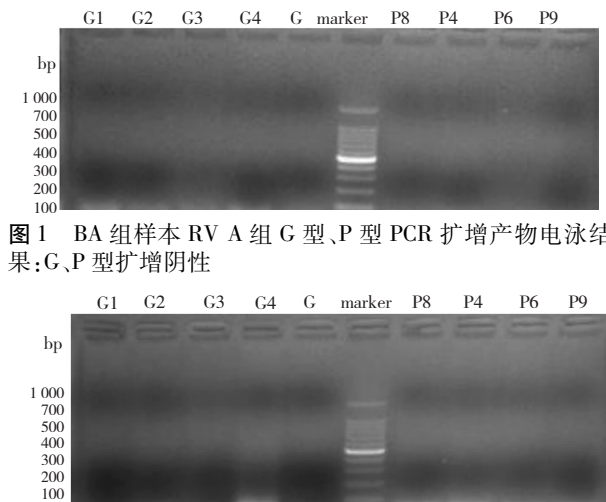


图 1 BA 组样本 RV A 组 G 型、P 型 PCR 扩增产物电泳结果:G、P 型扩增阴性

图 2 非 BA 组样本 RV A 组 G 型、P 型 PCR 扩增产物电泳结果:G、P 型扩增阴性

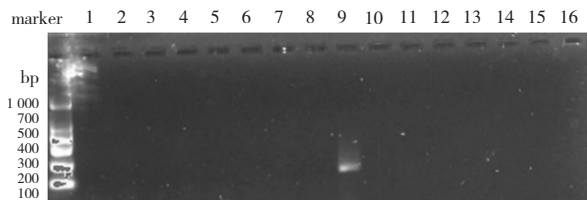


图3 BA组与非BA组样本RV C组VP4、VP6、VP7基因PCR扩增产物电泳结果:两组所有样本扩增均阴性,内参基因正常扩增。1-8分别对应BA组VP4-1、VP4-2、VP4-3、VP4-4、VP6-1、VP6-2、VP7-1、VP7-2引物扩增;9对应 $\beta$ -actin扩增;10-16分别对应非BA组VP4-1、VP4-2、VP4-3、VP6-1、VP6-2、VP7-1、VP7-2引物扩增。

## 讨论

RV是世界范围内引起婴幼儿急性肠胃炎和腹泻的主要因素,秋冬季易流行。RV是一种肠道双链RNA病毒,二十面体结构,在内质网腔中组装,直径70 nm,属呼肠孤病毒科,无包膜,对外界环境有较强的抵抗力。RV分A~G组,感染人的RV主要有A、B、C三组。RV A主要感染婴幼儿,RV B主要感染成人,RV C较少见,成人或婴幼儿均有可能感染<sup>[17-19]</sup>。轮状病毒已被证明可以感染肝细胞和胆道上皮细胞<sup>[20]</sup>。BA动物实验已证实病毒感染可以导致无症状性BA。当生后24 h内的小鼠接种了RV菌株,可以导致小鼠发生黄疸及肝脏发生类似于BA的组织学改变,通过RV感染可以成功构建BA动物模型,这些研究提示BA的发生很可能与RV感染有关<sup>[21,22]</sup>。本研究通过PCR技术检测BA患儿的不同部位样本(血浆、粪便、肝脏、胆囊、肝门部纤维块)RV A及RV C的RNA表达情况,结果表明在所有样本中A组及C组RV均扩增阴性,对照组也无一例阳性。本研究较既往研究有更深入之处:选择的BA标本覆盖范围尽可能大,避免RV只存在于特定组织样本而出现假阴性结果;同时纳入的BA患儿手术日龄范围覆盖广,最小28 d,最大136 d,也在一定程度上反映在BA发病的不同阶段均未发现RV检测阳性结果。

Riepenhoff<sup>[23]</sup>首次在BA患儿中对RV外壳蛋白的基因5和基因6进行PCR扩增,该研究纳入30例患儿,其中20例BA或胆总管囊肿患儿,12例为对照组。作者对BA患儿及对照组的肝脏、胆总管及大便等样本进行A组RV检测,结果均为阴性;对C组RV进行PCR扩增,20例BA患儿中10例阳性,对照组均呈阴性( $P < 0.003$ )。作者最后认为该组10例BA患儿的发病可能与C组RV感染存在一

定关联。本研究与Riepenhoff的研究结果不一致,可能是由于该组病例当时所处特定季节和地区的关系,且有相关研究表明人C组RV呈暴发流行趋势<sup>[24,25]</sup>。近年C组RV阳性病例检出率极低,武汉疾控中心的一组大样本流行病学研究结果显示,2000年12月至2007年2月检出的C组RV阳性病例仅为6/4362,其中仅1例为婴幼儿。5例发生在2006年12月至2007年2月,表明RV感染呈明显季节性,有暴发流行趋势,而BA发病并无明显季节相关<sup>[17]</sup>。

随后的一项研究得出与Riepenhoff相反的结论,Bobo<sup>[26]</sup>等在10例BA患儿和14例对照组患儿肝组织标本中通过PCR技术对RV进行检测,两组均未检测出A组及C组RV,而两组所有样本均可检测出内参基因,因此作者认为RV感染可能不是导致BA发生的一个共同原因。本组30例BA患儿并未检测到RV感染的证据,与该研究结果一致。但本研究也存在一定局限性与不足:①样本量偏少,本研究初始设计时曾考虑如检测出阳性样本,将扩大足够样本数并按年龄分组对BA患儿与RV感染进行深入探讨,但38例152份样本检测结果均为阴性;②本组病例标本采集时间段集中在2013年8月至2013年12月,虽在病毒感染的高发季节,但也存在时间覆盖范围过短的不足;③由于缺少合适的RV病毒株做为阳性对照组,以及病毒感染可能在BA早期发生,但晚期被机体清除,本组以Kasai手术作为时间节点,可能存在选择时间偏晚因素,导致实验缺乏足够的说服力,但本研究仍为BA与RV感染临床研究最直接的证据,我们在BA患儿Kasai手术时不同部位采样,并未发现RV存在的证据。

RV感染虽然一直以来被认为是导致BA发病的重要诱发因素,但目前仍然缺乏有足够说服力的证据证实<sup>[27]</sup>。Hertel<sup>[28]</sup>等综述以前的研究认为并不能证实BA和RV感染之间的关系,因为大部分都是基于动物模型的研究;作者还提出在低于2月龄患儿血清中检测RV特异性IgA以及使用高通量的测序方法来寻找RV相关抗原或者病毒基因组可能是新的研究方向<sup>[27]</sup>。目前较为成熟的BA动物模型毕竟与人类BA病程转归不一致,本课题组前期在建立BA动物模型的实验中曾发现RV感染后可导致小鼠发生梗阻性黄疸,但有约25%左右小鼠在两周以后黄疸逐渐消退并恢复正常,其具体机制仍有待进一步研究。近年来BA的研究热点开始转向遗传易感基因、免疫炎症及肝纤维化形成机制等方

面,而对于这些机制的深入探讨有可能在另一个侧面证实有否与 RV 感染相关的毒素抗原或者免疫介质参与其中。总之,胆道闭锁与轮状病毒感染的关系仍不明确,本组病例行 Kasai 手术时并未发现轮状病毒存在的证据,仍需进一步大样本的临床研究证实。

## 参考文献

- Petersen C, Davenport M. Aetiology of biliary atresia: what is actually known? [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2013, 8: 128.
- 郑珊. 胆道闭锁的规范化诊断和治疗进展[J]. *临床小儿外科杂志*, 2012, 11(4): 241-243.
- Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia [J]. *Lancet*, 2009, 374(9702): 1704-1713.
- Lampela H, Pakarinen M. Biliary atresia [J]. *Duodecim*, 2013, 129(14): 1485-1493.
- Baumann U, Ure B. Biliary atresia [J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2012, 36(3): 257-259.
- Mieli-Vergani G, Vergani D. Biliary atresia [J]. *Seminars in Immunopathology*, 2009, 31(3): 371-381.
- Shen C, Zheng S, Wang W, et al. Relationship between prognosis of biliary atresia and infection of cytomegalovirus [J]. *World J Pediatr*, 2008, 4(2): 123-126.
- Szavay PO, Leonhardt J, Czech-Schmidt G, et al. The role of reovirus type 3 infection in an established murine model for biliary atresia [J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2002, 12(4): 248-250.
- Domati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR, et al. Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonatal giant cell hepatitis and extrahepatic biliary atresia [J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2000, 3(4): 367-373.
- Mohanty SK, Donnelly B, Bondoc A, et al. Rotavirus replication in the cholangiocyte mediates the temporal dependence of murine biliary atresia [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69069.
- von Sochaczewski CO, Pintelon I, Brouns I, et al. Rotavirus particles in the extrahepatic bile duct in experimental biliary atresia [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2014, 49(4): 520-524.
- 冯杰雄. 病毒感染与胆道闭锁的关系[J]. *实用儿科临床杂志*, 2007, 22(23): 1761-1763.
- Allen SR, Jafri M, Donnelly B, et al. Effect of rotavirus strain on the murine model of biliary atresia [J]. *J Virol*, 2007, 81(4): 1671-1679.
- Petersen C, Biermanns D, Kuske M, et al. New aspects in a

- murine model for extrahepatic biliary atresia [J]. *J Pediatr Surg*, 1997, 32(8): 1190-1195.
- Lin YC, Chang MH, Liao SF, et al. Decreasing rate of biliary atresia in Taiwan: a survey, 2004-2009 [J]. *Pediatrics*, 2011, 128(3): e530-e536.
- Hertel PM, Estes MK. Rotavirus and biliary atresia: can causation be proven? [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012, 28(1): 10-17.
- 王远虹, 周璇, 林宣道, 等. C 组轮状病毒主要基因全片段扩增及武汉地方株 Wu82 的 VP6 和 VP7 编码基因序列分析 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2007, 12: 1167-1171.
- Desselberger U. Rotaviruses [J]. *Virus Res*, 2014, 190C: 75-96.
- Parashar UD, Nelson EA, Kang G. Diagnosis, management, and prevention of rotavirus gastroenteritis in children [J]. *BMJ*, 2013, 347: f7204.
- Mack CL. The pathogenesis of biliary atresia: evidence for a virus-induced autoimmune disease [J]. *Semin Liver Dis*, 2007, 27(3): 233-242.
- Allen SR, Jafri M, Donnelly B, et al. Effect of rotavirus strain on the murine model of biliary atresia [J]. *J Virol*, 2007, 81(4): 1671-1679.
- Riepenhoff-Talty M, Schaekel K, Clark HF, et al. Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice [J]. *Pediatr Res*, 1993, 33(4 Pt 1): 394-399.
- Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ, et al. Detection of group C rotavirus in infants with extrahepatic biliary atresia [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 1996, 174(1): 8-15.
- Kumazaki M, Usuku S. Epidemiological and genetic analysis of human group C rotaviruses isolated from outbreaks of acute gastroenteritis in Yokohama, Japan, between 2006 and 2012 [J]. *Arch Virol*, 2014, 159(4): 761-771.
- Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, et al. Global causes of diarrheal disease mortality in children < 5 years of age: a systematic review [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e72788.
- Bobo L, Ojeh C, Chiu D, et al. Lack of evidence for rotavirus by polymerase chain reaction/enzyme immunoassay of hepatobiliary samples from children with biliary atresia [J]. *Pediatric research*, 1997, 41(2): 229-234.
- 彭飞, 段栩飞. 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.
- Hertel PM, Estes MK. Rotavirus and biliary atresia: can causation be proven? [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012, 28(1): 10-17.

(收稿日期: 2014-09-29)