

肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究

闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李 青, 胡沛臻, 王文亮

闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮, 中国人民解放军第四军医大学西京医院病理科 陕西省西安市 710033

闫庆国, 男, 1968-08-20 生, 安徽省霍山县人, 汉族. 1992 年第四军医大学本科毕业, 2000 年第四军医大学博士研究生毕业, 讲师. 主要从事肿瘤分子病理研究.

国家自然科学基金资助课题, No.39270744

项目负责人: 王文亮, 710033, 陕西省西安市长乐西路 169 号, 中国人民解放军第四军医大学西京医院病理科. wlwang@fmmu.edu.cn

电话: 029-3375497 传真: 029-3224161

收稿日期: 2003-03-06 接受日期: 2003-03-25

In situ quantitative study of BAG-1 and BAD in extrahepatic cholangiocarcinoma

Qing-Guo Yan, Jian-Guo Shi, Gao-Sheng Huang, Chuan-Shan Zhang, Qing Li, Pei-Zhen Hu, Wen-Liang Wang

Qing-Guo Yan, Jian-Guo Shi, Gao-Sheng Huang, Chuan-Shan Zhang, Qing Li, Pei-Zhen Hu, Wen-Liang Wang, Department of Pathology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China

Supported by National Natural Science Foundation, No. 39270744

Correspondence to: Wen-Liang Wang, Department of Pathology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, No.169 Changle West Road, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China. wlwang@fmmu.edu.cn

Received: 2003-03-06 Accepted: 2003-03-25

Abstract

AIM: To detect the expression of apoptosis related proteins BAG-1 and BAD and to investigate their functions of apoptosis modulation and relations to tumor differentiation in extrahepatic cholangiocarcinoma.

METHODS: Quantitative *in situ* methods of DAKO Envision™ Systems immunohistochemistry in combination with computer-assisted image analysis and apoptotic cells counting were used to observe the expression levels of BAG-1 and BAD and the apoptosis indexes in 42 cases of extrahepatic cholangiocarcinoma.

RESULTS: The expression levels of BAG-1 and BAD were measured with average absorbance (A) derived from the quantitative image analysis. Among 24, 13 and 5 cases of well, moderately and poorly differentiated extrahepatic cholangiocarcinomas, the average A of BAG-1 was respectively 0.068 ± 0.037 , 0.112 ± 0.057 and 0.152 ± 0.062 , of BAD was respectively 0.079 ± 0.053 , 0.138 ± 0.058 and 0.165 ± 0.061 , and the apoptotic indexes examined in the hematoxylin-and-eosin-stained specimens were respectively 1.1 ± 0.5 , 1.7 ± 0.3 and 3.5 ± 1.3 . The expression levels of BAG-1 and BAD and the apoptotic indexes were increased obviously from well, moderately to poorly differentiated extrahepatic cholangiocarcinoma ($P < 0.05$). The expression level of BAD was correlated to the apoptotic indexes ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Expressions of BAG-1 and BAD and apoptosis indexes were all associated with differentiation of extrahepatic cholangiocarcinoma. BAG-1 and BAD may take part in the apoptosis modulation of the tumor.

Yan QG, Shi JG, Huang GS, Zhang CS, Li Q, Hu PZ, Wang WL. *In situ* quantitative study of BAG-1 and BAD in extrahepatic cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(8):1144-1147

摘要

目的:检测凋亡相关蛋白BAG-1与BAD在肝外胆管癌中的表达,探讨BAG-1与BAD在肝外胆管癌细胞凋亡调控中的作用以及与胆管癌分化的关系。

方法:采用免疫组织化学方法(DAKO EnVision™ Systems),结合计算机图像分析与凋亡细胞计数,在组织原位定量检测42例肝外胆管癌的凋亡状况及BAG-1与BAD蛋白的表达水平。

结果:在24例高分化、13例中分化和5例低分化的肝外胆管癌中,免疫组化定量检测显示BAG-1阳性染色的平均吸光度值分别为 0.068 ± 0.037 , 0.112 ± 0.057 和 0.152 ± 0.062 ;BAD阳性染色的平均吸光度值分别为 0.079 ± 0.053 , 0.138 ± 0.058 和 0.165 ± 0.061 ,HE染色计数典型凋亡细胞的指数分别为 1.1 ± 0.5 , 1.7 ± 0.3 和 3.5 ± 1.3 。BAG-1、BAD的表达水平及凋亡指数在高、中、低分化的肝外胆管癌中逐级增加($P < 0.05$),凋亡指数与BAD的表达呈正相关($P < 0.01$),表明凋亡相关的BAG-1和BAD蛋白的表达与肝外胆管癌的分化程度有关,且二者可能参与了其凋亡的调控。

结论:在肝外胆管癌中,凋亡相关蛋白BAG-1和BAD的表达及凋亡指数与肿瘤的分化有关。BAG-1和BAD均有可能参与其凋亡调控。

闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮. 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究. 世界华人消化杂志 2003; 11(8):1144-1147

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1144.asp>

0 引言

胆管癌(cholangiocarcinoma)可分为肝内和肝外胆管癌,前者又称肝内胆管细胞癌,与肝细胞肝癌合称为原发性肝癌,有关的凋亡研究已经较为深入^[1-4],而对肝外胆管癌的凋亡研究则相对薄弱;特别是肝外胆管癌在我

国的发病率呈上升趋势, 因此加强对其凋亡调控的研究, 在我国尤其具有重要意义. 目前已知有多种凋亡相关因子参与胆管癌的细胞凋亡调控^[5-13], 其中 Bcl-2 家族的成员发挥重要作用^[12,13]. BAG-1 和 BAD 是 Bcl-2 家族中相对较晚发现的凋亡调控分子, 具有多种生物学作用^[14-25], 其在肝外胆管癌中的表达及其意义, 目前尚不清楚. 我们应用免疫组化技术结合计算机图像分析和凋亡细胞计数, 检测了肝外胆管癌中细胞凋亡状况及 BAG-1 与 BAD 的表达, 探讨其表达与肝外胆管癌凋亡及分化的关系, 为胆管癌的凋亡机制研究提供一定的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 肝外胆管癌 42 例为西京医院外科手术标本, 其中高分化胆管癌 24 例, 中分化 13 例, 低分化 5 例. 标本均经 40 g/L 中性甲醛固定, 石蜡包埋, HE 染色, 病理诊断证实. 兔抗人 BAG-1, BAD 多克隆抗体购自博士德公司, DAKO EnVision™ Systems (k4001) 免疫组化检测试剂盒购自 DAKO 公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组化检测 石蜡切片常规脱蜡至水, 30 mL/L H₂O₂ 甲醇封闭内源性过氧化物酶活性, RT 30 min; 10 mmol/L 柠檬酸缓冲液中(pH 6.0), 微波修复抗原; 3 g/L BSA 封闭非特异性背景, 37 °C 30 min; 加兔抗人 BAG-1, BAD 多克隆抗体(1 : 50), 4 °C 过夜; 37 °C 复温 1 h; 加 DAKO EnVision™ Systems 试剂, 37 °C 30 min; 以上各步骤间均用 0.01 mol/L pH7.4 PBS 缓冲液洗, 5 min×3; DAB 呈色, 苏木精衬染, 脱水、透明, 中性树脂封片, 镜下观察. 同时设立已知阳性对照、空白对照及正常未免疫兔血清替代对照. 免疫组化结果的定量分析采用 CMIA007 真彩色医学图像计算机分析系统, 对每例组织切片随机选取 5 个视野, 阳性标本选取阳性细胞区域, 通过显微摄像系统将选取的视野送入计算机, 分别进行真彩色图像分析, 取平均吸光度值作为该组织切片的免疫组织化学染色强度定量指标^[26]. 每次测量前均以空白对照切片为标准重新调节光源以达到统一的空白阈值.

1.2.2 凋亡细胞计数 参照 Higaki et al (Am J Pathol 1996; 149:429)的方法, 在 HE 染色组织中根据形态学特征识别典型凋亡细胞, 计算凋亡指数 AI. HE 切片中凋亡细胞的形态特征为单个的细胞收缩变小, 与周围组织分离; 胞质均匀粉染, 弱嗜伊红; 核固缩或碎裂; 周围无炎细胞反应. 在 400× 视野下任取 10 个视野, 用目镜网格测微计数每个视野中的凋亡细胞数和癌细胞数, 然后计算出每例平均凋亡细胞数(∑ 1)和癌细胞数(∑ 2), 最后用公式计算出平均每例 AI. 公式为: AI = [∑ 1 / ∑ 2]×100 %.

2 结果

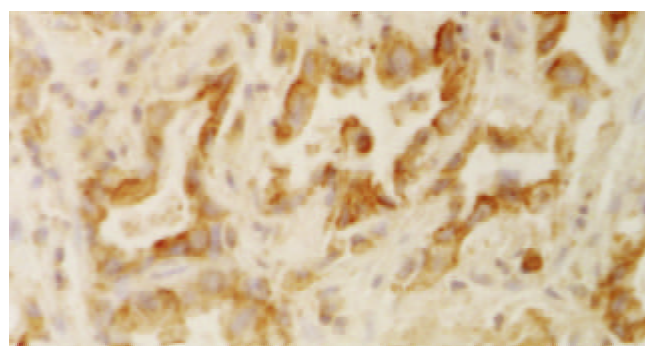
免疫组化检测 BAG-1 和 BAD 的阳性信号为棕黄色颗粒

状, 主要位于细胞质, 其中 BAG-1 可以出现少量胞核着色, 阳性细胞在癌组织中弥漫性分布(图 1). 在高、中、低分化肝外胆管癌中, BAG-1 和 BAD 的阳性检出率均随肿瘤分化的降低而增高, 图像定量分析结果表明高、中分化与中、低分化胆管癌之间 BAG-1 和 BAD 的表达水平存在显著性差异(分别为 P < 0.01 和 P < 0.05), 说明 BAG-1 和 BAD 的阳性表达与组织分化程度相关, 组织分化程度高, BAG-1, BAD 表达阳性信号弱; 组织分化程度低, BAG-1, BAD 表达阳性信号强. 在检测 BAG-1, BAD 的表达情况同时, 我们还在 HE 染色切片中检测了肝外胆管癌的凋亡指数 AI, 结果表明在高、中、低分化胆管癌中 AI 随肿瘤的分化降低而增高(P < 0.01). 相关分析显示肝外胆管癌的凋亡指数与 BAD 的表达水平间呈正相关(r = 0.561, P < 0.01, 表 1).

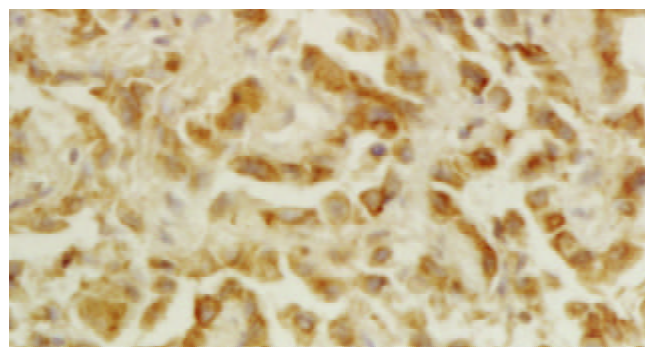
表 1 肝外胆管癌中的 AI 及 BAG-1 和 BAD 在癌组织中的表达

组别	n	AI(%)	BAG-1 positive		BAD positive			
			n	Rate(%)	A($\bar{x} \pm s$)	n	Rate(%)	A($\bar{x} \pm s$)
高分化	24	1.1±0.5	10	41.7	0.068±0.037	11	45.8	0.079±0.053
中分化	13	1.7±0.3 ^b	7	53.8	0.112±0.057 ^b	8	61.5	0.138±0.058 ^b
低分化	5	3.5±1.3 ^b	3	60.0	0.152±0.062 ^a	4	80.0	0.165±0.061 ^a

^aP < 0.05, ^bP < 0.01, 低分化 vs 中分化, 中分化 vs 高分化 (t test)



A: BAG-1



B: BAD

图 1 肝外胆管癌中 BAG-1 和 BAD 的表达与分布, DAKO EnVision™ Systems 法 ×400.

3 讨论

BCL-2 家族成员在细胞凋亡调控中占据特殊的地位,

在多种肿瘤中都具有重要的作用^[27-30]。BAG-1 (BCL-2 athanogene-1)最初克隆时发现他是一种BCL-2结合的抗凋亡分子,为BCL-2家族成员之一,其后研究表明他是一种多功能蛋白^[14-21],它具有拮抗PDGF和HGF介导的凋亡作用,可与肝细胞生长因子受体结合形成复合物,诱导凋亡后此复合物迅速增加;其次,BAG-1还可以与RAF-1激酶、SIAH-1、类固醇激素受体、调节分子伴侣HSP70等多种蛋白发生作用;此外,BAG-1蛋白还具有与细胞骨架蛋白作用,促进肿瘤细胞迁移的功能。但凋亡调控作用仍是其诸多功能中最为重要的。BAD是首先从鼠的cDNA文库克隆鉴定出的促凋亡基因,其后又克隆出人的同源基因,他属于BCL-2家族成员。双杂交和序列分析显示BAD与BCL-2和BCL-xl结合,具有促进凋亡作用,故名BAD (BCL-xl/BCL-2-associated death promoter),他存在BCL-2家族成员BH-3同源结构域和序列,这是BAD与BCL-2家族蛋白结合所必须的^[24,25]。BAG-1和BAD作为调控细胞凋亡的重要成员,其在肿瘤中的研究一直受到重视。暨往的研究发现多种凋亡相关蛋白在胆管癌中的表达都与肿瘤的分化存在一定的关系,BAG-1和BAD是否在肝外胆管癌中也有表达,其表达水平与凋亡状况及肿瘤分化间有无关系,值得探讨。

BAG-1在大部分正常人体组织表达很弱或不表达,但在大多数肿瘤细胞系,如白血病、乳腺癌、前列腺癌、直肠癌等均有表达,表明BAG-1表达与肿瘤的恶性转化密切相关。BAG-1在各种肿瘤中的表达具有不同的意义。Townsend et al^[17]研究发现160例乳腺癌中92% BAG-1免疫组化阳性;Turner et al^[18]发现BAG-1在乳腺癌中表达较正常乳腺增强,且有意义的是表达强者长期生存率高和无转移生存时间长。Rorke et al^[19]则发现BAG-1表达与非小细胞肺癌的预后有关,胞质强阳性者预后较好。Shindoh et al^[20]发现在鳞状细胞癌中转移的病例较未转移者表达高,在高级别的较低级别的表达高。本实验中BAG-1在高中低分化的肝外胆管癌中的表达阳性率和定量检测的表达水平逐渐增强,表明细胞分化越低,BAG-1的表达越趋于增强,此结果与乳腺癌^[17,18]和鳞状细胞癌^[20]中的情况相似,这可能由于较低分化的肿瘤恶性程度较高,相应的抗凋亡机制也有所增强,因此抗凋亡蛋白的表达较强。在较低分化的胆管癌中细胞凋亡指数较高,而抗凋亡蛋白BAG-1的表达较强,这似乎是矛盾的,但实际上凋亡调控是一个复杂的网络,细胞凋亡是众多抗凋亡和促凋亡蛋白表达产物综合作用的结果。

BAD在多种肿瘤中的表达及其作用的研究已有较多报道。例如,Ichinose et al^[22]发现BAD蛋白磷酸化后失活,失活后的BAD可加剧胶质母细胞瘤和前列腺癌的恶性转化。Kohler et al^[23]则发现BAX和BAD的高表达与急性白血病的预后不良相关,可以作为一个预后指标。在BCL-2和BCL-xl过表达的情况下,BAD可直接诱导凋亡,具有治疗意义^[24];在直肠癌组织中BAD与

BCL-2的异二聚体减少有助于癌的进展,促凋亡的BAX和BAD与抗凋亡的BCL-2和BCL-xl竞争性形成二聚体调节凋亡^[25]。本研究中BAD在肝外胆管癌中的表达阳性率及定量检测的表达水平呈现出肿瘤分化越低表达越强的特征,而BAD作为一种促凋亡蛋白,其表达产物发挥促凋亡作用,这与在较低分化的肝外胆管癌中肿瘤细胞的凋亡指数也逐渐增多是一致的。

4 参考文献

- 1 Tannapfel A, Wittekind C. Genes involved in hepatocellular carcinoma: deregulation in cell cycling and apoptosis. *Virchows Arch* 2002;440:345-352
- 2 Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:385-392
- 3 Shan CM, Li J. Study of apoptosis in human liver cancers. *World J Gastroenterol* 2002;8:247-252
- 4 Wang BY. Apoptosis and liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:425-427
- 5 Li ZY, Zou SQ. Fas counterattack in cholangiocarcinoma: a mechanism for immune evasion in human hilar cholangiocarcinomas. *World J Gastroenterol* 2001;7:860-863
- 6 Okuda K, Nakanuma Y, Miyazaki M. Cholangiocarcinoma: current progress. Part 2: molecular pathology and treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:1056-1063
- 7 Ahn EY, Pan G, Vickers SM, McDonald JM. IFN-gamma upregulates apoptosis-related molecules and enhances Fas-mediated apoptosis in human cholangiocarcinoma. *Int J Cancer* 2002;100:445-451
- 8 Nzeako UC, Guicciardi ME, Yoon JH, Bronk SF, Gores GJ. COX-2 inhibits Fas-mediated apoptosis in cholangiocarcinoma cells. *Hepatology* 2002;35:552-559
- 9 Kanno N, Glaser S, Chowdhury U, Phinizz JL, Baiocchi L, Francis H, LeSage G, Alpini G. Gastrin inhibits cholangiocarcinoma growth through increased apoptosis by activation of Ca²⁺-dependent protein kinase C- α . *J Hepatol* 2001;34:284-291
- 10 Utasincharoen P, Tangthawornchaikul N, Ubol S, Chaisuriya P, Sirisinha S. TNF- α induces caspase 3 (CPP 32) dependent apoptosis in human cholangiocarcinoma cell line. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000;31:167-170
- 11 Fan XG. A new candidate for apoptosis-trail. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:84-85
- 12 Okaro AC, Deery AR, Hutchins RR, Davidson BR. The expression of antiapoptotic proteins Bcl-2, Bcl-X(L), and Mcl-1 in benign, dysplastic, and malignant biliary epithelium. *J Clin Pathol* 2001;54:927-932
- 13 Ito Y, Takeda T, Sasaki Y, Sakon M, Monden M, Yamada T, Ishiguro S, Imaoka S, Tsujimoto M, Matsuura N. Bcl-2 expression in cholangiocellular carcinoma is inversely correlated with biologically aggressive phenotypes. *Oncology* 2000;59:63-67
- 14 Lin J, Hutchinson L, Gaston SM, Raab G, Freeman MR. BAG-1 is a novel cytoplasmic binding partner of the membrane form of heparin-binding EGF-like growth factor: a unique role for proHB-EGF in cell survival regulation. *J Biol Chem* 2001;276:30127-30132
- 15 Cutress RI, Townsend PA, Brimmell M, Bateman AC, Hague A, Packham G. BAG-1 expression and function in human cancer. *Br J Cancer* 2002;87:834-839
- 16 Hague A, Packham G, Huntley S, Shefford K, Eveson JW. Deregulated BAG-1 protein expression in human oral squamous cell carcinomas and lymph node metastases. *J Pathol* 2002;197:60-71
- 17 Townsend PA, Dublin E, Hart IR, Kao RH, Hanby AM, Cutress RI, Poulson R, Ryder K, Barnes DM, Packham G. BAG-1 expression in human breast cancer: interrelationship between BAG-1 RNA, protein, HSC70 expression and clinico-pathological data. *J Pathol* 2002;197:51-59
- 18 Turner BC, Krajewski S, Krajewska M, Takayama S, Gumbs AA, Carter D, Rebbeck TR, Haffty BG, Reed JC. BAG-1: a novel biomarker predicting long-term survival in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:992-1000
- 19 Rorke S, Murphy S, Khalifa M, Chernenko G, Tang SC. Prognostic significance of BAG-1 expression in nonsmall cell lung

- cancer. *Int J Cancer* 2001;95:317-322
- 20 Shindoh M, Adachi M, Higashino F, Yasuda M, Hida K, Nishioka T, Ono M, Takayama S, Reed JC, Imai K, Totsuka Y, Kohgo T. BAG-1 expression correlates highly with the malignant potential in early lesions (T1 and T2) of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2000; 36: 444-449
- 21 Tang SC. BAG-1, an anti-apoptotic tumour marker. *IUBMB Life* 2002;53:99-105
- 22 Ichinose M, Liu XH, Hagihara N, Youle RJ. Extracellular BAD fused to toxin transport domains induces apoptosis. *Cancer Res* 2002;62:1433-1438
- 23 Kohler T, Schill C, Deininger MW, Krahl R, Borchert S, Hasenclever D, Leiblein S, Wagner O, Niederwieser D. High BAD and Bax mRNA expression correlate with negative outcome in acute myeloid leukemia (AML). *Leukemia* 2002;16:22-29
- 24 Schimmer AD, Hedley DW, Pham NA, Chow S, Minden MD. BAD induces apoptosis in cells over-expressing Bcl-2 or Bcl-xL without loss of mitochondrial membrane potential. *Leuk Lymphoma* 2001;42:429-443
- 25 Hattori T, Ookawa N, Fujita R, Fukuchi K. Heterodimerization of Bcl-2 and Bcl-X(L) with Bax and BAD in colorectal cancer. *Acta Oncol* 2000;39:495-500
- 26 Esteva FJ, Hortobagyi GN, Sahin AA, Smith TL, Chin DM, Liang SY, Pusztai L, Buzdar AU, Bacus SS. Expression of erbB/HER receptors, heregulin and P38 in primary breast cancer using quantitative immunohistochemistry. *Pathol Oncol Res* 2001;7:171-177
- 27 Hou L, Li Y, Jia YH, Wang B, Xin Y, Ling MY, L S. Molecular mechanism about lymphogenous metastasis of hepatocarcinoma cells in mice. *World J Gastroenterol* 2001;7:532-536
- 28 Li HL, Chen DD, Li XH, Zhang HW, Lu YQ, Ye CL, Ren XD. Changes of NF-kB, p53, Bcl-2 and caspase in apoptosis induced by JTE-522 in human gastric adenocarcinoma cell line AGS cells: role of reactive oxygen species. *World J Gastroenterol* 2002;8:431-435
- 29 Guo XZ, Shao XD, Liu MP, Xu JH, Ren LN, Zhao JJ, Li HY, Wang D. Effect of bax, bcl-2 and bcl-xL on regulating apoptosis in tissues of normal liver and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:1059-1062
- 30 Okaro AC, Fennell DA, Corbo M, Davidson BR, Cotter FE. Pk11195, a mitochondrial benzodiazepine receptor antagonist, reduces apoptosis threshold in Bcl-X(L) and Mcl-1 expressing human cholangiocarcinoma cells. *Gut* 2002;51:556-561

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 病例报告 •

慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例

张文瑾, 王晓峰, 赵景民

张文瑾, 王晓峰, 赵景民, 中国人民解放军 302 医院 北京市 100039
项目负责人: 张文瑾, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军 302 医院. weizm@rol.cn.net
电话: 010-66933718
收稿日期: 2003-04-08 接受日期: 2003-05-17

摘要

报告 1 例慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变. 临床上与 Gilbert 综合征较难鉴别. 通过病理检查可以看到肝组织色素沉着较弥散, 并同时伴有炎症损伤改变, 附图片 1 张. 提示治疗上应积极去除病因, 进行适当护肝治疗.

张文瑾, 王晓峰, 赵景民. 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1147

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1147.asp>

1 病例报告

患者, 男, 49 岁. 主因反复乏力、纳差 8 a, 伴右上腹隐痛 6 a, 于 2002-03-05 入院. 患者自 1994 年感乏力纳差, 未行诊治. 1996 年上述症状加重伴右上腹隐痛, 曾化验 ALT 正常, TBIL/DBIL 32.5/8.6 $\mu\text{mol/L}$, 仍未行诊治, 2002-02-25 协和医院查 ALT 正常, TBIL/DBIL 54.4/9.2 $\mu\text{mol/L}$, 为进一步诊治入本院. 患者 1988-1994 年期间, 每天平均饮酒 50 g. 入院查体: T 36 $^{\circ}\text{C}$, P 68 次/min, R 18 次/min, BP 15.7/9.2 KPa, 神志清, 精神可, 巩膜可疑黄染, 肝脾无肿大及触叩痛. 化验: ALT 23 U/L, AST 24 U/L, A/G 1.83, TBIL/DBIL 25.5/5.5 $\mu\text{mol/L}$, ALP 25 U/L, GGT 24 U/L, 甲、乙、丙、丁、戊等多种肝炎病毒指标均阴性. B 超示轻度脂肪肝. 临床诊断酒精性脂肪肝. 肝脏穿刺组织学显示肝小叶 III 带肝细胞轻度大小泡混合性脂肪变性, 区域性肝细胞水样变性, 可见不典型 Mallory 小体, 肝细胞毛细胆管侧可见细的黄褐色色素颗粒沉着; 肝窦周单个核细胞数目增多, 可见单个核细胞及分叶核白细胞(图 1); 汇管区炎症不明显, 无明显扩大, 小叶界板尚完整, 小叶内肝细胞偶见点灶状坏死. 免疫组化 (LSAB 法) HBsAg、HBeAg、HCV NS₃ 及 NS₅ 均为阴性. 病理诊断: 肝细胞轻度脂肪变性, 轻度炎反应, 考虑为酒精性肝损伤轻度, 伴 Gilbert 综合征样改变. 该患者经严格戒酒, 应用易善复、熊胆胶囊治疗后症状明显改善, 近半年来多次复查肝功能

示 ALT 正常, TBIL 持续低于 30 $\mu\text{mol/L}$.

2 讨论

酒精性肝损伤临床上较易见到, 多表现为酒精性脂肪肝, 酒精性肝炎, 酒精性肝硬化三种形式. 此例患者有长期大量饮酒史, 自 1996 年以来血清胆红素升高(以间接胆红素增高为主), 多次检查除外病毒感染, B 超示脂肪肝, 临床诊断酒精性脂肪肝, 肝脏组织学示: 肝细胞轻度脂肪变性, 轻度炎反应, 伴 Gilbert 综合征样改变.

Gilbert 综合征系先天性非溶血性胆红素代谢缺陷疾病之一, 也是临床上最常见的一种家族性黄疸, 以血中非结合胆红素增高为主要特点. 可在感染饮酒等诱因下发病. 发病机制与肝细胞缺乏葡萄糖醛酸转移酶; 肝细胞膜摄取非结合胆红素能力下降; 非结合胆红素附着于白蛋白的分离障碍等有关. 组织学上观察色素沉着集中于毛细胆管周围, 肝组织无明显炎症损伤改变, 预后良好, 无需治疗.

此例酒精性肝损伤所致 Gilbert 综合征样改变, 是由慢性损伤逐渐形成, 肝组织病理发现色素沉着较弥散, 并同时伴有炎症损伤改变, 治疗上应积极去除病因, 进行适当护肝治疗.

一般情况下, 酒精性肝病患者呈现直接胆红素升高为主的肝细胞性黄疸, 而以间接胆红素升高为主的 Gilbert 综合征样黄疸尚少见. 我们检索了近 20 a 有关文献, 未见有类似报道. 因此, 对于临床诊断困难的患者, 积极进行组织学检查, 结合临床及血液生化学检查, 将对患者的诊断治疗及预后提供更加准确的依据.

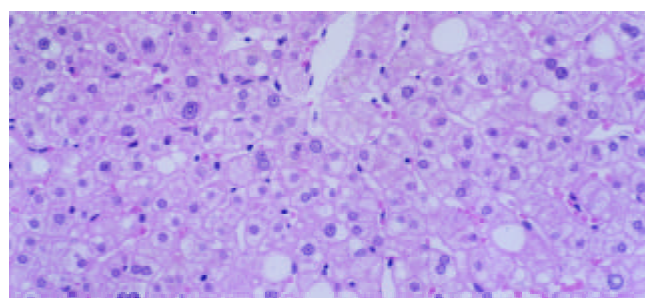


图 1 肝细胞轻度大小泡混合性脂肪变性, 窦周炎细胞浸润, 中央静脉周围肝细胞内可见细色素沉积(HE \times 200).