

论著·临床研究

血清 γ -谷氨酰转肽酶联合直接胆红素 诊断婴儿胆道闭锁的价值

付海燕 赵瑞芹 白革兰 殷春兰 殷润开 李海花 石伟娜
刘亚丽 程丽娟 贾霄云 李桂桂 赵世光

(河北省儿童医院感染消化一科, 河北 石家庄 050031)

[摘要] **目的** 探讨血清 γ -谷氨酰转肽酶 (GGT) 联合直接胆红素 (DB) 对胆道闭锁的诊断价值。**方法** 选取2010年7月至2018年12月住院治疗的胆汁淤积症患者667例为研究对象, 根据术中胆管造影结果和随访情况, 将患儿分为胆道闭锁组 ($n=234$) 和胆汁淤积组 ($n=433$)。比较两组的发病年龄、性别, 以及血清总胆红素 (TB)、DB、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆汁酸 (TBA)、GGT水平。将有统计学意义的指标纳入受试者工作特征曲线 (ROC) 分析, 计算 ROC 曲线下面积 (AUC) 和最佳诊断界值。**结果** 胆道闭锁组患儿发病年龄早于胆汁淤积组 ($P<0.001$)。两组患儿性别、ALT 及 AST 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。胆道闭锁组 TB、DB、TBA、GGT 水平显著高于胆汁淤积组 ($P<0.05$)。GGT 联合 DB 诊断胆道闭锁的 AUC 最大, 为 0.892 (95%CI: 0.868~0.916)。当 GGT 取值为 324.0 U/L, DB 取值为 115.1 $\mu\text{mol/L}$ 时, GGT 与 DB 联合诊断胆道闭锁的敏感度和特异度分别为 79.8%、83.2%。**结论** GGT 联合 DB 诊断胆道闭锁的敏感度和特异度较高, 可作为诊断胆道闭锁的有效指标之一。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(12): 1198-1202]

[关键词] 胆道闭锁; γ -谷氨酰转肽酶; 直接胆红素; 婴儿

Value of serum gamma-glutamyl transpeptidase combined with direct bilirubin in the diagnosis of biliary atresia in infants

FU Hai-Yan, ZHAO Rui-Qin, BAI Ge-Lan, YIN Chun-Lan, YIN Run-Kai, LI Hai-Hua, SHI Wei-Na, LIU Ya-Li, CHENG Li-Juan, JIA Xiao-Yun, LI Gui-Gui, ZHAO Shi-Guang. Department of Infectious and Digestive Diseases, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China (Email: etyfyhy@sina.com)

Abstract: Objective To study the value of serum gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) combined with direct bilirubin (DB) in the diagnosis of biliary atresia. **Methods** A total of 667 infants with cholestasis who were hospitalized and treated from July 2010 to December 2018 were enrolled as subjects. According to the results of intraoperative cholangiography and follow-up, they were divided into biliary atresia group with 234 infants and cholestasis group with 433 infants. The two groups were compared in terms of age of onset, sex, and serum levels of total bilirubin (TB), DB, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bile acid (TBA), and GGT. A receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed for indices with statistical significance, and the area under the ROC curve (AUC) and the optimal cut-off value for diagnosis were calculated. **Results** The biliary atresia group had a significantly younger age of onset than the cholestasis group ($P<0.001$). There were no significant differences in sex, ALT, and AST between the two groups ($P>0.05$), while the biliary atresia group had significantly higher serum levels of TB, DB, TBA, and GGT than the cholestasis group ($P<0.05$). GGT combined with DB had the highest AUC of 0.892 (95% confidence interval: 0.868-0.916) in the diagnosis of biliary atresia. At the optimal cut-off values of 324.0 U/L for GGT and 115.1 $\mu\text{mol/L}$ for DB, GGT combined with DB had a sensitivity of 79.8% and a specificity of 83.2% in the diagnosis of biliary atresia. **Conclusions** GGT combined with DB has high sensitivity and specificity in the diagnosis of biliary atresia and can be used as an effective indicator for diagnosis of biliary atresia in infants.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(12): 1198-1202]

Key words: Biliary atresia; Gamma-glutamyl transpeptidase; Direct bilirubin; Infant

[收稿日期] 2019-07-01; [接受日期] 2019-10-29

[作者简介] 付海燕, 女, 硕士, 副主任医师。Email: etyfyhy@sina.com。

胆道闭锁 (biliary atresia, BA) 是小于 3 月龄婴儿胆汁淤积症的重要原因之一, 表现为肝内外胆管炎症进行性加重, 逐步发展为肝硬化及肝衰竭, 患儿不经治疗多在 1~3 岁左右死亡, 为儿童期肝移植的常见原因^[1-3]。目前诊断 BA 的金标准为剖腹探查或腹腔镜术中胆管造影, 由于尚无统一的标准术前检查流程, 一些诊断困难的非 BA 患儿不得不接受剖腹探查或腹腔镜手术以明确诊断。而且由于上述检查为有创性操作, 在疾病早期家长接受度不高, 导致诊断及治疗的延迟, 影响患儿预后。临床需要简便有效的无创性检查指标为 BA 的早期诊断提供线索。多项研究认为, γ -谷氨酰转肽酶 (gamma-glutamyl transpeptidase, GGT) 显著升高对 BA 的鉴别诊断具有重要作用^[4-9], 但其受到性别、年龄、喂养情况等因素的影响, 单独诊断 BA 的可靠性和准确度仍有待于进一步研究。有研究显示多种指标联合诊断 BA 可具有更好的诊断效能^[10]。Dong 等^[11]发现 GGT、直接胆红素 (direct bilirubin, DB)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 等指标在 BA 组显著升高, 建立了包括 GGT、DB、ALP、性别、体重等 5 个因素在内的 BA 评分模型; Liu 等^[8]也建立了 BA 患儿的评分模型, 选用血清总胆红素 (total bilirubin, TB)、总胆汁酸 (total bile acid, TBA)、DB、GGT 等 10 项指标。但上述评分模型尚需进行大样本验证, 且涉及指标较多, 临床应用存在一定局限性。本研究对 667 例胆汁淤积症患者 TB、DB、GGT、TBA、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 等指标进行分析, 旨在探讨上述生化指标的联合诊断对小于 3 月龄婴儿胆汁淤积症中 BA 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2010 年 7 月至 2018 年 12 月于河北省儿童医院住院治疗的胆汁淤积症患者 667 例为研究对象。其中男 406 例 (60.9%), 女 261 例 (39.1%), 年龄 28~90 d, 中位年龄 54 d。胆汁淤积定义为: TB<5 mg/L 时, DB>1 mg/L; 或 TB>5 mg/L 时, DB 与 TB 的比值 >20%^[12]。

1.2 病因分析

患儿入院后通过各项检查进行病因分析。

(1) 感染因素: 甲肝病毒、乙肝病毒、丙肝病毒、单纯疱疹病毒 - I 型及 II 型、风疹病毒、人类免疫缺陷病毒抗体检测; 梅毒螺旋体、弓形虫抗体检测; 巨细胞病毒、EB 病毒抗体及核酸检测, 血、尿、粪便细菌培养等。(2) 实验室及影像学检查: 包括血氨、乳酸、甲胎蛋白、铁蛋白、血脂、凝血功能、甲状腺功能、自身抗体、免疫球蛋白、血尿串联质谱分析、腹部超声等检查, 了解有无遗传代谢性疾病、自身免疫性疾病、血液肿瘤性疾病等。

(3) 肝穿刺活检: 经家长知情同意后, 部分患儿行经皮肝穿刺活检术, 病理组织送检。(4) 骨髓穿刺: 考虑血液系统疾病患儿行骨髓穿刺检查。

(5) 基因检测: 病因不明确患儿进行全外显子检测。(6) 怀疑 BA 的患儿进行腹腔镜或剖腹探查手术, 术中胆道造影明确诊断。本研究方案经河北省儿童医院伦理委员会审批同意, 并获得患儿监护人知情同意。

1.3 分组

根据病因将患儿分为 BA 组和肝内胆汁淤积组。BA 组患儿经腹腔镜探查或剖腹探查, 术中胆管造影明确诊断, 如接受 Kasai 手术, 术后病理组织镜下观察再次确诊。肝内胆汁淤积组患儿存在胆汁淤积, 经上述检查明确病因, 或未明确病因, 但经治疗病情好转, 随访中胆红素水平恢复正常。

1.4 数据收集与分析

收集患儿未经治疗的首次外周静脉血生化结果, 包括 TB、DB、TBA、GGT、ALT、AST, 评价血生化指标对 BA 的诊断价值。

1.5 统计学分析

采用 Stata 10.0 统计软件对数据进行统计学分析。计数资料以百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。符合正态分布计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用两独立样本 t 检验; 非正态分布计量资料以中位数 (四分位间距) [$M (P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。对差异有统计学意义的指标进行受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic, ROC) 分析, 计算 ROC 曲线下面积 (AUC) 及最佳诊断界值。

2 结果

2.1 一般情况

BA组234例，其中男137例(58.5%)，女97(41.5%)例，中位年龄58d，中位发病年龄9d；胆汁淤积组433例，其中男269例(62.1%)，女164例(37.9%)，中位年龄52d，中位发病年龄13d。胆汁淤积组患儿病因包括感染172例(39.7%)，遗传代谢性疾病61例(14.1%)，肠外营养相关胆汁淤积症18例(4.2%)，血液系统

疾病3例(0.7%)，179例(41.3%)患儿病因不明。两组间性别构成及年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。BA组患儿发病年龄早于胆汁淤积组($P<0.05$)。见表1。

2.2 两组生化指标变化情况

BA组TB、DB、TBA及GGT水平均显著高于胆汁淤积组($P<0.05$)，ALT和AST水平虽高于胆汁淤积组，但差异无统计学意义($P>0.05$)，见表1。

表1 两组一般资料及生化指标比较 [例或 $M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	男/女	年龄(d)	发病年龄(d)	TB($\mu\text{mol/L}$)	DB($\mu\text{mol/L}$)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBA($\mu\text{mol/L}$)	GGT(U/L)
胆汁淤积组	433	269/164	52(42~65)	13(3~30)	133(90~174)	92(61~125)	92(44~174)	134(84~230)	98(61~136)	147(86~254)
BA组	234	137/97	58(44~67)	9(3~17)	184(152~242)	137(115~169)	104(58~185)	150(96~241)	111(88~148)	503(277~870)
χ^2/Z 值		0.816	-1.528	4.462	-10.762	-11.318	-1.764	-1.467	-4.087	-14.652
P 值		0.366	0.127	<0.001	<0.001	<0.001	0.078	0.142	<0.001	<0.001

注：[TB]总胆红素；[DB]直接胆红素；[ALT]丙氨酸氨基转移酶；[AST]天门冬氨酸氨基转移酶；[TBA]总胆汁酸；[GGT] γ -谷氨酰转肽酶。

2.3 ROC分析

分别对GGT、DB、TBA、GGT+DB、GGT+TBA、DB+TBA、GGT+DB+TBA进行ROC分析，结果显示：GGT+DB的AUC最大，为0.892(95%CI: 0.868~0.916)(表2)。当GGT取值为324.0U/L，DB取值为115.1 $\mu\text{mol/L}$ 时，GGT与DB联合诊断BA的敏感度和特异度分别为79.8%、83.2%，见表3，图1。

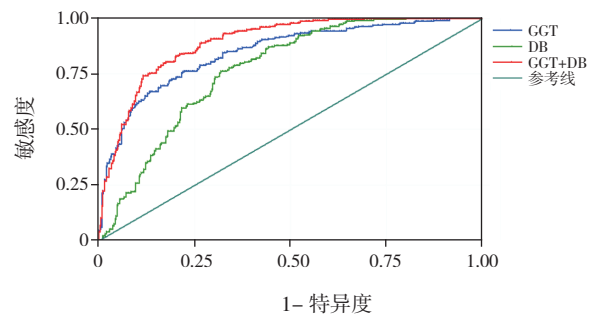


图1 GGT、DB及GGT与DB联合诊断BA的ROC分析

表2 各生化指标ROC分析

指标	AUC	标准误	95%CI
GGT	0.847	0.016	0.816~0.878
DB	0.768	0.018	0.730~0.801
TBA	0.601	0.023	0.556~0.647
GGT+DB	0.892	0.012	0.868~0.916
GGT+TBA	0.859	0.015	0.829~0.889
DB+TBA	0.757	0.019	0.718~0.795
GGT+DB+TBA	0.891	0.012	0.867~0.916

注：[DB]直接胆红素；[TBA]总胆汁酸；[GGT] γ -谷氨酰转肽酶。

表3 GGT与DB联合对BA的诊断价值

指标	截断值	敏感度	特异度	Youden	阳性似然比	阴性似然比
GGT	324.0 U/L	0.697	0.839	0.536	4.326	0.361
DB	115.1 $\mu\text{mol/L}$	0.756	0.683	0.439	2.385	0.357
GGT+DB	-	0.798	0.832	0.630	4.475	0.242

注：[DB]直接胆红素；[GGT] γ -谷氨酰转肽酶。

3 讨论

BA以进行性肝内外胆管炎症和梗阻为特征，欧美地区发病率约为1/12000~15000^[1,13]，我国台湾地区约为1.51/10000^[14]，目前有效的治疗方法为Kasai手术。Serinet等^[15]对695例接受手术治疗的BA患儿进行分析，从30~90日龄，每隔15d分一组，发现患儿长期生存率呈逐步下降趋势。小于60日龄患儿接受手术治疗，重建胆汁流在70%~80%，而90~120日龄患儿接受手术，仅25%重建胆汁流。手术时机为影响患儿预后的重要因素之一。及早进行诊断，对于改善BA患儿预后具有重要意义。

本研究分析了667例胆汁淤积症患儿的上述指标,发现GGT联合DB对BA具有良好的诊断价值。

本研究中,两组患儿间TB水平比较差异有统计学意义,但TB由DB与间接胆红素构成,间接胆红素水平的变化同样可引起TB水平的显著波动,如溶血、新生儿高胆红素血症等情况均可导致TB水平的显著波动,其变化影响因素多,故本研究中未对其诊断BA进行具体分析。而DB升高是提示胆汁淤积的重要指标,血清DB升高对于及早发现BA具有重要意义。北美儿童胃肠肝病和营养学会将DB升高大于 $17.1\ \mu\text{mol/L}$ 定义为胆汁淤积,建议对持续黄疸超过2周的婴儿进行DB或结合胆红素检测,以了解患儿是否需要进一步排查,及早发现BA^[16]。Harpavat等^[17-18]对9137例新生儿进行筛查,发现所有BA患儿的DB值均高于参考范围,敏感度为100%;在非BA组9102名新生儿中,8936例DB值在参考范围以内,特异度为98.2%,证实DB检测对筛查BA有较高的敏感度和特异度,建议BA的筛查指标为DB,无论TB水平高低及DB与TB比值情况。

有研究发现,GGT为胆汁淤积的敏感指标,GGT显著升高对BA的鉴别诊断具有重要作用^[4-5,7,9],Tang等^[19]发现GGT高于300 U/L时,诊断BA的敏感度为38%,特异度为98%。El-Guindi等^[20]报道GGT>286 U/L时,诊断BA的灵敏度和特异度分别为76.7%和80.0%。本研究与以往研究一致,BA组GGT中位值为503 U/L,显著高于胆汁淤积组中位值(147 U/L)。ROC结果显示,GGT的AUC为0.847,95%CI为0.816~0.878,高于TBA、DB的AUC,具有较好的诊断价值。

但BA临床表现多样,生化指标改变多样,单一指标的改变不能完全反映出病变情况,多个指标联合诊断可提高诊断价值。本研究中,GGT+DB联合的AUC为0.892,在多种指标联合的AUC中最大,具有良好的诊断效能。当DB为 $115.1\ \mu\text{mol/L}$,GGT为324.0 U/L时,诊断BA的敏感度和特异度分别为79.8%、83.2%。值得注意的是,Cabrera-Abreu等^[21]发现,GGT水平因年龄而波动,正常足月新生儿出生时GGT可达成人参考值6~7倍,在7月龄时GGT才恢复到成人水平。Chen等^[4]对1338例BA患儿依据年龄进行分组,发现不同月龄组GGT的中位数也不相同,31~60日龄患儿

GGT中位值为567 U/L,61~90日龄患儿GGT为779.5 U/L,91~120日龄患儿GGT为923 U/L,大于120日龄BA患儿GGT水平降低,为583 U/L,其AUC也小于3月龄内婴儿。本研究样本量仍需进一步扩大,分析不同年龄组胆汁淤积患儿GGT、DB水平及其诊断价值。

TBA主要在肝脏内合成,并在代谢过程中由肝脏从门静脉摄取,为肝细胞损伤的敏感指标之一,其升高程度与胆汁淤积并不完全平行。本研究中TBA的AUC为0.601,其与GGT、DB三者联合的AUC为0.891,低于GGT与DB两者联合的AUC。研究中ALT、AST在两组间的差异无统计学意义,与其他研究一致^[4-6]。ALT主要存在于肝脏细胞质内,AST主要存在于细胞质及线粒体当中,两者升高多反映肝细胞损伤,提示在BA早期,患儿肝细胞损伤与其他胆汁淤积症所引起肝细胞损伤程度差别不大。

本研究不足之处为回顾性分析,部分数据不完善,导致不能纳入更多的无创性检查项目进行统计分析,尚需进一步扩大样本量进行深入研究;此外,目前BA的筛查手段之一为粪便比色卡的应用,本研究未纳入大便颜色改变这一指标,因为患儿年龄小,浅色大便易于和深色尿液混在一起,家属对被黄色尿液污染的大便颜色识别能力不足,且大便颜色的判断易受主观因素影响,出现假阴性结果。但粪便比色卡的应用作为简便的筛查方法之一,值得推广。

[参 考 文 献]

- [1] Schreiber RA, Barker CC, Roberts EA, et al. Biliary atresia: the Canadian experience[J]. *J Pediatr*, 2007, 151(6): 659-665.
- [2] Superina R. Biliary atresia and liver transplantation: results and thoughts for primary liver transplantation in select patients[J]. *Pediatr Surg Int*, 2017, 33(12): 1297-1304.
- [3] Kasahara M, Umeshita K, Sakamoto S, et al. Liver transplantation for biliary atresia: a systematic review[J]. *Pediatr Surg Int*, 2017, 33(12): 1289-1295.
- [4] Chen X, Dong R, Shen Z, et al. Value of gamma-glutamyl transpeptidase for diagnosis of biliary atresia by correlation with age[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2016, 63(3): 370-373.
- [5] Hayashida M, Matsuura T, Kinoshita Y, et al. Parameters that help to differentiate biliary atresia from other diseases[J]. *Pediatr Int*, 2017, 59(12): 1261-1265.
- [6] Sun S, Chen G, Zheng S, et al. Analysis of clinical parameters that contribute to the misdiagnosis of biliary atresia[J]. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(7): 1490-1494.

- [7] Dong C, Zhu HY, Chen YC, et al. Clinical assessment of differential diagnostic methods in infants with cholestasis due to biliary atresia or non-biliary atresia[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(1): 137-143.
- [8] Liu X, Peng X, Huang Y, et al. Design and validation of a noninvasive diagnostic criteria for biliary atresia in infants based on the STROBE compliant[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(6): e13837.
- [9] Ađın M, Tümgör G, Alkan M, et al. Clues to the diagnosis of biliary atresia in neonatal cholestasis[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2016, 27(1): 37-41.
- [10] Nakamura H, Yamataka A. Non-invasive and accurate diagnostic system for biliary atresia[J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 16-17.
- [11] Dong R, Jiang J, Zhang S, et al. Development and validation of novel diagnostic models for biliary atresia in a large cohort of Chinese patients[J]. *EBioMedicine*, 2018, 34: 223-230.
- [12] Moyer V, Freese DK, Whittington PF, et al. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2004, 39(2): 115-128.
- [13] Chardot C, Buet C, Serinet MO, et al. Improving outcomes of biliary atresia: french national series 1986-2009[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(6): 1209-1217.
- [14] Chiu CY, Chen PH, Chan CF, et al. Biliary atresia in preterm infants in Taiwan: a nationwide survey[J]. *J Pediatr*, 2013, 163(1): 100-103.e1.
- [15] Serinet MO, Wildhaber BE, Broué P, et al. Impact of age at Kasai operation on its results in late childhood and adolescence: a rational basis for biliary atresia screening[J]. *Pediatrics*, 2009, 123(5): 1280-1286.
- [16] Fawaz R, Baumann U, Ekong U, et al. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: joint recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2017, 64(1): 154-168.
- [17] Harpavat S, Finegold MJ, Karpen SJ. Patients with biliary atresia have elevated direct/conjugated bilirubin levels shortly after birth[J]. *Pediatrics*, 2011, 128(6): e1428-e1433.
- [18] Harpavat S, Ramraj R, Finegold MJ, et al. Newborn direct or conjugated bilirubin measurements as a potential screen for biliary atresia[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2016, 62(6): 799-803.
- [19] Tang KS, Huang LT, Huang YH, et al. Gamma-glutamyl transferase in the diagnosis of biliary atresia[J]. *Acta Paediatr Taiwan*, 2007, 48(4): 196-200.
- [20] El-Guindi MA, Sira MM, Sira AM, et al. Design and validation of a diagnostic score for biliary atresia[J]. *J Hepatol*, 2014, 61(1): 116-123.
- [21] Cabrera-Abreu JC, Green A. Gamma-glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics[J]. *Ann Clin Biochem*, 2002, 39(Pt 1): 22-25.

(本文编辑: 万静)