

• 临床检验研究论著 •

乙肝产妇 HBV-DNA 载量与母婴垂直传播之间关系的研究

罗慧琴¹, 王志刚², 李 玲¹, 刘付芹¹

(1. 中国人民解放军第二六四医院检验科, 山西太原 030001; 2. 海军出版社医疗所, 天津塘沽 300450)

摘要:目的 探讨乙肝产妇 HBV-DNA 载量与母婴垂直传播之间关系, 为产前阻断提供可靠依据。方法 采用实时荧光定量 PCR 对 174 例乙肝孕妇血清中 HBV-DNA 含量进行检测, 同时运用 ELISA 方法检测婴儿脐带血中 HBsAg, 并根据 HBV-DNA 载量的不同分为 3 组进行比较, HBV-DNA 阳性分为两组进行产前阻断。结果 在受检的 174 例标本中, HBV-DNA 载量小于或等于 5.0×10^2 copies/mL 的产妇 60 例 (HBV-DNA 阴性), 宫内感染的阳性率为 6.67% (4/60); HBV-DNA 载量: $>5.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^6$ copies/mL 产妇 45 例, 宫内感染的阳性率为 13.33% (6/45); HBV-DNA 载量大于 1.0×10^6 copies/mL 的产妇 69 例, 宫内感染的阳性率为 78.26% (54/69), HBV-DNA 阳性的产妇宫内感染高于 HBV-DNA 阴性的产妇, 组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 35.72, P < 0.01$), HBV-DNA 载量: $>5.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^6$ copies/mL 和 HBV-DNA 载量大于 1.0×10^6 copies/mL 两组产妇之间宫内感染阳性率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 63.95, P < 0.01$); 114 例 HBV-DNA 阳性产妇中, 阻断组宫内感染的阳性率为 8.22% (6/73), 对照组宫内感染的阳性率为 31.73% (13/41), 阻断组和对照组的宫内感染阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 10.43, P < 0.01$)。结论 乙肝孕妇的 HBV-DNA 载量与母婴垂直传播呈正相关, 通过产前阻断可以降低母婴间垂直传播。

关键词: 肝炎, 乙型; 母体胎儿间交换; DNA, 病毒; 肝炎病毒, 乙型

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)19-2526-02

The relationship between HBV-DNA capacity in hepatitis B puerpera and mother-to-child vertical transmission

Luo Huiqin¹, Wang Zhigang², Li Ling¹, Liu Fuqin¹

(1. The people's liberation army 264 hospital clinical laboratory, Shanxi Taiyuan 030001, China;

2. Medical Center of China Navigation Publications Press, Tianjin Tanggu, 300450, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between HBV-DNA capacity in Hepatitis B puerpera and Mother-to-child vertical transmission, and provide reliable basis for prenatal blockade. **Methods** A total of 174 samples of HBV-DNA content in Hepatitis B pregnant serum were detected using real-time fluorescent quantitative PCR, and HbsAg in baby umbilical cord blood were detected using ELISA method at the same time, according to the difference between HBV-DNA capacity, three groups were divided and compared, HBV-DNA positive were divided into two groups to block in antenatal period. **Results** In 174 cases of patients, sixty cases of parturient women with HBV-DNA capacity $< 5.0 \times 10^2$ copies/mL, intrauterine infection positive rate was 6.67% (4/60); 45 cases of parturient women with HBV-DNA capacity in $5.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^6$ copies/mL, intrauterine infection positive rate was 13.33% (6/45); 69 cases of parturient women with HBV-DNA capacity $> 1.0 \times 10^6$ copies/mL, intrauterine infection positive rate was 78.26% (54/69), parturient with higher infection in HBV-DNA positive puerpera than HBV-DNA negative, it was significantly different among groups ($\chi^2 = 35.72, P < 0.01$). There was a significant difference between parturient intrauterine infection in HBV-DNA capacity in $5.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^6$ copies/mL and HBV-DNA capacity $> 1.0 \times 10^6$ copies/mL ($\chi^2 = 63.95, P < 0.01$), indicating that the risk of maternal infection greatly increased along with the HBV-DNA capacity increased; in 114 cases of HBV-DNA positive puerpera, positive rate of blocking group was 8.22% (6/73), positive rate of control group was 31.73% (13/41), positive rate of intrauterine infection in blocking group lower than those of control group, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 10.43, P < 0.01$). **Conclusion** Hepatitis B HBV-DNA load are positively correlated with vertical transmission of mother and infant, through prenatal blocking can reduce vertical transmission between mother and infant.

Key words: hepatitis B; maternal-fetal exchange; DNA, viral; hepatitis B virus

HBV 是乙型病毒性肝炎的病原体, 是一种发病率高、感染性强, 严重危害人类健康的传染病, 全球慢性乙型肝炎 (CHB) 感染者多达 3.6 亿人, 中国约占 1.2 亿人, 每年新感染病例 5 千万, 死亡 1 百万, 防治任务十分艰巨^[1]。乙肝病毒 (HBV) 感染的最主要途径是母婴传播, 由此引发的慢性乙肝患者约占总数的 30%~50%^[2], 母婴传播分垂直传播和水平传播, 而研究表明, 孕妇中乙肝病毒携带率达 11.2%~12.5%, 而母婴垂直传播率高达 70%^[3], 占我国婴幼儿感染的 1/3^[4], 本文从乙肝孕妇 HBV-DNA 载量多少与新生儿宫内感染之间的关系以及 HBV-DNA 阳性的孕妇采取产前阻断措施后与对照组宫内感

染之间关系的比较, 为乙肝的母婴垂直传播提供临床依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2012 年 1 月在本院进行产前检查和分娩的表面抗原 (HBsAg) 阳性、肝功能和肾功能正常的产妇 174 例, 年龄 19~40 岁, 所有产妇都进行 HBV-DNA 检测。

1.2 研究方法 HBV-DNA 阳性的孕妇分为两组, 阻断组 73 例, 自孕妇 28 周后分别注射乙型肝炎免疫球蛋白 (HBIG) 200 IU (上海生物制品研究所提供), 每 4 周一次; 对照组的 41 例,

孕妇及其新生儿均未注射 HBIG,所有新生儿出生后接受常规乙肝疫苗主动免疫,即于出生后 24 h 内,1 个月、6 个月分别肌肉注射基因乙肝疫苗 5 μg(北京市天坛生物制品有限公司生产)。阻断组的产妇在注射免疫球蛋白前采集静脉血 3 mL,同时检测乙型肝炎病毒标志物(HBV-M)和乙型肝炎病毒 DNA(HBV-DNA),孕妇分娩后留取新生儿脐血 3 mL 检测 HBsAg 和 HBV-DNA。

1.3 仪器与试剂 HBV-DNA 定量检测采用 DA7600 荧光定量 PCR 仪(达安),试剂盒购于广州中山大学达安基因有限公司,试剂盒的线性范围为 10²~10⁸ copies/mL,HBV-M 检测试剂盒购自上海科华有限公司,严格按照 SOP 操作规程进行操作。

1.4 结果判断 HBV-M 测定和 HBV-DNA 测定分别按试剂盒说明书和 SOP 操作规程进行,HBsAg 以显色为阳性,以 HBV-DNA>5.0×10² copies/mL 为阳性结果,HBV-DNA 阳性者又分为 HBV-DNA>5.0×10²~1.0×10⁶ copies/mL,HBV-DNA>1.0×10⁶ copies/mL 组。宫内感染以脐血检出 HBsAg 阳性或 HBV-DNA 阳性为标准^[5]。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,率比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 母血 HBV-DNA 载量与宫内感染的关系 174 例产妇中,HBV-DNA 阴性产妇 60 例,宫内感染的阳性率为 6.67%(4/60);HBV-DNA 阳性者 114 例,宫内感染阳性率为 52.63%,与 HBV-DNA 阴性者比较,差异有统计学意义($P<0.05$);HBV-DNA 阳性者中,HBV-DNA 载量:>5.0×10²~1.0×10⁶copies/mL 的产妇 45 例,宫内感染的阳性率为 13.33%(6/45);HBV-DNA 载量大于 1.0×10⁶copies/mL 的产妇 69 例,宫内感染的阳性率为 78.26%(54/69)。HBV-DNA 载量:>5.0×10²~1.0×10⁶ copies/mL 和 HBV-DNA 载量大于 1.0×10⁶copies/mL 的产妇之间宫内感染率组间比较差异有统计学意义($\chi^2=63.95,P<0.01$)。

2.2 产前阻断与宫内感染的关系 114 例 HBV-DNA 阳性产妇中,阻断组的宫内感染阳性率为 8.22%(6/73),对照组的宫内感染阳性率为 31.73%(13/41),阻断组的宫内感染率低于对照组的宫内感染率,组间比较差异有统计学意义($\chi^2=10.43,P<0.01$),见表 1。

表 1 产前阻断与宫内感染的关系

组别	检测数(<i>n</i>)	宫内感染数[<i>n</i> (%)]
阻断组	73	6(8.22)
对照组	41	13(31.71)

阻断组与对照组比较, $\chi^2=10.43,P<0.01$ 。

表 2 母血 E 抗原状态、HBV-DNA 及宫内感染的关系

组别	检测数	HBV-DNA 阳性数(%)	宫内感染数(%)
e 抗原阳性组	72	67(93.66)*	46(63.89)*
e 抗原阴性组	102	47(46.08)	18(17.65)

*: $P<0.05$,与 e 抗原阴性组比较。

2.3 母血 e 抗原状态与宫内感染的关系 174 例产妇中,e 抗原阳性 72 例,HBV-DNA 阳性率为 93.33%(67/72),宫内感染阳性率为 63.89%(46/72);e 抗原阴性 102 例,HBV-DNA 阳性率为 46.08%(47/102),宫内感染阳性率为 17.65%(18/102)。e 抗原阳性组的宫内感染高于 e 抗原阴性组宫内感染,

组间比较差异有统计学意义($\chi^2=38.81,P<0.01$);e 抗原阳性组的 HBV-DNA 阳性率远高于 e 抗原阴性组的 HBV-DNA 阳性率,组间比较差异有统计学意义($\chi^2=41.23,P<0.01$),见表 2。

3 讨 论

在我国,HBV 母婴传播是乙型肝炎传播的重要途径^[6],其 HBV 宫内感染机制尚不清楚,特异性免疫耐受、HBV 变异及基因异质性等是引起宫内感染的可能原因。在本研究中,乙肝产妇的宫内感染的阳性率达 36.78%(64/174),跟文献[2] 30%~50% 基本接近,其中 e 抗原阳性组的宫内感染为 63.89%,e 抗原阴性组的宫内感染率为 17.65%,与张芬莲等^[7]的报道基本接近,高于曾凡荣等^[8]的报道,e 抗原阳性组和 e 抗原阴性组组间比较差异有统计学意义($\chi^2=38.81,P<0.01$),e 抗原阳性组高于 e 抗原阴性组是因为 e 抗原阳性组的 HBV-DNA 载量高于阴性组。孕妇作为特殊人群,其 HBV 感染率与普通人群相当,孕妇血清 HBV-DNA 水平的高低可反映 HBV 垂直感染的强弱^[9],在本研究中,HBV-DNA 阴性组的宫内感染率与 HBV-DNA 阳性组的比较,差异有统计学意义($P<0.05$),与杨小梅等^[3]的报道基本一致,HBV-DNA 阳性组中,宫内感染随着 HBV-DNA 载量的上升而明显增高,表明宫内感染随产妇 HBV-DNA 载量的升高宫内感染的概率大大增加。同时在研究中还发现,孕妇血清的 HBV-DNA 含量相对比普通人群 HBV-DNA 含量高,这可能与孕妇体内的孕激素含量有关,雌激素抑制细胞但增强体液免疫,孕激素促进细胞免疫向体液免疫转化^[1]。

宫内感染与母亲的病毒水平成正相关,降低母亲的病毒水平将有效降低宫内感染率^[10],本文通过对 HBV-DNA 阳性的产妇进行产前阻断,发现阻断组的宫内感染率为 8.22%,对照组宫内感染率为 31.71%,阻断组宫内感染率低于对照组宫内感染率,组间比较差异有统计学意义($\chi^2=10.43,P<0.01$),原因可能与胎盘转运 IgG 型抗体有关,胎盘滋养细胞有主动将母体 IgG 型抗体传输给胎儿的功能,新生儿体液免疫的主要成分为 IgG,新生儿体内 IgG 主要来源于母体胎盘的运输,HBsAb 通过胎盘到达胎儿体内,使胎儿在宫内获得被动免疫,从而降低了宫内感染率。HBV 母婴传播有 3 种方式:宫内感染、产时感染和产后感染,产时感染主要是指在分娩过程中,产妇的血液、阴道分泌物中含有大量的 HBV 病毒,分娩时新生儿的皮肤、黏膜、胎盘或脐带损伤或吸入被母血污染的羊水、血液和阴道分泌物而导致 HBV 感染^[11-12]。不同的分娩方式跟母婴传播之间并没有必然联系,而与母血 HBV-DNA 含量相关;产后感染主要是指通过接触母亲唾液、母乳喂养和生活中密切接触导致 HBV 感染^[13-14]。乙肝孕产妇乳汁中 HBV DNA 的阳性率随血清 HBV DNA 含量的升高而增大,乳汁中所含的病毒量与血液中的病毒量呈正相关,即母亲体内乙肝病毒的拷贝量大,乳汁中的病毒也越多,且血清 HBV-DNA 10⁶ copies/mL 时母婴传播的概率增大。

总之,乙肝产妇 HBV-DNA 载量与宫内感染密切相关,本研究中产前阻断仍有 8.22% 失败率,可能是母亲体内较高的病毒水平超过疫苗和 HBIG 的中和能力或感染变异病毒等原因,如何更安全有效地降低母婴传播,还有待进一步的研究。

参考文献

[1] 胡记妹,张栋武,曾军荣,等.乙肝患者 HBV-DNA(下转第 2529 页)

2.2 风险组疾病分类 风险组中恶性肿瘤 5 例,占 6.33%;良性肿瘤 32 例,占 40.51%;炎症病毒性疾病 10 例,占 12.66%;脂肪肝 9 例,占 11.39%;细胞增殖异常 11 例,占 13.92%;其他疾病 12 例,占 15.19%。

2.3 恶性肿瘤组与良性疾病组的 STK1 水平比较 恶性肿瘤组的 STK1 水平明显高于良性疾病组,与良性疾病组比较,差异有统计学意义($t=9.142, P<0.01$),见表 2。

表 2 恶性肿瘤组与良性疾病组的 STK1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	STK1(pmol/L)
恶性肿瘤组	5	15.95±3.13 [△]
良性疾病组	74	3.08±1.19

△: $P<0.01$,与良性疾病组比较。

3 讨 论

TK1 是 DNA 补救合成途径的限速酶,在 ATP 和 Mg²⁺ 的参与下,催化脱氧胸苷(TDR)磷酸化为脱氧 1-磷酸胸苷酸(dTMP),参与细胞周期调控和细胞增殖^[4]。STK1 的活性与细胞周期紧密关联,增殖周期中的 STK1 含量从 G 期、S 期、G₂ 期不断增加, G₂ 期达到最高,而肿瘤患者处于 S 期、G₂ 期的细胞比例高。STK1 与 DNA 合成呈正相关,STK1 活力增加会促进细胞 DNA 合成速度提高,使肿瘤细胞急剧增殖,因此肿瘤恶性程度越高,STK1 的含量也相应升高,因此,STK1 浓度检测真实的反映出体内是否有细胞异常增殖状况,特别适用于癌前病变风险筛查^[5-8]。

作者通过对 2 230 例体检者的 STK1 分析结果显示,其中 79 例 STK1 大于 2 pmol/L,风险率为 3.5%,对风险组人群结合其它检查结果进行分析发现,有 5 例恶性肿瘤的发生,发生率为 6.33%(占总体检人群的 0.22%),他们的 STK1 水平均高于 10 pmol/L,其它良性肿瘤及其它良性增殖性疾病的患者仅 1 例 STK1 水平高于 10 pmol/L,因此可以把 STK1 大于 10 pmol/L 的体检者作为一个高危人群,应同时进行其它肿瘤标志物的检测、影像学检查和跟踪。在其它疾病中,就单病种而言,脂肪肝占的比例较高(占 11.39%),脂肪肝多由于大量饮酒,脂代谢失调导致脂类堆积于肝细胞中,其可进展为肝硬化,成为原发性肝癌的危险因素,是肝脏恶性肿瘤的三大风险之一^[9]。

因此对于肥胖人群,控制体质量,合理饮食和增加体力活动是预防癌症疾病风险的重要方式^[10]。另外,良性肿瘤(包括囊肿、息肉、肿物、血管瘤等)所占比例也较高,这可能与某些良性病变在某些因素持续作用下可进程为恶性肿瘤有关,这表

明 STK1 水平与肿瘤细胞增殖速度变化的相关性要优于现在应用的某些标志物,适用于健康人群早期发生恶性肿瘤风险的预测和筛查。

虽然目前已有许多肿瘤标志物,包括特异性较高的 AFP、CA15-3、CA19-9、PsA 和广谱肿瘤标志物 CEA 等,但对早期肿瘤筛查都缺乏特异性和灵敏度,不适于体检人群筛查,STK1 浓度是真实评估体内细胞异常增殖情况的参数之一,且具有广谱性和检测方便等优点,在体检人群癌变风险筛查中有较大的应用价值。

参考文献

[1] 程薇莉,于丽华,丁茗敏,等. 4 239 例健康体检者肿瘤标志物检测的临床分析[J]. 中国疗养医学,2010,19(1):70-71.
[2] 周菊英,姚治敏,俞志英,等. 血清胸苷激酶 1 在恶性肿瘤诊断和疗效评估中的意义[J]. 江苏医药,2012,38(9):1055-1058.
[3] 翟士军,张杰,万卫星,等. 淋巴瘤患者血清 TK1 和 β2-微球蛋白的检测及临床意义[J]. 江苏医药,2012,38(7):801-802.
[4] 王成枫. 胸苷激酶 1 的研究进展[J]. 中国医疗前沿,2012,7(7):18-19.
[5] Gasparri F, Wang N, Skog S, et al. Thymidine kinase 1 expression defines an activated G1 state of the cell cycle as revealed with site specific antibodies and Arrayscan assays[J]. J Eur Cell Biol, 2009, 88(12):779-785.
[6] Xu XH, Zhang YM, Shu XH, et al. Serum thymidine kinase 1 reflects the progression of premalignant and malignant tumom during therapy[J]. Mol Med Rep, 2008, 1(5):705-711.
[7] Chen HZ, Zhou H, Li S, et al. Serological thymidine Kinase 1(STK1) indicates an elevated risk for development of malignant tumours [J]. Anti Caneer Res, 2008, 28(18):3897-3907.
[8] Xu W, Cao X, Miao KR, et al. Serum thymidine kinase 1 concentration in Chinese patients with chroniclymphocytic leukemia and its correlation witll other prognostic factors[J]. Int J Hematol, 2009, 90(3):205-211.
[9] 郭林,卢仁泉. 胃癌患者血清胸苷激酶检测的临床意义 [J]. 检验医学, 2008, 23(3):19.
[10] Brawer R, Bfisbon N, Plumb J. Obesity and cancer[J]. Prim Care, 2009, 36(6):509-531.

(收稿日期:2013-03-16)

(上接第 2527 页)

含量与性别、年龄的关系研究[J]. 中国医药导报, 2009, 6(5): 121-122.
[2] 陈陶阳,倪正平,朱源荣,等. 阻断乙肝母婴传播与 HBV-DNA 载量的关系[J]. 中国当代医药, 2010, 17(1):50-51.
[3] 杨小梅,甘涛,刘志华,等. 分娩方式及 HBV-DNA 载量对乙型肝炎母婴传播阻断效果的影响[J]. 海南医学, 2011, (1):20-22.
[4] 乐杰,谢辛,林仲秋,等. 妇产科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:145-149.
[5] 梁小丽. 670 例 HBsAg 阳性孕妇母婴垂直传播特点分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(9):57-58.
[6] 朱启睿. 重视乙型肝炎病毒母婴传播的阻断[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 4(1):8-9.
[7] 张芬莲,李志刚,齐振勇,等. 乙肝孕产妇乙肝标志物模式与其血清、乳汁、新生儿脐血 HBV-DNA 含量分析及应用价值研究[J]. 检验医学与临床, 2008, 19(5):55-57.
[8] 曾凡荣,杨光,朱红艳,等. HBV 母婴传播阻断后奶水、脐血、新生

儿血清 HBV 标志物检测分析[J], 安徽预防医学杂志, 2010, 16(3):170-172.
[9] 项明,娄冲,李传达. 乙型肝炎 e 抗原在母婴垂直传播中的作用 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(6):707-708.
[10] 白兴武,王晓斌,李建团,等. 不同母婴阻断方式对新生儿乙型肝炎病毒母婴传播的影响[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(21):3265-3266.
[11] 朱云霞,邹怀宾,陈煜,等. 不同分娩方式对阻断乙型肝炎病毒母婴传播的影响[J]. 山西医科大学学报, 2010, 41(6):495-497.
[12] 孙校金,崔富强,龚晓红,等. 阻断乙型肝炎病毒母婴传播的研究进展[J]. 江苏预防医学, 2011, 22(5):66-70.
[13] 齐振勇,葛丽娟. 乙肝产妇血清及乳汁中 HBV-DNA 含量相关性研究[J]. 中国现代医生, 2008, 46(24):152-153.
[14] 朱云霞,张华,邹怀宾,等. 乙肝病毒携带产妇产乳汁的 HBV-DNA 研究[J]. 中国当代医药, 2010, 17(25):7-8.

(收稿日期:2013-02-18)