

胆道闭锁患者肝门的病理解剖学研究

刘丹丹¹ 詹江华² 高 伟³ 宋亭亭² 张 辉²

【摘要】 目的 通过解剖胆道闭锁患者肝脏肝门组织,探讨 Kasai 术后肝门改变与肝内病理改变的差异,为改进 Kasai 手术提供理论依据。**方法** 收集 Kasai 术后因胆汁淤积性肝硬化而行肝移植的胆道闭锁患儿 13 例,将其中术后胆汁引流情况较差者作为引流不良组,切取肝门及肝内组织。收集 3 例 Kasai 术后因肝门部囊肿,反复发作胆管炎而行肝移植的胆道闭锁患儿,3 例术后胆汁引流较好,为引流良好组,自吻合口开始,沿左右肝管分别间隔 1 cm 连续取材。**结果** 引流不良组:肝内病理改变以纤维化加重、胆管增生及血管增生为主,增生胆管直径较小,肝门淤胆程度较肝内相对重。引流良好组:靠近肝门部位胆管增生较肝内轻,并以大胆管为主。肝左叶胆管直径较大(最大 750 μm),具有引流功能;肝右叶胆管增生明显,胆管直径较小(最大 390 μm)。**结论** Kasai 术后胆汁引流较好的病例均呈现左叶胆管直径较大,可能提示解剖肝门广度需要增加。

【关键词】 胆道闭锁;病理状态,解剖学

Pathological study on porta hepatis in biliary atresia (BA). LIU Dan-dan, ZHAN Jiang-hua, GAO Wei, et al. Tianjin medical university graduate school, Tianjin 300070, China, E-mail: zhanjianghuatj@163. com

【Abstract】 Objective To explore the differences between the hepatic hilar change and the pathological changes of liver after Kasai portoenterostomy through the anatomy of hepatic hilar region with BA, and to provide theoretical basis for improving Kasai operation. **Methods** The patients were collected and grouped. The first group (the poor drainage group) includes those with poor biliary drainage among 13 cases with BA who received liver transplant surgery due to Cholestatic cirrhosis after Kasai portoenterostomy. Take biopsy from their porta hepatis and liver tissue. The second group (the good drainage group) includes 3 cases with BA who received liver transplant surgery due to recurring cholangitis caused by cyst in hepatic hilar region. Take biopsy from 1cm to hepatic duct in both sides. **Results** Poor drainage group: intrahepatic pathological changes were primarily found in liver fibrosis, bile duct proliferation, and vascular proliferation. The bile duct's diameter is relatively small, and the hepatic cholestasis is more severe than the introhepatic one. Good drainage group: bile duct hyperplasia is mainly large ones and it's more severe near the porta hepatis than in the liver. The bile duct in the left lobe of liver has big diameter (maximum of 750 μm) and the function of drainage; while those in the right lobe of liver has small diameter (maximum of 390 μm), and the bile duct hyperplasia is obvious. **Conclusion** All the cases with better biliary drainage after kasai portoenterostomy were found bigger bile ducts in the left lobe of liver, which may indicate that dissection should be made to wider area in the hepatic hilar region.

【Key words】 Biliary Atresia; Pathological Conditions, Anatomical

胆道闭锁(Biliary Atresia, BA)是一种以肝内和肝外胆管进行性炎症与纤维性梗阻为特征,最终导致胆汁淤积性肝硬化的疾病。BA 在全球发病率约 1:9 000 ~ 12 000^[1]。自日本学者葛西提出肝门空

肠吻合术(即 Kasai 术)以来,过去“不可矫治型”BA 患儿获得了生存希望。但长期临床随访观察发现,术后远期疗效不理想,即使术中顺利解剖肝门部位,患儿仍出现进行性肝内胆管破坏,胆汁淤积。BA 一般采用日本小儿外科协会分型, Riccardo^[2] 依据闭锁部位与肝门的关系,将其进一步分为不同类型,可见肝门结构在 BA 术后的恢复过程中有重要意义。董淳强^[3] 等也发现术后肝门部位胆汁引流良好,肝纤维化程度较轻有利于减少 BA 术后早期胆

管炎的发生。由于手术干预及术后并发症的影响,术后肝脏发生不同程度改变,影响肝内胆汁引流。本研究通过解剖 BA 患儿肝门组织,探讨 Kasai 术后肝门改变与肝内病理改变的差异,为改进 Kasai 手术提供理论依据。

材料与方法

一、临床资料

收集某医院 2012 年 1 月至 2013 年 1 月 Kasai 手术诊断为 BA III 型,术后因胆汁淤积性肝硬化而行肝移植的患儿 13 例,其中男 9 例,女 4 例。肝移植年龄为 9 个月至 67 个月。此组患儿为 BA 晚期,术后胆汁引流情况较差,设为引流不良组,分别切取肝门及肝内组织,并进行病理组织学分析。

收集 3 例 Kasai 术后进行肝移植的 BA 患儿,术后胆汁引流较好,胆红素升高不明显,由于术后肝门囊肿,反复出现发热、胆管炎而行肝移植。肝移植年龄为 12 个月至 42 个月,设为引流良好组。切取肝门组织约 5 cm × 4 cm × 3 cm 大小,自吻合口开始,沿左右肝管分别间隔 1 cm 连续取材,标本共计 9 块;分别标记为:吻合口,右 0,右 1,右 2,右 3;左 0,左 1,左 2,左 3,如图 1 所示。本研究经过医院伦理委员会同意。

二、指标与分级

将组织石蜡包埋并切片,行 HE、CK19、CD34 免疫组化染色。观察指标包括肝脏纤维化、炎症、胆管增生、胆栓及血管增生程度。引流良好组进一步计算胆管数量、开放胆管管腔及大胆管平均直径等。

肝脏纤维化分级(Ohkuma's 分级):0 级,无纤维化;1 级,汇管区纤维化;2 级,伸向邻近汇管区的轻度桥接纤维化;3 级,伸向邻近汇管区的重度桥接纤维化;4 级,假小叶形成,肝硬化。

炎症分级:在高倍视野下观察汇管区细胞核总数(T)及炎症细胞数目(N),计算分级(I) = N/T × 100%。炎症浸润程度 1 级, I < 25%; 2 级, 25% ≤ I < 50%; 3 级, 50% ≤ I < 75%; 4 级, I ≥ 75%。

胆管增生分级^[4]:0 级,无增生的胆小管;1 级,汇管区少量增生的胆小管;2 级,汇管区较多增生的胆小管,轻度伸向小叶间;3 级,汇管区较多增生的胆小管,明显伸向小叶间;4 级,增生的胆小管包绕肝小叶。

胆栓分级^[3]:1 级,汇管区无胆栓;2 级,部分汇管区一个或多个小胆管胆栓;3 级,每个汇管区的几

个小胆管存在胆栓;4 级,几乎所有的汇管区小胆管存在胆栓。

血管增生分级:每例切片分别选择同时包含部分汇管区及肝小叶界板结构的 3 个高倍视野,根据 CD34 标记平均单个高倍视野下管腔结构数目记为 v,血管增生 1 级: v ≤ 3; 2 级: 3 < v ≤ 6; 3 级: 6 < v ≤ 9; 4 级: v > 9。

胆管数量:在同一高倍镜下随机选取 10 个视野,计数每个视野下胆管数量,并计算 10 个视野的平均值,以此代表平均胆管数量。

开放胆管管腔数量:在同一高倍镜下随机选取 10 个视野,计数每个视野下开放胆管管腔数量,并计算 10 个视野的平均值。

大胆管平均直径:肝脏标本 CK19 免疫组化染色,光镜下留取不同汇管区大胆管 10 个,Image-Pro Plus 5.0 图像分析软件分析,计算每个大胆管最大直径,取其平均值作为大胆管平均直径。

三、统计学方法

采用 SPSS15.0 软件对所得数据进行统计分析,应用 Pearson 相关系数法分析肝门胆管数量与胆管直径及开放胆管管腔之间的相关性。

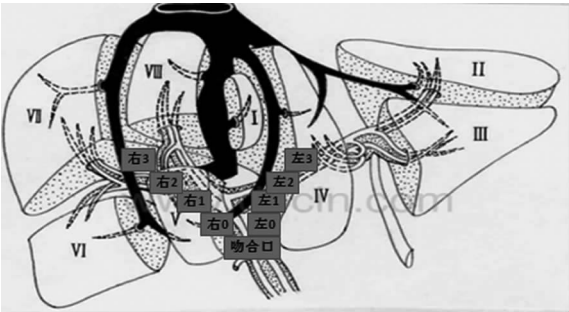


图 1 肝门解剖取材示意图

Fig. 1 Schematic diagram of porta hepatis anatomy

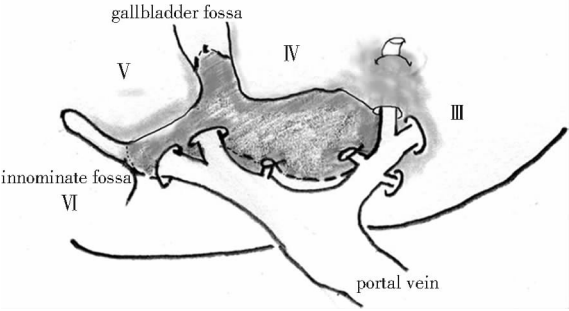


图 2 肝门部位切除近端残余胆管:左侧至脐静脉和左门静脉交叉处,右侧至前、后右门静脉分支

Fig. 2 Removal the proximal residual bile duct of porta hepatis: on the left to the intersection of umbilical vein and the left portal vein, the right to the right portal vein branch

结 果

一、引流不良组肝内组织病理学改变

肝内纤维化程度严重,均为 4 级;炎细胞浸润较轻,13 例中,3 例(23%)可见较多炎症浸润灶;汇管区胆管增生程度较重,部分可见少量开放管腔,增生胆管直径较小,其中 4 例(31%)假小叶逐渐消失,胆管增生不明显;汇管区胆管淤胆较轻,2 例(15%)淤胆较重,3 例(23%)可见小的胆汁湖存在;血管增生均较重,尤其是胆管明显增生区域(图 C ~ D)。

二、引流不良组肝门病理组织学改变

肝门纤维化与血管增生程度均为 4 级,汇管区可见较多孤立假小叶;肝门炎症浸润 4 例(31%)较重;胆管增生程度 3 例(23%)较轻,其余 10 例(77%)增生均较重;肝门淤胆 4 例(31%)较重,2 例(15%)可见胆汁湖。

三、引流良好组肝脏组织病理学改变

患儿术后胆汁引流较好,左叶胆管扩张,靠近肝门部位胆管增生较肝内轻,可见较多大的胆汁湖(图 E ~ H)。从吻合口逐渐向肝内解剖发现:肝左叶炎症及胆栓程度逐渐减轻,胆管直径较大(最大

750 μm);肝右叶各部位炎症及胆栓程度无明显区别,胆管增生明显,开放胆管管腔较多,胆管直径较小(最大 390 μm)。

四、引流良好组患儿胆管数量与胆管直径及开放胆管管腔的关系

胆管数量与胆管直径呈负相关($r = -0.873, P < 0.05$);胆管数量虽与开放管腔不相关($r = -0.428, P < 0.05$),但在一定程度上,胆管增生越重,开放管腔数量越少(表 1)。

表 1 肝门胆管数量与胆管直径及开放胆管管腔的关系

相关关系	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
胆管数量与直径	-0.873 *	<0.05
胆管数量与开放管腔	-0.428	<0.05

注: * 表示在 $P < 0.05$ 水平,相关性显著。

五、引流不良组与引流良好组肝脏的病理改变

13 例引流不良患儿与 3 例引流良好患儿肝脏病理情况比较,引流良好组患儿肝门部位炎症(图 A ~ B)及胆管增生较引流不良组严重,胆管直径较大,开放管腔较多,可见较多大的胆汁湖(表 2)。

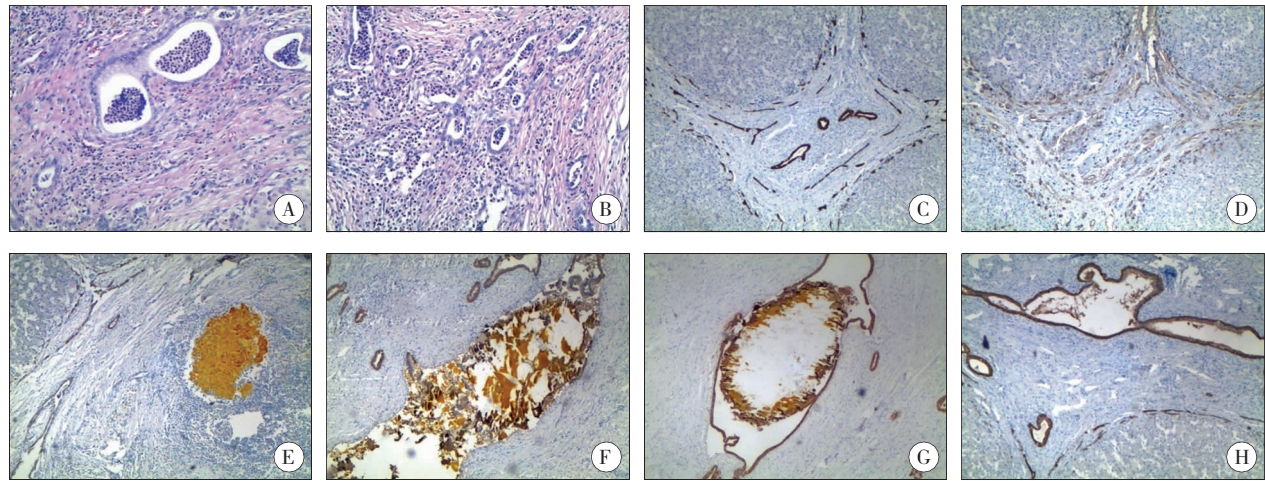


图 A ~ B 汇管区较多炎性细胞浸润,大小胆管管腔均可见炎细胞(HE,10 × 10)。图 C 汇管区中央管腔开放,肝周毛细胆管增生,逐渐侵入肝小叶,增生的胆管闭塞(CK19,胆管特异性染色,4 × 10)。图 D 汇管区血管大量增生,血管管腔闭塞(CD34,血管特异性染色,4 × 10)。图 E 汇管区可见较大胆栓,胆栓周围未见胆管上皮,附近大量炎细胞浸润(CK19,4 × 10)。图 F 汇管区大胆汁湖,胆汁湖周围胆管上皮损伤,排列紊乱(CK19,4 × 10)。图 G ~ H 两图均为胆管纵切面,可见扩张胆管两端不同程度闭塞,图 G 淤积的胆汁形成胆汁湖(CK19,4 × 10)。

Fig. A ~ B Portal area inflammatory cell infiltration, regardless of the size of bile duct are visible inflammatory cells (HE, 10 × 10). **Fig. C** In the center of portal area the bile duct open, lobular around capillary bile duct hyperplasia, gradually invasive lobular, proliferation of bile duct occlusion (CK19, bile duct specific staining, 4 × 10). **Fig. D** Portal area vascular hyperplasia, lumen occlusion (CD34, vascular - specific staining, 4 × 10). **Fig. E** Portal area bold bolt, around bolt no bile duct epithelium but a large number of inflammatory cell infiltration (CK19, 4 × 10). **Fig. F** Portal area large bile lake, surrounding with damage bile duct epithelial, disorganized (CK19, 4 × 10). **Fig. G ~ H** Both are bile duct longitudinal section, on both ends of the dilatation bile duct with varying degrees of occlusion, Figure G Deposition of bile to form bile lake (CK19, 4 × 10).

表 2 引流良好组与引流不良组患儿肝脏病理比较(例)

Table 2 Comparison with good drainage and poor drainage with liver pathology (n)

分组	纤维化	炎症	胆管增生	胆栓	血管	胆管直径(μm)	胆汁湖
引流不良组肝内改变	4(100%)	1 级(38%)	2 级(31%)	1 级(31%)	3 级(23%) 4 级(77%)	<150	3/13,较小
		2 级(38%)	3 级(38%)	2 级(54%)			
		3 级(24%)	4 级(31%)	3 级(15%)			
引流不良组肝门改变	4(100%)	1 级(38%)	2 级(23%)	1 级(23%)	3 级(31%) 4 级(69%)	<150	2/13,较小
		2 级(31%)		2 级(46%)			
		3 级(23%)		3 级(31%)			
引流良好组肝门改变	4(100%)	4 级(8%)	4 级(54%)	2 级(78%) 3 级(22%)	4 级(100%)	>250	3/3,较大
		2 级(31%)	3 级(44%) 4 级(56%)	3 级(22%)			
		3 级(44%) 4 级(45%)					

讨 论

BA 近年来发病率逐渐升高,其发病机制仍不清楚,Kazuaki 等^[5]认为病毒感染引起的免疫损伤导致胆管最终闭塞,也可能是由于胆管先天发育异常,导致胆汁渗漏,加重炎症反应,继而促进胆管损伤。肝脏病理结构改变已有大量研究,肝门部位由于进行肝门空肠吻合的特殊性,在 Kasai 术后疾病进展中具有重要意义。本研究在总结 BA 患儿肝门及肝内病理结构的基础上,进一步从肝门解剖至肝内,了解术后胆汁引流情况较好患儿的肝脏进展情况。

一、胆汁引流不良组患儿肝内及肝门病理结构改变

Ovchinsky 等^[6]认为肝活检通常是诊断 BA 所必需的,其病理组织学检查包括胆管增生、胆小管内胆栓、汇管区水肿、纤维化等。目前研究已经证实小叶间胆管损伤或炎症浸润在 BA 早期发生率为 31% 和 94%^[7-9],本研究中,13 例标本均为 BA 晚期,胆汁引流不良,Kasai 术后肝内病理改变以纤维化加重、胆管增生及血管增生为主。汇管区胆管围绕假小叶增生,仅可见少量开放管腔,直径较小;肝细胞毛细胆管化,淤胆较轻,汇管区可见小的胆汁湖。肝内炎细胞浸润较轻,汇管区可见散在炎症浸润灶,血管增生严重,尤其是胆管明显增生区域,血管异常在 BA 发病机制中也发挥重要作用^[10]。BA 患儿 Kasai 术后肝门纤维化程度严重,可见较多孤立的假小叶,增生的胆管逐渐侵入肝小叶,肝细胞逐渐退化,肝门淤胆程度较肝内相对加重,与此前研究基本一致^[11];炎症浸润及血管增生程度与肝内无明显区

别。BA 首选治疗方法往往是 Kasai 手术,术后效果很大程度上取决于肝内胆汁引流情况,本研究发现引流不良患儿肝门与肝内最大区别为淤胆,进一步研究胆汁引流良好患儿肝门部位胆管改变情况。

二、胆汁引流良好组患儿肝门病理改变

选取 3 例胆汁引流较好患儿,由于肝门部位囊肿,反复发作胆管炎而进行肝移植,其胆红素水平并未明显升高。靠近肝门部位胆管增生较肝内轻,并以大胆管(大胆管直径 > 150 μm,小管直径以 < 150 μm^[12])为主。从吻合口逐渐向肝内解剖发现:肝左叶炎症及胆栓程度逐渐减轻,胆管直径较大(最大 750 μm),具有引流功能;肝右叶各部位炎症及胆栓程度无明显区别,胆管增生明显,开放胆管管腔较多,胆管直径较小(最大 390 μm)。越靠近肝内胆管增生加重,管腔直径缩小,以毛细胆管增生为主。肝门部位可见大的胆汁湖,左叶胆管扩张,胆汁湖及大胆管周围常有大量炎细胞浸润,而周围胆管增生不明显。Sharma 等^[8]认为胆汁淤积增加,肝细胞逐渐退化,肝内胆管压力增加,小胆管被迫扩张,胆汁湖形成。本研究发现扩张大胆管淤胆,胆管两端不同程度闭塞,考虑胆管阻塞引起胆管扩张、胆汁淤积并形成胆汁湖。

正常新生儿每个汇管区含 2~3 个胆管,胆管直径为(636.05 ± 350.72) μm,胆管总数和胆管的最大可测直径与 BA 患儿预后呈正相关^[10,13]。Morecki 等^[14]将肝内残余胆管分为 3 种:①胆管平均直径 500 μm,具有引流胆汁功能;②胆管平均直径 250 μm,收集胆汁;③胆管平均直径 100 μm,无胆汁,不具有引流胆汁功能。引流不良组患儿以小胆管为主,直径 < 150 μm,大部分不具有引流功能,而

引流良好组患儿以大胆管为主,直径可达 750 μm ,具有引流胆汁功能。大胆管数量明显增多,肝内胆管淤胆少见,尤其是左叶胆管扩张,淤胆程度较轻,考虑左叶大胆管在胆汁引流过程中发挥重要作用。

三、肝门改变对肝内胆汁引流的影响

Kasai 术后胆汁引流不良组患儿均为 BA 晚期,胆管变性、萎缩,进行性纤维化,引流较好的患儿肝门部位炎症及胆管增生较引流不良患儿严重,尤其是胆管直径较大,开放管腔较多,可见较大多胆管湖。Kasai 手术剥离肝门纤维斑块,并进行肝门空肠吻合,适当暴露肝门小胆管,解除肝门阻塞,并在一定程度上引流胆汁。黄格元^[15]等认为充分暴露肝门对施行 Kasai 手术有较大优势。Kasai 手术过程中,解剖细致、适当暴露肝门边缘是很关键的步骤^[16]。而 Murar 等^[17]也发现肝脏 II、III 段胆管发育较好,Kasai 手术时吻合肝左叶效果更好。扩大切除肝门纤维斑块,尤其是肝左叶,顺利引流胆汁,虽然胆管明显增生,但其直径较大,接近正常胆管,具有胆汁引流功能,且左叶胆管本身发育较好,Kasai 术时尽量解剖左叶胆管可以更好地促进胆汁引流。

由于 BA 患儿有较高的肝移植概率,改善引流或阻止肝纤维化进展为肝硬化至关重要。当患儿肝脏发生进行性或不可逆性损伤时,即使胆管成功引流也不能保证长期自体肝生存^[2]。Kasai 手术解剖固然重要,也要考虑到肝脏本身改变,包括炎症、纤维化、残留胆管大小、肝星形细胞的激活、营养状况、BA 分型等。尽管部分引流较好的患儿术后肝脏纤维化程度仍较重,但在某种程度上引流胆汁缓解肝内淤胆,并延缓肝脏纤维化进程。左叶大胆管在胆汁引流过程中发挥重要作用,所以术中广泛解剖肝门部位,对患儿预后具有重要意义。

术后由于胆管炎反复发生,肝门阻塞或者肝内本身免疫炎症反应,可导致增生的胆管逐渐闭塞,加速肝脏纤维化进展。根据解剖特征指导选择不同手术方式,还需要大病例的研究,并应分别解剖行 Kasai 术与未行 Kasai 术的患儿,以进一步分析 BA 患儿肝门部位胆管的具体改变。

参考文献

- Vivas-Colmenares GV, De Agustín JC, Cabello R. Analysis of prognostic factors in biliary atresia[J]. *Cir Pediatr*, 2014, 27(1): 31–35.
- Superina R, Magee JC, Brandt ML, et al. The anatomic pattern of biliary atresia identified at time of Kasai Hepatportoenterostomy and early postoperative clearance of jaundice are significant predictors of transplant-free survival[J]. *Ann Surg*, 2011, 254(4): 577–585.
- 董淳强, 杨体泉, 董昆. 胆道闭锁术后早期胆管炎风险因素分析, 临床小儿外科杂志[J]. 2013, 12(5): 348–353.
- Chiba T. Histopathological studies on the prognosis of biliary atresia[J]. *Tohoku J Exp Med*, 1977, 122(3): 249–258.
- Nakamura K, Tanoue A. Etiology of biliary atresia as a developmental anomaly: recent advances[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2013, 20(5): 459–464.
- Ovchinsky N, Moreira RK, Lefkowitz JH, et al. Liver biopsy in modern clinical practice: a pediatric point-of-view[J]. *Adv Anat Pathol*, 2012, 19(4): 250–262.
- 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.
- Sharma S, Das P, Dattagupta S, et al. Liver and portal histopathological correlation with age and survival in extra hepatic biliary atresia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2011, 27(5): 451–461.
- Davenport M, Tizzard SA, Underhill J, et al. The biliary atresia splenic malformation syndrome: a 28 – year single – center retrospective study[J]. *J Pediatr*, 2006, 149(3): 393–400.
- Moreira RK, Cabral R, Cowles RA, et al. Biliary atresia a multidisciplinary approach to diagnosis and management[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2012, 136(7): 746–760.
- 刘丹丹, 詹江华, 胡晓丽, 等. 胆道闭锁 Kasai 术后胆管改变与胆管炎发生的关系研究[J]. *中华小儿外科杂志*, 2014, 35(4): 23–28.
- Roy P, Chatterjee U, Ganguli M, et al. A histopathological study of liver and biliary remnants with clinical outcome in cases of extrahepatic biliary atresia[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2010, 53(1): 101–105.
- Qazaz Mirzaa, Nina Kvistb, Bodil Laub Petersena. Histologic features of the portal plate in extrahepatic biliary atresia and their impact on prognosis – a Danish study[J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2009, 44(7): 1344–1348.
- Morecki R, Glasar JH, Cho S, et al. Biliary atresia and reovirus type 3 infection N[J]. *Engl J Med*, 1982, 307(8): 481–484.
- 黄格元, 钟浩宇. 改善胆道闭锁葛西手术疗效的策略. 临床小儿外科杂志[J]. 2012, 11(6): 401–403.
- Mark Davenport. Biliary atresia: clinical aspects[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2012, 21(3): 175–184.
- Murar E, Barta A, Omanik P, et al. Biliary atresia-a new derivative method? [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2014, 115(1): 49–53.