

粒体膜电位,促进细胞色素 C 释放,增强射线对肿瘤细胞杀伤力,提高肿瘤放疗敏感性^[11]。王芳等^[12]将 miR-21-ASO 转染 U373MG 细胞后,并联合应用替尼泊苷 VM26,发现转染 miR-21-ASO 组胶质瘤细胞增殖活性明显下降,并呈剂量依赖性。提示 miRNA 提高肿瘤化疗敏感性,这为指导临床用药及开发新的抗肿瘤靶标提供了线索。

3 结 语

目前,人们对 miRNA 的基本特征、生物学功能等已有初步了解,miRNA 通过发挥基因调控作用从而促进肿瘤细胞的恶性转变,miRNA 有望成为新的肿瘤标记物用于诊断及预后评价,同时利用各种途径抑制或促进 miRNA 的表达和活性还能提高肿瘤治疗的效果。然而,有关 miRNA 的研究还存在许多难点,如 miR-21 的特异性并不强,不但在胶质瘤时表达升高,在肝癌、肺癌、卵巢癌等多种肿瘤组织中表达都较高^[13-14],以及 miRNA-21 作用的复杂性、表达的组织和时间特异性使得同一种 miRNA 可能靶定不同的基因,因此,miR-21 发挥作用可能并不仅限于上述基因,结合生物信息学及生物芯片的筛选技术,深入挖掘 miR-21 的其他靶基因将是医学科技工作者下一步的研究目标;在治疗上,反义寡核苷酸技术虽已渐趋成熟,但大多数还是处于一些体外试验和动物实验阶段,若要在临床上作研究,存在一些亟待解决的问题,首先在技术应用上寡核苷酸的稳定性有待于提高、半衰期需延长、作用机制要求作进一步剖析,再者临床应用剂量和作用时间及对降解产物毒性的作用研究、靶基因的选择及应用反义核酸的最佳时间等都需要作深入的研究。尽管如此,miRNA 在肿瘤的研究中必将具有广阔的前景,将为人类攻克肿瘤这一难题开辟新的视野。

参考文献:

- [1] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNAome[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(10):3687.
- [2] 周凡,庄诗美. microRNA 与肿瘤[J]. 生命科学, 2008, 20(2):207.
- [3] 石剑锋,马晓东. 脑胶质瘤的分子生物学研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13(5):446.
- [4] Si ML, Zhu S, Wu H, et al. MiR-21-mediated tumor

growth[J]. Oncogene, 2007, 26(19):2799.

- [5] Zhu SM, Si ML, Wu HL, et al. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1)[J]. J Biol Chem, 2007, 282(19):14328.
- [6] Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an anti-apoptotic factor in human glioblastoma cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(14):6029.
- [7] Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 334(4):1351.
- [8] Deorah S, Lynch CF, Sibenaller ZA, et al. Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973 to 2001[J]. Neurosurg Focus, 2006, 20(4):1.
- [9] 赵理乐,杨玉山. 脑胶质瘤的临床治疗前景展望[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(2):113.
- [10] Corsten MF, Miranda R, Kasmieh R, et al. MicroRNA-21 knockdown disrupts glioma growth in vivo and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell-delivered s-TRAIL in human gliomas[J]. Cancer Res, 2007, 67(19):8994.
- [11] 孙继勇,蔺玉昌,黄强. 胶质瘤中分化相关基因的表达研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2005, 26(10):1123.
- [12] 王芳,孟颖,刘民,等. MicroRNA-21 反义寡核苷酸可以抑制 U373MG 细胞对替尼泊苷 VM26 的耐受性[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2008, 24(7):674.
- [13] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer [J]. Gastroenterology, 2007, 133(2):647.
- [14] Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(7):2257.

(收稿日期:2009-08-15 修回日期:2009-09-28)

· 综 述 ·

肝移植术后胆道并发症病因学探讨

窦海鹏 综述,张金辉 审校

(新疆医科大学第一附属医院腔镜肝移植科,乌鲁木齐 830054)

关键词:肝移植;胆道并发症;病因

中图分类号:R657.3;R619

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)08-0995-03

近年来,国内肝移植患者数量不断增加,疗效也在不断提高。但肝移植术后胆管并发症的发生率仍徘徊在 7%~30%,与胆管并发症相关的病死率为 6.0%~12.5%。肝移植术后的胆道并发症(biliary complications,BC)通常是指具有临床表现又有放射学依据、需行介入治疗或手术治疗的胆道狭窄、梗阻、胆漏及胆栓/泥形成等,其病因包括肝移植术式的选择、胆道重建方式、胆道吻合技术、T 管的留置、缺血再灌注损伤、供肝灌洗、胆道灌洗、供肝胆管的修整、供肝动脉微小分支微血栓

形成、供受体 ABO 血型不合、免疫排斥反应及免疫抑制剂的应用、细菌及病毒感染、原发疾病、动脉窃血综合征等。因此,正确认识胆道并发症并采取有效对策在临床上越来越受到重视。

1 病 因

1.1 手术方式

1.1.1 肝移植术式 肝移植为治疗终末期肝脏疾病的有效手段,但移植界多年来一直面临供肝来源短缺的难题,为缓解受体需求和供体短缺之间的矛盾,近年开展了一系列新术式来拓

展供肝来源,如活体部分肝移植、劈裂式肝移植、减体积式肝移植和背驮式原位肝移植。其中以以前 2 种术式术后胆道并发症率较高。Wojcicki 等^[1]报道右叶劈裂式肝移植术后胆道并发症的发生率为 26%,且主要为肝断面瘘(11%)。Fan 等报道右叶活体部分肝移植术中的胆道并发症发生率高于左叶(15%~64%),其发生可能与手术中过度分离右肝管和右肝动脉间隙,损伤右肝管血供有关。术中吻合胆管的数量也与 BC 发生有关,Ramacciato 等^[2]报道右叶活体部分肝移植术中吻合多根胆管的患者 BC 发生率比吻合单根胆管的患者高。进一步提高肝移植手术的技巧和方法是减低 BC 发生率的关键因素之一。

1.1.2 胆道重建方式 原位肝移植(orthotopic liver transplantation,OLT)术中胆道重建术式的选择一直是讨论的热点。胆总管-胆总管吻合术和胆总管-空肠 Roux-en-Y 吻合术已成为绝大多数肝移植中心采用的标准术式,前者操作简便,符合解剖和生理而成为最常用的胆道重建术式;而后者常被用于受体原有胆道疾病和小儿肝移植术。两者术后胆道并发症发生率分别为 12%~18%和 5%~30%,两者比较差异无统计学意义。有学者采用留置扩展环的精确连续缝合法重建胆道,取得了良好的效果,显著减少了吻合口狭窄的发生率。若为胆肠 Roux-en-Y 吻合,他们还采用了胆管植入式吻合,效果较好。

1.1.3 胆道吻合技术 胆管狭窄及胆瘘多发生于吻合口处,多与吻合技术有关,在肝移植的早期阶段,胆道的重建多采用间断缝合。近年来有研究对胆道缝合方法进行了改进。Liu 等^[3]在一组病例中采用了后壁连续缝合,前壁间断缝合的方法,但没有对这两种方法的并发症进行比较的报道。陈大志等^[4]报道了一种胆肠吻合法——“胆道空肠吻合、乳头成形术”他们报道此吻合法可以良好地避免吻合口狭窄和逆行感染。所以,哪种缝合方法更适合胆道的重建并降低胆道并发症的发生率,还需要进一步的实验和临床研究。

1.1.4 T 管的留置 医学界对于胆道重建后是否放置 T 管一直存在争议。一方面 T 管有助于减少吻合口狭窄和吻合口瘘的发生率,并可通过引流管观察引流量和胆汁质量,亦可利用 T 管实施造影或介入治疗;但另一方面,又增加了 T 管引出口胆汁瘘和拔 T 管后胆瘘的发生率。Scatton 等对多例肝移植患者的前瞻性随机对照研究比较胆总管端端吻合放与不放 T 管的胆道并发症,结果是放 T 管组的胆道并发症(主要是胆管炎)发生率比对照组高,经 T 管行胆管造影的并发症比其他的胆道检查方法高,但两组患者的存活率相似。目前,愈来愈多的移植中心已弃用 T 管,有的给予胆道置管内引流。

1.2 缺血再灌注损伤及供肝保存

1.2.1 缺血再灌注损伤 研究表明,缺血再灌注对肝脏和胆道系统均造成不同程度的损伤,是肝移植术后肝内胆管狭窄、胆泥或絮状物致肝门部狭窄等胆道并发症发生的主要原因。陈志宇等^[5]采用广西巴马小型猪的原位肝移植模型观察供肝冷、热缺血的安全时限对胆道并发症的影响。结果表明,供肝冷、热缺血时间与肝移植术后缺血型胆道病变(ischemic type biliary lesion,ITBL)的发生之间呈明显的正相关。此外,还应缩短门静脉复流至肝动脉开放的时间以尽量避免二次热缺血。有学者报道,在供肝植入后再灌注 60~90 min,胆小管的超微结构就已经发生了明显形态学改变,表现为胆小管截面积增大,内皮细胞平均绒毛数量减少,而这一系列的改变是导致肝移植术后淤胆和胆道狭窄的原因。

1.2.2 供肝灌洗 由于胆道是单一供血,胆道血供高度依赖于胆道周围的毛细血管丛,因而对供肝的胆道周围毛细血管丛

应灌洗彻底。Pirenne 等对不同腹主动脉灌注方式肝移植术后胆道狭窄的发生率进行了回顾性分析,认为不同的供肝灌注液显著影响肝移植术后患者胆管狭窄发生率、移植肝功能、患者生存率,差异有统计学意义。但最近郑卫萍等^[6]研究发现 UW 液、Celsior 液和 HTK 液在术后胆道并发症差异无统计学意义。有学者认为冲洗压力(而非低黏滞度)才是保证胆道周围毛细血管充分灌洗的关键。

1.2.3 胆道灌洗 供肝保存期间,肝内残余胆汁对胆管上皮有毒性损伤作用,胆盐可以加重缺血对胆道的损害,是术后胆道并发症发生的重要因素。因此,应对供肝胆管进行充分灌洗,尽量排净肝内残余胆汁。但张峰等^[7]在活体肝移植供肝切取时没有十分重视胆道冲洗,术后的胆道并发症并不高,并且认为在低温情况下并不能把胆管内尤其是三级以上胆管内的胆汁彻底冲洗干净,由此并不认为对胆囊和胆总管冲洗可以明显减少胆道并发症的发生。张生彬等^[8]认为常规的灌注保存液 UW 液比较黏稠,很难对细小胆管进行彻底冲洗,因此,无法避免细小胆管内的胆汁滞留。其对 15 例原位肝移植病例的临床资料回顾分析显示:15 例肝移植患者中前 8 例用 UW 液冲洗胆道,有 3 例发生胆道并发症,发生率为 37.5%。经改进,后 7 例早期先用林格液彻底冲洗胆道,再用 UW 液灌注保存,仅 1 例发生胆道并发症,发生率为 14.3%。故其认为在切取供体时用大约 200 mL 林格液彻底冲洗胆道系统,是一种有效的降低胆道并发症的方法。因此,胆道彻底及时的冲洗非常重要。

1.2.4 供肝胆管的修整 供肝的胆道没有侧支循环,修肝时对肝外胆管修整过于干净,会破坏胆道周围血管网,引起胆瘘或胆道狭窄。故修肝时应尽量保留肝外胆管周围的软组织,严禁烧灼,并尽可能缩短供肝肝外胆管的长度,减少因供肝侧肝外胆管缺血引起的吻合口瘘或肝外胆管狭窄等的发生率。此外,肝动脉变异较常见,因此,修肝时避免误伤变异肝动脉,手术中不宜过多地剥离胆管周围,尤其胆管的两侧,即注意保护 3、9 点边缘血管,结扎胆囊动脉尽量靠胆囊壁,以免损伤肝右动脉。其次,修肝时应警惕变异胆管的存在。修剪胆囊管和胆囊动脉时应避免误伤或遗漏副肝管。

1.3 供肝动脉微小分支微血栓形成 供肝动脉滋养胆管的小分支微血栓形成导致胆管供血不足而引起胆管坏死。廖毅等^[9]回顾性分析 24 例不置 T 管胆总管对端吻合式(choledochodochostomy without a T tube,CC)的肝移植患者临床资料,其中 14 例供体心跳停止前 0.5~1.0 h 肌注肝素针 200 mg 作全身肝素化,术后发生早期胆管坏死 2 例,10 例供体心跳停止前肌注肝素针 200 mg 加静脉注射肝素针 200 mg 作肝素化,无 1 例发生胆管坏死($P<0.01$)。2 例胆管坏死中 1 例再次手术时供肝左右肝管汇合处见 1 cm×1 cm 大小肝实质坏死,为肝动脉微小分支栓塞所致,故他们认为可能与供体术前未能充分肝素化,导致血流停止后肝动脉滋养胆管的小分支微血栓形成有关。

1.4 供受体 ABO 血型不合 ABO 血型不匹配的肝移植,受者体内的抗体引发单器官毛细血管内凝血(disseminated intravascular coagulation,DIC),破坏胆道系统周围微循环血供导致胆管局灶性坏死,可致胆管狭窄、闭塞、消失。Ben-Ari 等研究发现移植后肝内胆管上皮细胞的 ABO 血型抗原可持续表达 150 d,ABO 血型不符的肝移植弥漫性肝内胆管狭窄发生率高达 82%。Nakamura 等^[10]报道在 ABO 血型不合的活体肝移植中,采取围手术期多次行血浆置换疗法、脾切除、常规免疫抑

制剂〔他克莫司(FK506)、甲泼尼龙和环磷酰胺〕联合术后经肝动脉注入前列地尔等手段,可有效防治体液性排斥反应和局部弥漫性血管内凝血的发生。Warner 等^[11]研究发现,经过正确的围手术期处理,ABO 血型不合的原位肝移植(OLT)术患者与经典 OLT 术患者的 5 年生存率及移植存活时间没有明显差别。

1.5 术后感染与免疫反应

1.5.1 免疫排斥反应及免疫抑制剂的应用 肝移植术后患者发生排斥反应很常见,其攻击的主要对象即为胆管。急性排斥反应(acute rejection, ACR)是肝移植排斥反应中最常见者,移植免疫学研究表明 ACR 早期主要损害结缔组织鞘(Gillison 鞘)内结构,即血管内皮和胆管上皮细胞,胆管上皮细胞往往成为肝移植急性排斥中最重要的靶细胞。免疫抑制剂用量不足是 ACR 发生的主要原因,因而 ACR 的预防关键在于免疫抑制剂的选择和药物浓度的调整。但免疫抑制剂可抑制纤维组织增生和血管生成,降低胆管上皮细胞再生,延迟胆管吻合口愈合;加重巨细胞病毒感染和损害,增加胆道并发症的发生率。因此,免疫抑制剂的应用要考虑这两方面的关系。寻找一些预测肝移植术后 ACR 的实验指标对免疫抑制剂的应用有一定的指导作用。张波等^[12]报道血清肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)和血清白介素 10(interleukin 10, IL-10)水平的动态监测有望作为肝移植术后预测排斥反应的两种早期快速非侵袭性的实验诊断指标。慢性排斥反应(chronic rejection, CR)可造成胆管缺血,引起胆管的狭窄、闭塞,最终导致移植肝内胆管消失,被称为“胆管消失综合征”,必须行再次肝移植。

1.5.2 细菌及病毒感染 巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染是肝移植术后最常见的病毒感染,总的发生率为 30%~50%,多发生于术后 1~4 个月。Halme 等^[13]报道胆道并发症患者 75%有巨细胞病毒抗原血症,且在患者的十二指肠黏膜上皮细胞和胆管壁白细胞中找到巨细胞病毒涵体,胆管上皮细胞检测到巨细胞病毒 DNA,因而提出巨细胞病毒感染是胆道并发症的病因之一。而且由于该病毒同时抑制受者的免疫功能,故易增加其他条件致病菌的感染率,从而提高术后早期并发症的发生率。Hellinger 等^[14]报道,接受 CMV 供肝患者阳性组的术后 CMV 感染率明显高于 CMV 阴性组。然而, Hoppe 等^[15]报道 CMV 感染对肝移植患者的 5 年生存率没有影响。预防性使用更昔洛韦可以减低术后 CMV 的感染率。

1.6 动脉窃血综合征与胆道并发症 动脉窃血综合征(arterial steal syndrome, ASS)以移植动脉低灌注为特征,入肝血液向脾动脉或胃十二指肠动脉分流,可导致胆管破坏,移植失去功能,目前研究不多。Nussler 等报道 1 250 例原位肝移植中,69 例发生 ASS,表现为肝酶谱升高、移植损伤及胆汁淤积。脾动脉捆绑是目前并发症最少的有效治疗手段,并且可作预防性应用。

1.7 其他因素 Oddi 括约肌去神经支配和去血管化、供受者胆管口径不匹配、长时间全身性低血压、供肝质量差(如边缘供肝)等因素亦可导致胆道并发症的发生。

2 结 语

总之,肝移植术后产生胆道并发症的原因很多,作用机制复杂,而且往往是多因素共同作用,相互影响。关于 BC 的致

病因素及发病机制的进一步研究将有助于预防和减少 BC 的发生,提高肝移植患者的生存率和生活质量。

参考文献:

- [1] Wojcicki M, Silva MA, Jethwa P, et al. Biliary complications following adult right lobe ex vivo split liver transplantation[J]. Liver Transpl, 2006, 12: 839.
- [2] Ramacciato G, Varotti G, Quintini C, et al. Impact of biliary complications in right lobe living donor liver transplantation[J]. Transpl Int, 2006, 19: 122.
- [3] Liu CL, Lo CM, Chan SC, et al. Safety of duct-to-duct biliary reconstruction in right-lobe live-donor liver transplantation without biliary drainage[J]. Transplantation, 2004, 77(5): 726.
- [4] 陈大志, 贺强, 郎韧. 肝移植胆道并发症成因和防治要点[J]. 中华肝胆外科杂志, 2005, 11(9): 577.
- [5] 陈志宇, 李晓武, 董家鸿. 肝移植术后缺血型胆道病变[J]. 肝胆外科杂志, 2005, 13(1): 75.
- [6] 郑卫萍, 沈中阳, 朱志军, 等. 肝移植 3 种器官保存液的比较研究[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(18): 2704.
- [7] 张峰, 王学浩, 李相成, 等. 肝移植术后胆道并发症病因分析[J]. 中华肝胆外科杂志, 2006, 12(4): 237.
- [8] 张生彬, 赵金, 张阳德, 等. 原位肝移植术后胆道并发症的防治[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(10): 1420.
- [9] 廖毅, 张启瑜, 虞冠锋, 等. 24 例不置 T 管胆总管对端吻合式肝移植术后胆道并发症的病因分析[J]. 肝胆胰外科杂志, 2007, 19(1): 12.
- [10] Nakamura Y, Matsuno N, Iwamoto H, et al. Successful case of adult ABO-incompatible liver transplantation: beneficial effects of intrahepatic artery infusion therapy: a case report[J]. Transplant Proc, 2004, 36: 2269.
- [11] Warner PR, Nester TA. ABO-incompatible solid-organ transplantation[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125: 87.
- [12] 张波, 府伟灵, 王璐, 等. 血清白介素 10(IL-10)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平的动态检测在早期预测肝移植术后急性排斥反应中的作用[J]. 重庆医学, 2003, 32(12): 1634.
- [13] Halme L, Hockerstedt K, Lautenschlager I. Cytomegalovirus infection and development of biliary complications after liver transplantation[J]. Transplantation, 2003, 75(11): 1853.
- [14] Hellinger WC, Bonatti H, Machicao VI, et al. Effect of antiviral chemoprophylaxis on adverse clinical outcomes associated with cytomegalovirus after liver transplantation[J]. Mayo Clin Proc, 2006, 81: 1029.
- [15] Hoppe L, Marroni CA, Bressane R, et al. Impact of cytomegalovirus infection on long-term survival after orthotopic liver transplantation[J]. Transplant Proc, 2006, 38(6): 1924.