

· 专题 · 胆道闭锁诊治新进展 ·

Ⅲ型胆道闭锁患儿术前基质金属蛋白酶水平与 Kasai 手术后预后的相关性研究



全文二维码

胡书奇 韩一江 赵晓霞 方舒 赖登明 陈锐 黄寿奖 吕成杰 秦琪 钊金法

浙江大学医学院附属儿童医院新生儿外科 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 杭州 310000

通信作者: 钊金法, Email: toujinfa@zju.edu.cn

【摘要】 目的 探索Ⅲ型胆道闭锁患儿术前血清基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)系列蛋白与肝纤维化程度及 Kasai 术后黄疸清除率、早期胆管炎和中长期自体肝生存的相关性, 寻找预测胆道闭锁 Kasai 手术预后的相关因子。**方法** 回顾性分析 2017 年 3 月至 2018 年 6 月浙江大学医学院附属儿童医院新生儿外科确诊为Ⅲ型胆道闭锁并行 Kasai 手术的患儿术前血清 MMPs 蛋白水平, 收集患儿术后肝脏病理、术后 3 个月黄疸消退情况、术后早期胆管炎情况以及术后 5 年自体肝生存情况。分析不同预后组别患儿术前血清 MMPs 系列蛋白水平, 评估术前血清 MMPs 蛋白与预后的关系。**结果** 本研究共纳入 38 例患儿, 男 22 例、女 16 例, 3 例术中造影确诊为Ⅲ型胆道闭锁后家属拒绝行 Kasai 术, 仅行肝脏活检术; 35 例确诊后行 Kasai 术及肝脏活检术, 术后均获随访, 其中 6 例于术后 1 年内行肝移植手术, 2 例因胆道闭锁相关并发症死亡, 27 例随访 5 年以上均自体肝存活。术后 3 个月黄疸消退组和黄疸未消退组比较、自体肝存活组和非自体肝存活组比较, 术前血清 MMPs 系列蛋白水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。早期胆管炎组术前血清 MMP-7 为 $(29\,967.89 \pm 15\,079.03)$ pg/mL, 无早期胆管炎组为 $(15\,071.77 \pm 10\,988.75)$ pg/mL, 差异有统计学意义($t = 2.978, P < 0.05$)。轻度肝纤维化组术前血清 MMP-7 为 $9\,103.31 (4\,603.54, 16\,759.18)$ pg/mL, 重度肝纤维化组为 $20\,288.52 (11\,146.71, 28\,581.65)$ pg/mL, 差异有统计学意义($Z = -2.285, P < 0.05$)。轻度肝纤维化组术前血清 MMP-13 为 $1\,396.81 (1\,295.41, 1\,748.79)$ pg/mL, 重度肝纤维化组为 $1\,193.47 (1\,013.33, 1\,485.17)$ pg/mL, 差异有统计学意义($Z = -1.972, P < 0.05$)。**结论** 胆道闭锁患儿术前血清 MMP-7 和 MMP-13 与 Kasai 术后早期胆管炎以及肝脏纤维化程度相关, 可望作为预测胆道闭锁部分预后指标的一项潜在因子。

【关键词】 胆道闭锁; 基质金属蛋白酶类; 肝纤维化; 黄疸; 胆管炎; 存活率; 数据相关性**基金项目:** 2020 年度国家中心自主设计项目 (SZOC0004)

DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202405079-005

Prognostic value of preoperative serum levels of MMPs in children of biliary atresia

Hu Shuqi, Han Yijiang, Zhao Xiaoxia, Fang Shu, Lai Dengming, Chen Rui, Huang Shoujiang, Lyu Chengjie, Qin Qi, Tou Jinfa

Department of Neonatal Surgery, The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, National Clinical Research Center for Children's Health, Hangzhou 310000, China

Corresponding authors: Tou Jinfa, Email: toujinfa@zju.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the correlation between preoperative serum matrix metalloproteinases (MMPs) levels and liver fibrosis, as well as the jaundice clearance rate, early cholangitis, and medium-to-long-term native liver survival following the Kasai procedure in children with Type III biliary atresia, in order to identify predictive factors for the prognosis of biliary atresia after Kasai surgery. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the preoperative serum MMPs protein levels of children diagnosed with Type III biliary atresia who underwent the Kasai procedure at the Department of Neonatal Surgery, Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, procedure from March 2017 to June 2018. Postoperative data included liver pathology, jaundice resolution at 3 months, early cholangitis, and 5-year native liver survival. Serum MMPs levels were analyzed in relation to different prognostic outcomes. **Results** A total of 38 children were included

in this study, including 22 males and 16 females. 3 children, diagnosed with Type III biliary atresia intraoperatively, had their families refuse the Kasai procedure and only underwent liver biopsy. Of the 35 patients who proceeded with the Kasai procedure and liver biopsy, 6 underwent liver transplantation within 1 year post-surgery, 2 died due to biliary atresia-related complications, and 27 survived with native liver for over 5 years. There were no statistically significant differences in preoperative serum MMPs levels between the jaundice resolution and non-resolution groups, or between the native liver survival and non-survival groups. However, preoperative serum MMP-7 levels were significantly higher in the early cholangitis group ($29\,967.89 \pm 15\,079.03$ pg/mL) compared to the non-cholangitis group ($15\,071.77 \pm 10\,988.75$ pg/mL) ($t = 2.978$, $P < 0.05$). For liver fibrosis, MMP-7 levels were higher in the severe fibrosis group [$20\,288.52$ ($11\,146.71$, $28\,581.65$) pg/mL] compared to the mild fibrosis group [$9\,103.31$ ($4\,603.54$, $16\,759.18$) pg/mL] ($Z = -2.285$, $P < 0.05$). MMP-13 levels were lower in the severe fibrosis group [$1\,193.47$ ($1\,013.33$, $1\,485.17$) pg/mL] compared to the mild fibrosis group [$1\,396.81$ ($1\,295.41$, $1\,748.79$) pg/mL] ($Z = -1.972$, $P < 0.05$). **Conclusions** Preoperative serum MMP-7 and MMP-13 levels are associated with early cholangitis and the degree of liver fibrosis after Kasai surgery in children with biliary atresia, and may as potential prognostic markers.

【Key words】 Biliary Atresia; Matrix Metalloproteinases; Hepatic Fibrosis; Jaundice; Cholangitis; Survival Rate; Correlation of Data

【Fund program】 Independent Design Project of the National Center for the Year 2020(SZOC0004)

DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202405079-005

胆道闭锁是一种病因未明、以胆道系统进行性纤维增生、胆汁淤积和肝内外胆管系统阻塞为特征的疾病,如未进行手术,患儿可于2岁以内死亡^[1-2]。即使接受了Kasai手术,也有部分患儿不能获得长期自体肝存活,需接受肝移植手术。胆道闭锁Kasai术后预后的影响因素一直是小儿外科临床与科研工作的热点。血清基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类参与细胞外基质重塑为主的Zn依赖性内肽酶,能够降解多种细胞外基质蛋白,也可处理一系列生物活性分子,在细胞信号转导、免疫调节等方面起作用^[3]。MMPs在不同疾病条件下的过表达有其特异性,且能够在多种体液(血液、尿液或唾液)中被检测到,最近已被确认为多个领域(诊断、监测和疗效评估)的生物标志物^[4]。胆道闭锁患儿预后与肝纤维化程度密切相关,而肝纤维化过程中涉及大量细胞外基质重塑,已有大量研究表明MMPs在其中发挥重要作用,利用胆道闭锁患儿术前血清MMPs来评估其预后有一定的临床意义。本研究利用多因子悬液芯片检测系统,检测胆道闭锁患儿术前血清MMPs系列蛋白的含量,比较术前血清MMPs系列蛋白含量与患儿手术时肝纤维化分级及术后黄疸清除率、早期胆管炎发生率、自体肝生存情况的相关性,探索胆道闭锁患儿预后相关预测因子。

资料与方法

一、临床资料

本研究为回顾性研究,收集2017年3月至2018年6月在浙江大学医学院附属儿童医院新生儿外科诊疗的胆道闭锁患儿临床资料。病例纳入标准:①患儿家属同意入组;②术中胆道造影明确诊断为胆道闭锁;③在本中心治疗并规范随访。排除标准:①合并其他肝胆疾病;②临床资料不全。入组时患儿家属均已详细了解研究计划和采样流程,术前采血行血清MMPs含量测定,并签署知情同意书。收集患儿临床资料(包括病史、实验室检查结果、病理结果以及早期胆管炎发生情况、术后3个月黄疸清除情况、5年自体肝生存情况)。

共有38例患儿纳入本研究,其中男22例、女16例。3例术中造影确诊为Ⅲ型胆道闭锁后家属拒绝行Kasai术,仅行肝脏活检术;35例确诊胆道闭锁后行Kasai术及肝脏活检术。35例Kasai术后获随访患儿中,6例于术后1年内行肝移植手术,2例行Kasai术后因胆道闭锁相关并发症死亡,27例随访5年以上均自体肝存活。本研究已取得家属知情同意,经浙江大学医学院附属儿童医院伦理委员会审批通过(2019-IRB-018)。

二、样本采集以及MMPs系列蛋白的检测

采集患儿入院时全血置于EDTA-K2真空采血管中,颠倒混匀,以3 000 rpm转速离心10 min,将上

清液分装于 1.5 mL 离心管中冻存于 -80°C 冰箱待用。制备检测样品及标准品后,上机检测,利用多因子悬浮芯片系统高通量检测血清 MMPs 含量。所用试剂盒为 Human MMP Assays Kit (Bio-Plex Pro Human MMP 9-Plex#171AM001M, USA), 包括以下 9 个因子: MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-10、MMP-12 和 MMP-13。

三、相关指标及定义

胆管炎诊断标准:患儿有不明原因发热,体温超过 38°C , 同时伴有粪便颜色浅白,总胆红素升高并以直接胆红素升高为主,超敏 C 反应蛋白升高^[5]。以上四项中符合三项或以上即诊断为胆管炎。

早期胆管炎:指 Kasai 术后 1 个月以内发生的胆管炎。术后 3 个月黄疸消退标准:术后 3 个月总胆红素 $<34.2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。

肝脏纤维化程度分级(采用日本 Ohkuma's 标准):未出现纤维化为 0 级,肝门管区出现轻度纤维化为 1 级,出现附近门管区轻度桥接纤维化为 2 级,出现附近门管区中度桥接纤维化为 3 级,出现肝硬化、假小叶形成为 4 级^[6]。0~2 级为轻度纤维化组,3~4 级为重度纤维化组。由两位资深病理科医师共同对患儿肝脏病理进行分析和记录。

四、随访时间及分组

将 Kasai 手术当天视作随访起点,术后 5 年或患儿因胆道闭锁相关并发症导致死亡、失访或行肝移植治疗视作随访终点。根据是否发生早期胆管炎分为早期胆管炎组和无早期胆管炎组;根据术后

病理检查肝纤维化程度分为轻度肝纤维化组和重度肝纤维化组;根据术后 3 个月黄疸清除情况分为黄疸消退组和黄疸未消退组;根据随访 5 年后自体肝生存情况分为自体肝存活组和自体肝未存活组。比较不同分组患儿的术前血清 MMPs 系列蛋白差异。

五、统计学处理

应用 SPSS 20.0 和 GraphPad Prism 7.0 进行统计学分析和制图,不同组别胆道闭锁患儿术前血清 MMPs 数值中服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不服从正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示。各组别中服从正态分布的计量资料比较运用两独立样本 t 检验,不服从正态分布的计量资料比较运用非参数检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、轻度肝纤维化组和重度肝纤维化组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量比较

38 例术中均行肝组织活检术,根据术后病理检查肝纤维化严重程度分组,其中 15 例为轻度肝纤维化,23 例为重度肝纤维化。两组术前血清 MMPs 蛋白含量比较,MMP-7 及 MMP-13 差异有统计学意义($P < 0.05$)。重度纤维化组 MMP-7 蛋白水平明显高于轻度纤维化组,而轻度纤维化组 MMP-13 蛋白水平高于重度纤维化组,两组患儿其余 MMPs 含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 轻度肝纤维化组和重度肝纤维化组胆道闭锁患儿术前血清 MMPs 蛋白含量(pg/mL)

Table 1 Preoperative serum MMPs protein levels in children with biliary atresia with mild vs. severe liver fibrosis groups(pg/mL)

分组	MMP-1 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-2 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-3 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-7 [$M(Q_1, Q_3)$]
轻度肝纤维化组($n=15$)	1 943.89 (1 016.06, 2 807.51)	124 617.22 \pm 38 208.02	3 385.44 (2 350.02, 5 368.54)	9 103.31 (4 603.54, 16 759.18)
重度肝纤维化组($n=23$)	1 819.40 (1 174.88, 2 279.33)	123 077.88 \pm 43 302.67	2 941.74 (1 651.85, 4 529.02)	20 288.52 (11 146.71, 28 581.65)
t/Z 值	$Z = -0.179$	$t = 0.112$	$Z = -0.847$	$Z = -2.285$
P 值	0.858	0.911	0.397	0.022

分组	MMP-8 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-9 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-10 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-12 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-13 [$M(Q_1, Q_3)$]
轻度肝纤维化组($n=15$)	710.38 (439.65, 1 099.64)	17 061.55 (12 685.10, 32 633.82)	2 429.70 \pm 1 118.49	572.23 \pm 234.02	1 396.81 (1 295.41, 1 748.79)
重度肝纤维化组($n=23$)	556.78 (361.12, 769.12.)	16 663.74 (12 762.29, 24 666.17)	2 369.77 \pm 898.52	613.22 \pm 238.99	1 193.47 (1 013.33, 1 485.17)
t/Z 值	$Z = -0.658$	$Z = -0.015$	$t = 0.790$	$t = -0.521$	$Z = -1.972$
P 值	0.511	0.988	0.435	0.605	0.049

注 MMPs:基质金属蛋白酶类; MMP:基质金属蛋白酶

二、黄疸消退组和黄疸未消退组术前血清 MMPs 蛋白含量比较

38 例中,3 例确诊为胆道闭锁,但未进行 Kasai 手术;35 例行 Kasai 手术,术后 3 个月复查血清总胆红素,15 例达到了黄疸清除标准(总胆红素 < 34.2 $\mu\text{mol/L}$)。根据术后 3 个月黄疸清除情况分为黄疸消退组和黄疸未消退组,两组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

三、早期胆管炎组与无早期胆管炎组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量比较

随访 35 例行 Kasai 手术患儿,根据术后 1 个月内是否有胆管炎发作分为早期胆管炎组与无早期

胆管炎组,两组术前血清 MMPs 蛋白含量比较,仅 MMP-7 差异有统计学意义($P < 0.05$),早期胆管炎组 MMP-7 含量高于无早期胆管炎组,其余 MMPs 蛋白含量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

四、自体肝存活组和非自体肝存活组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量比较

38 例确诊为胆道闭锁患儿中,3 例拒绝行 Kasai 手术,自行出院后失访。35 例完成 Kasai 手术的患儿中,6 例于术后 1 年内行肝移植手术,2 例在术后 3 年内因胆道闭锁相关并发症死亡,27 例随访 5 年以上均自体肝存活。将自体肝存活组和非自体肝存活组(移植和死亡)比较,发现两组患儿术前血清 MMPs 系列蛋白差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 2 黄疸消退组和黄疸未消退组胆道闭锁患儿术前血清 MMPs 蛋白含量(pg/mL)

Table 2 Preoperative serum MMPs protein levels in children with biliary atresia with jaundice resolution vs. non-resolution groups(pg/mL)

分组	MMP-1($\bar{x} \pm s$)	MMP-2($\bar{x} \pm s$)	MMP-3($\bar{x} \pm s$)		MMP-7($\bar{x} \pm s$)
黄疸消退组($n=15$)	1 946.76 \pm 922.32	128 267.45 \pm 41 940.69	3 691.13 \pm 2 158.40		20 478.04 \pm 14 743.73
黄疸未消退组($n=20$)	1 895.48 \pm 1 306.25	119 431.98 \pm 40 825.86	3 575.69 \pm 2 400.80		16 230.71 \pm 11 852.78
t/Z 值	$t=0.130$	$t=0.626$	$t=0.147$		$t=0.945$
P 值	0.898	0.535	0.884		0.351
分组	MMP-8 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-9 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-10 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-12 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-13 [$M(Q_1, Q_3)$]
黄疸消退组($n=15$)	665.18 (488.06,1 099.64)	18 087.19 (14 400.76,34 231.97)	2 429.12 \pm 791.21	583.87 \pm 180.01	1 339.84 (1 193.47,1 686.18)
黄疸未消退组($n=20$)	468.73 (296.85,685.35)	15 089.58 (11 612.67,20 082.96)	2 286.73 \pm 1 136.64	588.64 \pm 279.98	1 155.08 (1 016.57,1 557.23)
t/Z 值	$Z=-1.834$	$Z=-1.833$	$t=0.415$	$t=-0.058$	$Z=-1.000$
P 值	0.067	0.067	0.681	0.954	0.317

注 MMPs:基质金属蛋白酶类; MMP:基质金属蛋白酶

表 3 胆道闭锁早期胆管炎组与无早期胆管炎组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量(pg/mL)

Table 3 Preoperative serum MMPs protein levels in children with biliary atresia with early cholangitis vs. non-cholangitis groups(pg/mL)

分组	MMP-1 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-2 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-3 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-7 ($\bar{x} \pm s$)
早期胆管炎组($n=7$)	1 943.89 (1 225.65, 2 807.51)	106 528.58 \pm 30 042.71	2 941.74 (1 066.84, 5 368.54)	29 967.89 \pm 15 079.03
无早期胆管炎组($n=28$)	1 625.13 (1 055.77, 2 608.43)	127 391.12 \pm 62 648.84	3 159.17 (1 901.22, 4 893.27)	15 071.77 \pm 10 988.75
t/Z 值	$Z = -0.887$	$t = -1.215$	$Z = -0.847$	$t = 2.978$
P 值	0.375	0.233	0.397	0.005

分组	MMP-8 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-9 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-10 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-12 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-13 [$M(Q_1, Q_3)$]
早期胆管炎组($n=7$)	710.38 (439.65, 1 099.64)	15 912.27 (14 266.89, 34 231.97)	2 614.19 \pm 858.20	424.91 (297.31, 639.20)	1 485.17 (1 013.33, 1 748.79)
无早期胆管炎组($n=28$)	556.78 (361.12, 769.12)	16 862.65 (12 704.40, 20 368.94)	2 281.14 \pm 1 026.41	559.35 (467.92, 682.02)	1 292.24 (1 042.43, 1 585.70)
t/Z 值	$Z = -1.258$	$Z = -0.495$	$t = 0.790$	$Z = -1.403$	$Z = -0.598$
P 值	0.208	0.621	0.435	0.161	0.550

注 MMPs:基质金属蛋白酶类; MMP:基质金属蛋白酶

表 4 非自体肝存活组和自体肝存活组胆道闭锁患儿术前血清 MMPs 蛋白含量(pg/mL)

Table 4 Preoperative serum MMPs protein levels in children with biliary atresia with native liver survival vs. non-survival groups(pg/mL)

分组	MMP-1 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-2 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-3 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-7 ($\bar{x} \pm s$)
非自肝存活组($n=8$)	2 022.17 (962.22, 2 807.51)	121 085.42 \pm 40 607.17	3 069.19 (1 672.45, 4 817.17)	13 375.34 \pm 9 089.99
自肝存活组($n=27$)	1 647.27 (1 174.88, 2 221.76)	123 850.67 \pm 41 774.99	2 941.74 (1 651.85, 5 368.54)	19 436.38 \pm 13 953.33
t/Z 值	$Z = -0.393$	$t = -0.166$	$Z = -0.315$	$t = -1.152$
P 值	0.694	0.870	0.753	0.258

分组	MMP-8 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-9 [$M(Q_1, Q_3)$]	MMP-10 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-12 ($\bar{x} \pm s$)	MMP-13 ($\bar{x} \pm s$)
非自肝存活组($n=8$)	504.07 (329.60, 598.70)	15465.32 (11 392.33, 20 082.96)	1 955.88 \pm 695.55	579.20 \pm 266.67	1 387.45 \pm 472.49
自肝存活组($n=27$)	610.25 (410.14, 929.92)	17 061.55 (13 338.17, 24 666.17)	2463.86 \pm 1047.08	588.79 \pm 235.74	1 337.03 \pm 340.51
t/Z 值	$Z = -1.218$	$Z = -0.904$	$t = -1.284$	$t = -0.098$	$t = -0.336$
P 值	0.223	0.366	0.208	0.922	0.739

注 MMPs:基质金属蛋白酶类; MMP:基质金属蛋白酶

讨 论

胆道闭锁肝纤维化和肝硬化的发生发展是一个复杂过程,需要许多细胞因子参与,正常肝脏细胞外基质成分相对较少,而肝纤维化正是细胞外基质大量增加导致广泛组织重构的结果。负责降解这些细胞外基质和基底膜的所有蛋白成分的关键酶是 MMPs。很多学者已经研究了 MMPs 在肝纤维化中的表达谱,但结果不尽相同,显然这与肝纤维化的原发病和不同检测方法有关^[7-8]。多因子悬液芯片系统是一个用于单孔中分析多种蛋白、肽和核酸的系统,能获得可靠的高通量多重检测结果,相较于普通 ELISA 方法,既省时间又省样品。本研究对胆道闭锁患儿术前血清 MMPs 系列蛋白进行检测,根据胆道闭锁手术后不同结局进行分组,探寻患儿术前血清 MMPs 系列蛋白含量与术后不同结局之间的关系。

根据 MMPs 活性以及底物范围,人们将具有相似的结构和功能特征的 MMPs 进行分组,至少有 28 组 MMP,其中 24 组已知在人类中表达。根据结构生物学大致分为几类:经典胶原蛋白酶(包括 MMP-1、MMP-3、MMP-8、MMP-10、MMP-12、MMP-13 等),主要功能是切割 I、II、III 型等纤维胶原蛋白;明胶酶(包括 MMP-2、MMP-9 等),主要降解 ECM 蛋白;膜结合 MMPs(包括 MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-24 等),在细胞表面表达活性形式;基质溶解

素(包括 MMP-7、MMP-26 等)和间质溶血素(包括 MMP-3、MMP10、MMP11 等)^[3]。

Kasai 手术时肝纤维化程度是胆道闭锁预后的独立影响因素,也是判断长期预后的指标之一^[9]。本研究发现胆道闭锁患儿术前血清 MMP-7 和 MMP-13 水平与肝纤维化严重程度相关,重度肝纤维化组术前血清 MMP-7 蛋白水平明显高于轻度肝纤维化组。而术前血清 MMP-13 水平则相反,重度肝纤维化组低于轻度肝纤维化组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MMP-7 是一种基质溶解素,由胆管上皮细胞、肝巨噬细胞和肝细胞产生,在正常肝组织中弱表达而在进行性肝纤维化反应肝脏中表达明显上调。本研究结果和 Jiang 等^[10]报道的结果一致,术前血清 MMP-7 水平与肝纤维化分级相关,肝纤维化程度越高, MMP-7 越高。虽然 MMP-7 参与胆道闭锁病理生理学的机制尚不清楚,但 MMP-7 已在其他纤维化病理学(如肾和特发性肺纤维化)研究结果中表明, MMP-7 参与 Wnt/ β -catenin 信号传导,通过脱落 E-钙粘蛋白减少细胞间接触,通过骨桥蛋白和 TNF- α 放大炎症和纤维化,同时它似乎也在诱导血管生成中发挥作用^[11]。MMP-13 是胶原酶的一种,研究表明 MMP-13 可以切割 I、III、IV、IX、X 和 XI V 型胶原蛋白和纤连蛋白。MMP-13 在细胞外基质降解和细胞-基质相互作用的调节中起关键作用。有研究指出 MMP-13 还可以通过高表达来介导肝细胞生长因子、MMP-2、MMP-9 的表达来诱导胶原纤维降解^[12]。有学者将 MMP-13 基因注入小鼠胆管结

扎模型,发现小鼠血浆 AST 恢复,并有利于肝脏纤维化降解。MMP-13 是阻止肝纤维化形成的重要因子,被认为可能是肝纤维化治疗中的潜在靶点^[13]。研究发现术前血清 MMP-13 在轻度肝纤维化组中含量更高,MMP-13 的上升意味着分解代谢活动增强,从而肝纤维化程度好转。

有一些 MMPs 能够通过调控趋化因子进而召集免疫效应细胞至损伤部位,以此来促进炎症反应,还有的 MMPs 能通过调节生长因子活性和物理屏障的完整性来调节炎症反应。本研究发现,早期胆管炎组术前血清 MMP-7 含量高于无早期胆管炎组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。MMP-7 与胆道闭锁的密切关系提示 MMP-7 在疾病的发病机制中具有潜在的作用。有学者在小鼠实验性胆道闭锁模型中,通过轮状病毒损伤肝外胆管后,发现血清 MMP-7 升高,直接证明了这种可能性^[7]。此外,MMP-7 可能通过切割 E-cadherin 和破坏黏附连接来调节组织修复,促进细胞迁移,并通过激活 Fas 配体和潜在的 TNF- α 调节炎症^[14]。

本研究比较了术后 3 个月黄疸消退组和黄疸未消退组、术后 5 年自体肝存活组和非自体肝存活组患儿术前血清 MMPs 蛋白含量,MMPs 作为黄疸清除情况和远期自体肝生存情况的预测指标研究较少,本研究的组间差异均无统计学意义,但并不意味着基质金属蛋白酶在胆道闭锁病情进展中未发生作用,也可能与病例数或标本来源因素有关。本研究结论对于确定 MMPs 系列蛋白对胆道闭锁预后的预测效用有重要意义。其局限性在于病例数较少,且缺乏术后血清 MMPs 蛋白的检测,缺乏 MMPs 动态变化监测。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 韩一江、赵晓霞负责文献检索,黄寿奖、秦琪负责论文设计,方舒、赖登明负责数据收集,陈锐、吕成杰负责研究结果分析与讨论,胡书奇负责论文撰写;钊金法负责全文知识性内容的审读与修正

参 考 文 献

- [1] Brindley SM, Lanham AM, Karrer FM, et al. Cytomegalovirus-specific T-cell reactivity in biliary atresia at the time of diagnosis is associated with deficits in regulatory T cells[J]. *Hepatology*, 2012, 55(4): 1130-1138. DOI: 10.1002/hep.24807.
- [2] Asai A, Miethke A, Bezerra JA. Pathogenesis of biliary atresia: defining biology to understand clinical phenotypes[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12(6): 342-352. DOI: 10.1038/nrgastro.2015.74.
- [3] Kumar L, Bisen M, Khan A, et al. Role of matrix metalloproteinases in musculoskeletal diseases[J]. *Biomedicines*, 2022, 10

- (10): 2477. DOI: 10.3390/biomedicines10102477.
- [4] Rangasamy L, Geronimo BD, Ortin I, et al. Molecular imaging probes based on matrix metalloproteinase inhibitors (MMPis) [J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 2982. DOI: 10.3390/molecules24162982.
- [5] 王培,冯杰雄.胆道闭锁术后胆管炎抗生素分级治疗的多中心研究方案[J]. *临床小儿外科杂志*, 2019, 18(11): 922-926. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.11.006.
Wang P, Feng JX. The antibiotics treatment of cholangitis post-Kasai portoenterostomy: a multi-center study protocol[J]. *J Clin Ped Sur*, 2019, 18(11): 922-926. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.11.006.
- [6] 周李,金龙,李桂生,等.胆小管增生诱导胆道闭锁早期肝纤维化[J]. *中华小儿外科杂志*, 2005, 26(6): 281-284. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2005.06.001.
Zhou L, Jin L, Li GS, et al. Ductal proliferation induces liver fibrosis in the early stage of biliary atresia[J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2005, 26(6): 281-284. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2005.06.001.
- [7] Lertudomphonwanit C, Mourya R, Fei L, et al. Large-scale proteomics identifies MMP-7 as a sentinel of epithelial injury and of biliary atresia[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(417): ean8462. DOI: 10.1126/scitranslmed.aan8462.
- [8] de Almeida LGN, Thode H, Eslambolchi Y, et al. Matrix metalloproteinases: from molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. *Pharmacol Rev*, 2022, 74(3): 712-768. DOI: 10.1124/pharmrev.121.000349.
- [9] 葛亮,詹江华.胆道闭锁肝纤维化与自体肝生存关系的研究进展[J]. *临床小儿外科杂志*, 2020, 19(2): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.02.016.
Ge L, Zhan JH. Relationship between liver fibrosis and native liver survival in infants with biliary atresia[J]. *J Clin Ped Sur*, 2020, 19(2): 171-175. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.02.016.
- [10] Jiang JY, Wang JF, Shen Z, et al. Serum MMP-7 in the diagnosis of biliary atresia[J]. *Pediatrics*, 2019, 144(5): e20190902. DOI: 10.1542/peds.2019-0902.
- [11] Nomden M, Beljaars L, Verkade HJ, et al. Current concepts of biliary atresia and matrix metalloproteinase-7: a review of literature[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 617261. DOI: 10.3389/fmed.2020.617261.
- [12] Endo H, Niioka M, Sugioka Y, et al. Matrix metalloproteinase-13 promotes recovery from experimental liver cirrhosis in rats[J]. *Pathobiology*, 2011, 78(5): 239-252. DOI: 10.1159/000328841.
- [13] Prystupa A, Szpetnar M, Boguszewska-Czubara A, et al. Activity of MMP1 and MMP13 and amino acid metabolism in patients with alcoholic liver cirrhosis[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 1008-1014. DOI: 10.12659/MSM.892312.
- [14] Nissinen L, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in inflammation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(8): 2571-2580. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.03.007.

(收稿日期: 2024-05-30)

本文引用格式: 胡书奇, 韩一江, 赵晓霞, 等. III型胆道闭锁患儿术前基质金属蛋白酶水平与 Kasai 手术后预后的相关性研究[J]. *临床小儿外科杂志*, 2024, 23(8): 723-728. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-2024 05079-005.

Citing this article as: Hu SQ, Han YJ, Zhao XX, et al. Prognostic value of preoperative serum levels of MMPs in children of biliary atresia[J]. *J Clin Ped Sur*, 2024, 23(8): 723-728. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202405079-005.