临床研究 文章编号:0253-3626(2010)10-1547-03

重庆地区胆汁淤积型婴儿肝炎综合征病因研究

赵瑞秋[1],管小琴[2],罗治国[3],许红梅[1]

(1. 重庆医科大学附属儿童医院感染消化科,重庆 400014;2. 重庆医科大学病理学教研室,重庆 400014;3. 重庆医科大学电镜室,重庆 400014)

【摘 要】目的:明确重庆地区胆汁淤积型婴儿肝炎综合征(Infantile hepatitis syndrome,IHS)的病因诊断。方法:ELISA 常规检测血清 HCMV-IgM、弓形体 -IgM、RuV-IgM、HSV-IgM、甲乙丙戊肝炎病毒标志物,肝活检行光镜和电镜诊断,免疫组织化学染色检测肝组织 HCMV 极早期抗原(Immediate early antigen,IEA)和早期抗原(Early antigen,EA)、HBcAg、胆盐输出泵(Bile salt export pump,BSEP)和多重耐药相关蛋白 3(Multidrug resistance 3,MDR3)。结果:36 例胆汁淤积型 IHS 中人巨细胞病毒(Human cytomegalovirus,HCMV)肝炎 10 例;HCMV 肝炎合并风疹病毒(Rubella virus,RuV)感染 1 例;HCMV 肝炎合并单纯疱诊病毒(Herpds simplex virus,HSV)感染 1 例;HCMV、HSV 和 RuV 混合感染 1 例;胆道闭锁 7 例[5 例合并 HCMV 感染,1 例合并 HCMV 和乙肝病毒(Hepatitis b virus,HBV)感染];糖原累积病 2 例;尼曼皮克病合并 HCMV 肝炎 1 例;分类不明脂质代谢障碍 1 例;HCMV 肝炎合并疑诊线粒体肝病 1 例;HCMV 肝炎合并疑诊铁沉积病 1 例;疑诊脂质代谢障碍、胆汁酸代谢障碍和进行性家族性肝内胆汁淤积Ⅰ型(Progressive familial intrahepatic cholestasis,PFIC Ⅰ)各 1 例;7 例病因仍不清。结论:HCMV 肝炎是重庆地区胆汁淤积型 IHS 的首要原因,存在与其他病毒合并感染和参与代谢性肝病发病的现象。肝组织学检查可作为早期诊断胆道闭锁的补充,电镜检查有助于某些遗传代谢性肝病的诊断。暂未在重庆地区胆汁淤积型 IHS 中发现 BSEP 和 MDR3 基因变异。

【关键词】婴儿肝炎综合征;胆汁淤积型;组织形态学;巨细胞病毒;即刻早期抗原;早期抗原;胆盐输出泵;多重耐药相关蛋白 3

【中国图书分类法分类号】R725.7 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-04-07

Etiologic study on patients with cholestatic infantile hepatitis dyndrome in Chongqing area

ZHAO Rui-qiu, et al

(*Department of Infectious and Digestive Diseases, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To understand the causes of cholestatic infantile hepatitis syndrome (IHS) in Chongqing area. *Methods*: Serum HCMV-IgM, Tox-IgM, RuV-IgM, HSV-IgM and hepatitis virus markers (A, B, C and E) were detected by ELISA. Liver biopsy tissues were observed under light microscope and electromicroscope. Immediate early antigen (IEA) and early antigen (EA) of HCMV, HbcAg, BSEP and MDR3 were detected in liver tissues by immunohistochemistry stain assay. *Results*: The diagnoses in 36 patients with cholestatic IHS included HCMV hepatitis in 10 patients, HCMV and RuV co-infection in 1 patient, HCMV, HSV and RuV co-infection in 1 patient, Biliary atresia in 7 patients (5 complicated with HCMV infection and 1complicated with HCMV and HBV co-infection), Glycogen storage disease in 2 patients, Niemann-Pick disease and HCMV hepatitis in 1 patient, and Lipid storage diseases with unknown type in 1 patient. Probable diagnoses included liver mitochondriopathy and HCMV hepatitis in 1 patient, siderosis and HCMV hepatitis in 1 patient, dyslipidoses in 1 patient, bile acid synthetic defect in 1 patient and progressive familial intrahepatic cholestasis Ⅰ in 1 patient. There were also 7 patients the causes did not found. *Conclusion*: HCMV hepatitis is the main cause of infantile hepatitis syndrome in Chongqing, but it may be co-infected with other virus and complicated with inheritant metabolism liver diseases. The pathologic changes of liver tissues are helpful in diagnoses of biliary atresia and inheritant metabolism liver diseases in cholestatic IHS. BSEP and MDR3 defect were not found in cholestatic IHS in Chongqing area.

【Key words】Infantile hepatitis syndrome; Cholestatic; Mistomorphologic; Cytomegalovirus; Immediate early antigen; Early antigen; BSEP; Multidrug resistance 3

作者介绍:赵瑞秋(1973-),女,主治医师,硕士,研究方向:儿童肝病。

通讯作者:许红梅,女,教授,E-mail: xuhongmwpx@yahoo.com。

胆汁淤积型是婴儿肝炎综合征(Infantile hepatitis syndrome, IHS)的主要类型,病因非常复杂,包括感染、先天性肝胆发育异常和遗传代谢缺陷等。婴儿期临床表现相似,预后较差,且通过现有临床常规病毒血清学及影像学方法,相当部分病因诊断不清。为此,我们对 2007 年 3 月 ~2008 年 10 月在重庆医科大学附属儿童医院感染消化科住院并随访的 36 例胆汁淤积型 IHS 患儿在采用常规诊断方法的同时,进行肝组织学、超微结构及免疫组织化学染色等检查,对其病因学进行较深入研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

在重庆医科大学附属儿童医院感染消化科住院并随访的 36 例胆汁淤积型 IHS 患儿,符合第七界全国小儿肝病会讨论通过的 IHS 诊断标准[1],均经 2 次以上 B 超或磁共振胰胆管成像排除胆管系统畸形,且直接胆红素/总胆红素≥50%,血清胆汁酸升高。其中男 23 例,女 13 例。1~3 月 25 例,3~6 月 5 例,6~12 月 3 例,12~18 月 3 例 (婴儿期发病), 均有黄疸、肝脾肿大、生长发育迟缓和肝功能异常,部分有瘙痒。

1.2 方法

1.2.1 常规生化及影像学检查 行血/尿/大便常规、肝肾功、血清蛋白电泳、血脂、血糖、铜蓝蛋白及脊柱摄片等检查。部分病人进行了血气分析、血乳酸和血氨检测:由重庆医科大学附属儿童医院临床检验中心完成。

1.2.2 血清病原抗体检测 HCMV-IgM、弓形体 -IgM、RuV-IgM、HSV-IgM,甲乙丙戊肝炎病毒标志物检测:由重庆医科大学附属儿童医院临床检验中心完成。

1.2.3 B 超引导经皮肝穿刺活检术 取 1.5~2 cm 肝组织,分别经 10%甲醛和 4%戊二醛固定,送光镜、电镜观察:由重庆医科大学病理和电镜教研室观察并出具报告。

1.2.4 肝组织免疫组织化学染色检查 鼠抗 HCMV-IEA/EA 单克隆抗体(购自 ZyMed 公司);鼠抗人乙肝病毒核心抗原(Hepatitis B core antigen, HBcAg)多克隆抗体(购自福建迈新公司);兔抗人胆盐输出泵(Bile salt export pump, BSEP)多克隆抗体、鼠抗人多重耐药蛋白(Multidrug resistance 3, MDR3)单克隆抗体(购自 SANTA CRUZ 公司)作一抗,行肝组织免疫组织化学染色。

2 结 果

2.1 血清相关病毒抗体检测

22 例 HCMV-IgM 阳性,2 例 RuV-IgM 阳性,2 例 HSV-IgM 阳性,甲乙丙戊肝炎病毒标志物及弓形体 -IgM 均阴性。

2.2 肝组织 HCMV-IEA/EA 及 HBcAg 免疫组织化学染色检测

22 例 HCMV-IEA/EA 阳性;其中 1 例 HBcAg 阳性。

2.3 肝组织光镜诊断

所有病例均呈现不同程度炎症反应。肝细胞肿胀变性、肝细胞淤胆和纤维结缔组织增生的比例分别为 94.4%、91.7%和 94.4%。7 例组织形态学表现为胆道梗阻,纤维化、小胆管增生伴炎症细胞浸润和汇管区显著扩大。结合患儿均有黄疸进行性加深、肝脏增大、大便颜色逐渐变浅甚至白陶土色,故诊断为胆道闭锁。2 例肝细胞显著肿大呈泡沫状,加做苏丹兰免疫组化染色阳性,高度疑诊脂质代谢障碍。

2.4 肝组织电镜诊断

炎性疾病 22 例;糖原累积病 3 例(1 例伴肝脏炎性改变,经随访患儿黄疸完全消褪、肝脏有所回缩、肝功能恢复正常且生长发育良好,故排除);肝豆状核变性 3 例(血清铜蓝蛋白正常而排除);肝炎伴胆汁酸代谢障碍 3 例(1 例光镜诊断胆道闭锁,1 例胆汁酸 2 个月后降至正常而排除,1 例根据现有临床资料暂不能确诊或排除);另 1 例线粒体肝病、3 例脂质沉积病和 1 例铁沉积病以现有临床资料也暂不能确诊或排除。

2.5 肝组织 BSEP 和 MDR3 免疫组织化学染色检测

在 36 例胆汁淤积型 IHS 患儿肝细胞毛细胆管膜上均正常表达。

2.6 诊断总结

36 例胆汁淤积型 IHS 中巨细胞病毒(Human cytomegalovirus, HCMV)肝炎 10 例;HCMV 肝炎合并风疹病毒(Rubella virus, RuV)感染 1 例;HCMV 肝炎合并单纯疱疹病毒(Herpds simplex virus, HSV)感染 1 例;HCMV、HSV 和 RuV 混合感染 1 例;胆道闭锁 7 例[5 例合并 HCMV 感染,1 例合并 HCMV 和乙肝病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染];糖原累积病 2 例;尼曼皮克病合并 HCMV 肝炎 1 例;分类不明脂质代谢障碍 1 例;HCMV 肝炎合并疑诊线粒体肝病 1 例;HCMV 肝炎合并疑诊铁沉积病 1 例;疑诊脂质代谢障碍、胆汁酸代谢障碍和进行性家族性肝内胆汁淤积Ⅰ型(Progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC Ⅰ)各 1 例;7 例病因不清。

3 讨 论

胆汁淤积型 IHS 是 IHS 的主要类型,病因非常复杂。国外 70 年代研究[2]显示病因以胆道闭锁和感染为主,病因不明者达 65%。随着分子生物学和分子遗传学的进展,及肝组织活检技术的成熟和广泛开展,过去未能识别的一些疾病被逐渐认识(尤其是遗传缺陷导致胆汁酸排泄障碍的疾病和代谢性疾病)。2004 年 Suchy 等[3]报道婴儿期胆汁淤积性肝病中,肝外胆道闭锁占 25%~30%、α1 抗胰蛋白酶缺乏占 7%~10%、代谢障碍性疾病占 20%、胆汁淤积综合征(如 PFIC, Alagille 综合征等)占 15%~20%、细菌和病毒感染占 5%~10%、原因不明的降至 15%。

在胆汁淤积型 IHS 病因的认识上,我国与国外有差别,目前仍认为感染是胆汁淤积型 IHS 最常见原因。

本研究通过免疫组织化学染色检测肝组织 HCMV-IEA/EA,以明确肝脏有无活动性 HCMV 感染。结果 HCMV 肝炎 22 例(61.1%),单纯 HCMV 肝炎 10 例(27.8%),与我国报道的 IHS 中 HCMV 肝炎占 48.1%~78.3%[4]相符,说明 HCMV 感染是本地区胆汁淤积型 IHS 的首要病因。结果显示存在 HCMV 肝炎与其他病毒合并感染,可能与 HCMV 常在免疫水平较低人群出现症状性感染、易合并其他病原体感染有关。同时,遗传代谢性肝病中,HCMV 感染可作为合并因素参与发病。与肝组织 HCMV-IEA/EA 相比较,血清 HCMV-IgM 的特异性、敏感性及符合率较高,分别为 71.4%、81.8%和 77.8%(结果本文未写出),仍是诊断 HCMV 活动性感染的较好指标。

肝组织 HBcAg 仅 1 例阳性(患儿 HBV 血清标志物阴性,其母亲血清 HBsAg、HBeAb 和 HBcAg 阳性),远低于HCMV 肝炎,提示大规模接种乙肝疫苗和对高危人群进行有效母婴传播阻断后,婴儿期 HBV 感染明显减少,已不再是 IHS 的主要病因。

据报道肝活检诊断胆道闭锁准确性达 60%~95%[5],65%的肝活检可见典型胆道闭锁组织学表现[6]。本组病例 7 例肝组织学提示胆道闭锁,临床表现为黄疸进行性加深,经治疗无减轻,大便色如白陶土,血清碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶显著增高,故诊断。36 例患儿均行 2 次以上超声或 MRCP 排除胆管系统畸形,仍有 7 例组织学提示胆道闭锁,说明影像学在早期诊断上存在局限性。尤其近年文献报道肝门和肝内胆道闭锁占胆道闭锁的 90%,超声早期发现这类闭锁非常困难。所以,临床表现高度怀疑而影像学正常的病例,有必要及时行胆道造影和(或)肝组织穿刺[7]。许多研究已证实 HCMV 感染与胆道闭锁存在相关性,本研究诊断的 7 例胆道闭锁中 6 例 HCMV-IEA/EA 阳性,亦支持该理论。

遗传代谢性肝病是 IHS 的重要组成部分,本研究确诊 4 例(11.1%)。2 例糖原累积病血糖均无明显下降,其中 1 例外周血乳酸增高,另 1 例未发现血生化异常,提示物质代谢障碍并不一定都表现血生化相关项目的异常;肝组织光镜下改变无特异性,但超微结构改变典型,胞质内细胞器较少,代之以大量糖原沉积,以 β 型糖原为主,提示电镜检查是代谢性肝病诊断的有力补充。2 例脂肪沉积性肝病光镜下即有特征性改变,肝细胞显著肿大呈泡沫状,结合外周血血脂显著升高,1 例在骨髓中找到大量泡沫细胞即可判断尼曼匹克病。此外,电镜诊断代谢障碍 14 例,远高于光镜及临床诊断,但仅 4 例确诊,6 例排除,4 例疑诊。考虑与在胆汁淤积性肝病中肝细胞功能障碍、导致各种代谢产物在肝脏沉积有关。所以,电镜诊断必须密切联系病史、实验室检查和光镜结果,以避免由于观察材料有限或非特异病变导致的误诊。

PFIC 是西方国家胆汁淤积性肝病的重要原因之一。PFIC Ⅰ、PFIC Ⅱ和 PFIC Ⅲ分别与家族性肝内胆汁淤积 Ⅰ(Familial intrahepatie cholestasis Ⅰ,FIC Ⅰ)、BSEP 和 MDR3 基因变异有关,均表现为婴儿早期胆汁淤积性肝炎,前两者临床表现非常相似,谷氨酰转肽酶不增高,生化和组织学检查难以鉴别,PFIC Ⅲ谷氨酰转肽酶增高明显。FIC1 基因在多种组织中表达,尤其在小肠和胰腺表达高,而在肝脏表达低,所以 PFIC Ⅰ出现水泻症状者较 PFIC Ⅱ型多见[8,9]。本组病例 BSEP 和 MDR3 正常表达,但其中 2 例瘙痒突出,血清总胆汁酸增高近 20 倍,谷氨酰转肽酶下降,无胆道梗阻表现,镜下仅见胆汁淤积,炎症反应轻,高度提示胆汁酸代谢障碍,故疑诊 PFIC Ⅰ。随访发现 1 例服用苯巴比妥后症状缓解,9 个月未复发,故除外。另 1 例淤胆进行性加重,间断水样腹泻,拟进一步检测 FIC1 基因以明确。

本研究 7 例(19.4%)诊断不明,高出国外同期水平,提示本地区仍有部分胆汁淤积型 IHS 病因没有被认识。

综上,胆汁淤积型 IHS 病因复杂。本研究显示 HCMV 感染仍是重庆地区胆汁淤积型 IHS 的主要原因,胆道闭锁占相当的比重(并与 HCMV 感染有关),遗传代谢性疾病不能忽视,部分病因有待进一步研究以明确。目前临床常规的 TORCH 感染相关检测、肝胆系统影像学检查仍是首选,同时可进行遗传代谢性疾病初筛试验(血糖、血乳酸、血氨、血气分析、血脂、血清蛋白电泳、铜蓝蛋白等),以上检查均无提示者,可进一步 B 超引导经皮肝组织穿刺,行肝组织学及超微结构检查。病因直接关系到疾病的治疗和预后,深入挖掘胆汁淤积型 IHS 病因,对可治性肝病早发现早干预、难治性肝病全面评估、选择合适时机肝移植及改善我国胆汁淤积型 IHS 的预后有重要意义。

参 考 文 献

[1] 朱启镕,王晓红,王建设.婴儿肝病综合症诊治修订方案[J].中华传染病杂志,2004,22(5):357.

[2] Balistreri W F,Bezerra J A. Whatever happened to "Neonatal Hepatitis"[J]?Clin Liver Dis,2006,10(1):27-53.

[3] Suchy F J. Neonatal Cholestasis[J].Pediatr Rev,2004,25(11):388-396.

[4] 方 峰,董永绥.全国小儿巨细胞病毒感染学术会议记要[J].中华儿科杂志,1995,33(1):7-8.

[5] 周晓军,张丽华.肝病理学脏诊断[M].第 1 版.南京:江苏科学技术出版社,2006.95-107.

[6] 陆伦根,曾民德.胆汁淤积性肝脏疾病[M].第 1 版.北京:人民卫生出版社,2007.338-348.

[7] Chardot C.Biliary atresia[J].Orphanet Journal of Rare Diseases,2006,1:28.

[8] Chen H L,Chang P S,Hsu H C,et al. FIC1 and BSEP defects in Taiwanese patients with chronic intrahepatic cholestasis with low gamma-glutamyltranspeptidase levels[J]. J Pediatr,2002,140(1):119-124.

[9] Bull L N,Carlton V E,Stricker N L,et al. Genetic and morphological findings in progressive familial intrahepatic cholestasis(Byler disease [PFIC-1] and Byler syndrome):evidence for heterogeneity [J].Hepatology,1997,26(1):155-164.

(责任编辑:关蕴良)