文章编号:1000-5404(2013)07-0665-04

论著

HBeAg阳性感染孕妇妊娠期中晚期接受替比夫定治疗对HBsAg、HBeAg及抗-HBc胎盘透过率的影响

吴全新[1],邓国宏[1],李俊男[2],李 利[2],孙小雯[1],潘美明[1],黄鸿菲[1,3],何登明[1],晏泽辉[1],徐 城[1],李茂仕[1],唐 薇[1],刘明栋[1],王宇明[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院:全军感染病研究所,感染病研究重庆市重点实验室[1],妇产科[2];233030 安徽 蚌埠,蚌埠医学院[3])

[摘要] **目的** 观察HBeAg阳性、HBV DNA高复制慢性HBV感染孕妇的HBsAg、HBeAg和抗-HBc胎盘透过率,进一步明确替比夫定阻断母婴传播的机制。**方法** 回顾性分析在本院例行孕期检查以及产科分娩的HBeAg阳性、HBV DNA≥10^6 IU/mL的慢性HBV感染孕妇84例,根据阻断HBV母婴传播方式不同分为常规双重免疫阻断组(常规组,15例)和双重免疫+替比夫定阻断组(替比夫定组,69例)。检测妊娠中晚期、分娩时母亲和新生儿脐带血清HBsAg、HBeAg及抗-HBc水平。**结果** 两组之间母亲及新生儿HBsAg、HbeAg和抗-HBc水平无统计学差异(孕妇分娩时:HBsAg $P=0.058$,HBeAg $P=0.065$,抗-HBc $P=0.727$;新生儿脐血:HBsAg $P=0.761$,HBeAg $P=0.225$,抗-HBc $P=0.924$),且两组之间的HBsAg和HBeAg胎盘透过率亦无统计学差异(分别为 $P=0.172$,0.163)。两组新生儿脐带血抗-HBc透过率均为阳性。**结论** 妊娠中晚期替比夫定不能降低孕妇HBsAg、HBeAg水平和HBsAg、HBeAg的胎盘透过率,其阻断HBV母婴传播的机制可能主要与有效降低孕妇HBV DNA水平有关。透过率与母亲HBsAg和HBeAg水平不成平行关系。

[关键词] 替比夫定;HBsAg;HBeAg;宫内传播;透过率
[中图法分类号] R373.21; R714.251; R978.7 [文献标志码] A

Effects of telbivudine on transmission of HBsAg and HBeAg through placenta in HBV infected pregnant women in second or third trimester

Wu Quanxin[1], Deng Guohong[1], Li Junnan[2], Li Li[2], Sun Xiaowen[1], Pan Meiming[1], Huang Hongfei[1,3], He Dengming[1], Yan Zehui[1], Xu Cheng[1], Li Maoshi[1], Tang Wei[1], Liu Mingdong[1], Wang Yuming[1] ([1]Institute of Infectious Diseases, Chongqing Key Laboratory of Infectious Diseases Research, [2]Department of Gynecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [3]Bengbu Medical College, Benbu, Anhui Province, 233030, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the change of transmission of HBsAg, HBeAg and anti-HBC through placenta in HBV infected pregnant women at the second and third trimesters after the treatment of telbivudinein. **Methods** We systematically investigated 69 mothers with HBeAg positive and HBV DNA levels ≥10^6 IU/mL who made routine pregnancy checks in our hospital from Feburary 2008 to October 2012 and received telbivudine at 600 mg per day from 24th to 33th week of gestation. Another 15 pregnant women at the same situation who were unwilling to receive the treatment served as control. All the mothers and the cordblood of infants were detected for the serum HBV markers (HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, HBV DNA). **Results** There was no significant difference in serum levels of HBsAg, HBeAg and anti-HBC titers in the mothers and their infants from either the telbivudine group or the untreated group (serum of mothers at delivery, HBsAg $P=0.058$, HBeAg $P=0.065$; blood of infants, HBsAg $P=0.761$, HBeAg $P=0.225$). There was alson no difference of the transmission rate of HBsAg and HBeAg between two groups ($P=0.172$ and $P=0.163$). The sesum anti-HBc could absolutely transit the placenta in the two groups. **Conclusions** We demonstrated that telbivudine couldn't effectivly downregrade the levels of serum HBsAg and HBeAg of the

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30830090)
[通信作者] 王宇明,E-mail:wym417@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130131.1709.015.html(2013-01-31)

mothers and the transmission rate of cordblood in the telbivudine group. The mechanism of telbivudine preventing mother to infant transmission might be due to its declining the levels of HBV DNA. The levels of serum HBsAg and HBeAg in the mother is not parallel to the transmission rate of cordblood and the mothers.

[**Key words**] telbivudine; HbsAg; HbeAg; intrauterine infection; transmission rate

Supported by the Key Project of National Natural Science Foundation of China(30830090). Corresponding author: Wang Yuming, E-mail: wym417@163.com

慢性HBV感染是终末期肝病的重要原因。多数慢性HBV感染来自于母婴传播[1]。如不采取预防措施,HBeAg阳性的母亲,其新生儿感染的风险高达70%~90%[2-4],出生后给予乙型肝炎疫苗和乙型肝炎免疫球蛋白(HBIG)主被动双重免疫措施是阻断HBV母婴传播的标准策略,但仍有5%~10%发生感染[5-7]。目前认为HBV宫内感染的主要原因是母亲病毒高载量(10^8 copies/mL)。另一方面,HBeAg是以游离状态和结合状态存在,结合状态的HBeAg可通过胎盘上的IgG受体经胎盘进入胎儿血循环,从而干扰机体免疫细胞对病毒的识别和杀伤作用,甚至影响特异性抗体的产生,而不能清除来自母体的HBV,导致胎儿的慢性携带状态。Han等[8]和Pan等[9]已证实应用替比夫定治疗能有效降低HBV母婴传播。然而,目前尚少见关于慢性HBV孕妇妊娠中晚期接受替比夫定治疗是否对HBsAg和HBeAg胎盘透过率影响的研究。本研究应用HBV标志物定量分析HBsAg和HBeAg的胎盘透过率,探讨替比夫定阻断HBV母婴传播的机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2008年2月至2012年10月在第三军医大学西南医院例行孕期检查以及产科分娩的慢性HBV感染孕妇84例,20~39岁,按照HBV母婴传播阻断方式的不同分为2组:①常规乙肝免疫球蛋白+乙肝疫苗双重免疫阻断组(常规组,15例);②双重免疫+替比夫定阻断组(替比夫定组,69例)。本研究获第三军医大学西南医院伦理委员会批准,入组孕妇均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准和排除标准 纳入标准:①符合慢性HBV感染诊断标准;②HBsAg阳性、抗-HBs阴性、HBeAg阳性、抗-HBe阴性、抗-HBc阳性;③HBV DNA≥10^6 IU/mL。排除标准:①合并感染HAV、HCV、HDV和HEV等其他肝炎病毒感染;②HIV、弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒及单纯疱疹病毒检测阳性;③其他疾病引发的肝炎;④胎儿系统超声检查畸形。

1.2.2 母婴传播阻断方案 替比夫定组孕妇从妊娠24~33周开始每天服用替比夫定,每日600 mg。其余阻断方式则按照标准阻断策略实施:新生儿出生后接种乙肝免疫球蛋白,分别于0、1、6个月接种乙肝疫苗。新生儿HBV感染标准为6个月以后检测血清HBsAg阳性(或血清HBV DNA阳性)。

1.3 HBV标志物检测

应用电化学发光法(electrochemistry luminescence immunoassay,ECLIA)检测孕妇入组时、孕妇分娩时、新生儿脐带血、新生儿3个月、新生儿6个月的血清HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe及抗-HBc等HBV标志物。检测仪器为Elecsys2010型电化学发光分析仪,试剂盒由罗氏诊断产品(上海)有限公司生产,严格按照试剂盒的使用说明书要求进行操作。HBsAg>1 COI为阳性,参考值范围为0~1 COI,HBeAg和抗-HBc参考值范围为小于1 COI。胎盘透过率以新生儿脐带血测定值和母亲分娩时测定值的比值表示。

应用实时荧光定量PCR检测血清标本的HBV DNA水平。试剂盒由上海复星长征医学科学有限公司生产,严格按照试剂盒的使用说明书进行操作。检测范围为500~10^8 IU/mL。

1.4 统计学分析

采用SPSS 18.0统计软件,正态分布资料行t检验,计量资料采用Mann-Whitney U检验,计数资料采用χ^2检验,回归分析采用线性回归分析方法。

2 结果

2组孕妇基线统计资料,包括孕妇年龄、分娩孕周、分娩方式、妊娠晚期脐动脉收缩末期峰值(S)与舒张末期峰值(D)的比值、新生儿性别、HBV基因分型、基线ALT水平和基线病毒水平等指标均无统计学差异(表1)。孕妇弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒和单纯疱疹病毒检测均为阴性,新生儿均为足月产。

表1 替比夫定组和常规组孕妇基线资料比较

组别	n	孕妇年龄(岁)	分娩孕周(d)	自然分娩[人数(%)]	S/D值	新生儿性别[男性人数(%)]	HBV基因B型百分比(%)	基线ALT水平(IU/L)	基线病毒水平(IU/mL)
替比夫定组	69	27(20~37)	275±8	37(53.62%)	2.16±0.23	31(44.93%)	77.60%	27±12	7.23±0.44
常规组	15	27(20~39)	274±9	7(46.67%)	2.10±0.20	9(60.00%)	53.30%	36±42	7.24±0.29
P		0.940	0.700	0.625	0.450	0.268	0.060	0.516	0.908

早产为孕周<37周

2.1 替比夫定组治疗前后 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 水平

替比夫定组母亲基线 HBsAg 水平为 2 107.00（IQR：1 839.00～2 705.00）COI，HBeAg 为 1 442.00（IQR：1 381.00～1 570.00）COI；分娩时 HBsAg 水平为 3 205.00（IQR：2 044.50～5 317.50）COI，HBeAg 为 1 385.00（IQR：1 133.43～1 544.50）COI，抗-HBc 水平为 0.005（IQR：0.005～0.005）COI。替比夫定组孕妇基线和分娩时 HBsAg 和 HBeAg 水平差异无统计学意义（P=0.167，0.102）。

2.2 孕妇分娩时 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 检查结果

常规组孕妇分娩时 HBsAg 水平为 2 763.00（IQR：1 112.00～3 328.00）COI，HBeAg 为 1 339.00（IQR：431.03～1 431.00）COI，抗-HBc 水平为 0.005（IQR：0.005～0.010）COI，与替比夫定组比较，差异无统计学意义（P=0.058，0.065，0.727）。

2.3 新生儿脐带血 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 检出率

替比夫定组 69 对母子（有 1 对双胞胎）检测了 HBsAg 和 HBeAg，常规组 15 对母子检测了 HBsAg 和 HBeAg。替比夫定组 70 例脐带血检测了 HBsAg 和 HBeAg 中阳性人数分别为 39 例和 69 例，常规组 15 例脐带血中 HBsAg 和 HBeAg 阳性的分别为 9 例和 14 例，两组差异无统计学意义（P=0.761，0.225）。提示 HBeAg 比 HBsAg 更易通过胎盘。常规组和替比夫定组新生儿脐带血抗-HBc 检测阳性率均为 100%。

2.4 脐带血 HBV 标志物阳性新生儿 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 定量检查

替比夫定组新生儿脐带血 HBsAg 水平为 1.12（IQR：0.71～2.11）COI，HBeAg 为 37.99（IQR：8.03～124.78）COI，抗-HBc 水平为 0.009（IQR：0.006～0.010）COI；常规组新生儿脐带血 HBsAg 水平为 2.23（IQR：0.60～25.37）COI，HBeAg 为 48.19（IQR：25.48～117.30）COI，抗-HBc 水平为 0.005（IQR：0.005～0.007）COI。2 组新生儿脐带血 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 水平差异无统计学意义（P=0.761，0.225，0.924）。新生儿脐带血 HBsAg 和 HBeAg 的胎盘透过率 2 组比较也无统计学差异（P=0.172，0.163）。新生儿脐带血 HBsAg 透过率范围为 0.02/%～0.13/%，HBeAg 透过率范围为 1.00/%～11.50/%，HBsAg 透过率低于 HBeAg 透过率（P<0.01）。

2.5 脐带血 HBsAg、HBeAg 及抗-HBc 阳性的新生儿随访结果

新生儿随访 12 个月，替比夫定组婴儿全部阻断成功，6 个月内血清 HBsAg 和 HBeAg 均消失。常规组 1 例婴儿于 6 个月检查 HBeAg 和 HBV DNA 均阳性，至 12 个月婴儿血清抗-HBc 仍为阳性，其余婴儿血清 HBsAg 和 HBeAg 于 6 个月内消失（表2）。

表2 2组新生儿 HBsAg、HBeAg 阳性和抗-HBc 随访情况[n(%)]

组别	HBsAg 阳性	HBeAg 阳性	抗-HBc 阳性
替比夫定组			
3个月	0	3/70(4.29%)	70/70(100.00%)
6个月	0	0	62/70(88.57%)
12个月	0	0	57/70(81.43%)
常规组			
3个月	1/15(6.67%)	2/15(13.33%)	15/15(100.00%)
6个月	1/15(6.67%)	1/15(6.67%)	15/15(100.00%)
12个月	1/15(6.67%)	1/15(6.67%)	14/15(93.33%)

3 讨论

HBV 母婴传播的机制是当前国内外广泛关注的热点问题。尽管乙肝疫苗联合 HBIG 双重免疫可有效阻断 HBV 母婴传播，但仍有 5%～10% 阻断失败[5-6]。孕妇分娩时 HBV DNA 高水平复制（$>10^6$ U/ml）是阻断失败的高危因素。核苷类似物可竞争性抑制 HBV DNA 复制，是目前首选的抗 HBV 药物之一。其中，可快速降低血清 HBV DNA 水平的拉米夫定和替比夫定被用于阻断 HBV 母婴传播，并取得了满意的效果[7]。而作为唯一国内上市的 FDA 妊娠 B 级药物，替比夫定是我国目前首选的用于阻断 HBV 母婴传播的核苷类似物。除可降低 HBV DNA 水平这一相关因素外，替比夫定对孕妇 HBV 抗原、胎盘透过率的影响及阻断母婴传播的机制尚未阐明。HBV 标志物定量检测技术的发展使对这一问题进行精确的研究成为可能。本研究通过比较两种母婴传播阻断方式的母亲及脐带血 HBV 标志物定量水平，探讨 HBV 抗原定量检测在评判母婴传播与感染中的地位，进一步了解替比夫定阻断母婴传播的机制。

妊娠时，机体免疫状态会发生相应的改变，主要表现为：循环颗粒白细胞和单核细胞的数目及活化状态增强、T 细胞和 NK 细胞功能抑制、Th1 型细胞因子分泌减少等，总体趋势倾向于更强的免疫耐受，以使胎儿免受母体免疫反应的伤害[10]。本研究发现妊娠末期替比夫定短期治疗并不能降低 HBV 抗原水平。考虑其原因除与用药时间短及孕妇多数处于 HBV 感染免疫耐受期有关外，可能还与妊娠所致的基础免疫改变有关。

既往研究多将脐带血 HBV 标志物的定性检出作为 HBV 母婴传播的证据。就此而言，本研究发现 2 组

的HBV标志物定性检出率并无差异;HBsAg为60%左右,HBeAg达90%以上,而抗-HBc则为100%。定量结果显示,HBV标志物阳性脐带血的HBsAg和HBeAg水平均极低,实际透过率HBsAg低于1%,HBeAg低于15%,而抗-HBc则可完全通过胎盘进入胎儿体内。众多研究者认为抗-HBc阳性为既往感染的标志之一,但本研究证实抗-HBc阳性并不一定代表感染,需要动态观察。

HBV通过胎盘屏障的机制与胎盘渗漏、胎盘各层细胞之间的传递、外周血单个核细胞感染以及生殖细胞感染等多种学说有关[11-12]。Xu等[13]研究发现胎盘屏障对HBV抗原的传播有显著的屏障作用,胎盘组织中检测到的HBsAg和HBcAg等浓度按抗-HBc、HBeAg、HBsAg依此递减。通过精确的定量检测,脐带血HBV抗原水平可以反映最终的HBV抗原胎盘透过率。本研究发现母亲HBV抗原水平对脐带血HBV抗原水平起决定作用,无论是否联合替比夫定阻断治疗,HBV抗原透过率均维持在稳定的低水平,其透过率按照HBeAg、HBsAg递减。值得注意的是,HBV抗原的大小正是按照HBeAg、HBsAg、Dane颗粒从小到大排列的,其中HBeAg是以游离状态和结合状态存在,在血液中罕见游离存在,常与血清蛋白结合,结合状态的HBeAg可通过胎盘上的IgG受体经胎盘进入胎儿血循环,HBsAg分子质量为2.4×10^6,为混合的多肽形式,Dane颗粒则为42 nm。由此可见,HBV抗原颗粒的大小可能在其透过胎盘屏障的能力中起着关键的作用。

目前临床上普遍认为诊断新生儿感染标准为6个月以后检测血清HBsAg阳性(或血清HBV DNA阳性)才能诊断感染,但这一时限仍缺乏足够的循证医学证据支持。除外感染的儿童,本研究显示HBV抗原在6个月内全部消失。HBV从传播到形成感染,必须满足HBV在婴儿肝脏定植及复制这一必要条件,而最终形成免疫耐受状态的慢性感染则与大量HBeAg诱导的Th1无应答和个体的免疫识别机制不健全有关[14]。因此,检测脐带血HBsAg、HBeAg及抗-HBc等传统HBV标志物并不具备评判是否发生最终感染的价值。

总之,本研究显示妊娠中晚期替比夫定治疗不能降低HBsAg和HBeAg水平,对HBsAg和HBeAg的胎盘检出率及透过率亦无影响;HBV标志物的胎盘透过率变低依次为抗-HBc、HBeAg、HBsAg。本研究和其他研究均证实HBsAg、HBeAg和抗-HBc能通过胎盘进入胎儿体内,但脐带血HBsAg、HBeAg及抗-HBc阳性对最终HBV感染与否无判断价值。

参考文献:

[1] Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection[J]. Int J Med Sci, 2005, 2(1): 50-57.

[2] Lee C, Gong Y, Brok J, *et al*. Effect of hepatitis B immunisation in newborn infants of mothers positive for hepatitis B surface antigen: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2006, 332(7537): 328-336.

[3] Shepard C W, Simard E P, Finelli L, *et al*. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination[J]. Epidemiol Rev, 2006, 28: 112-125.

[4] Lu F M, Zhuang H. Management of hepatitis B in China[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(1): 3-4.

[5] Wang Z, Zhang J, Yang H, *et al*. Quantitative analysis of HBV DNA level and HBeAg titer in hepatitis B surface antigen positive mothers and their babies: HBeAg passage through the placenta and the rate of decay in babies[J]. J Med Virol, 2003, 71(3): 360-366.

[6] Chang M H, Chen T H, Hsu H M, *et al*. Prevention of hepatocellular carcinoma by universal vaccination against hepatitis B virus: the effect and problems[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(21): 7953-7957.

[7] European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2012, 57(1): 167-185.

[8] Han G R, Cao M K, Zhao W, *et al*. A prospective and open-label study for the efficacy and safety of telbivudine in pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2011, 55(6): 1215-1221.

[9] Pan C Q, Han G R, Jiang H X, *et al*. Telbivudine prevents vertical transmission from HBeAg-positive women with chronic hepatitis B[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 10(5): 520-526.

[10] Betz A G. Tolerating pregnancy[J]. Nature, 2012, 4(490): 47-48.

[11] 李铁钢, 王素萍. 胎盘组织HBV感染及其机制的研究状况[J]. 现代预防医学, 2008, 35(21): 4241-4242, 4244.

[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] Xu D Z, Yan Y P, Choi B C, *et al*. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study[J]. J Med Virol, 2002, 67(1): 20-26.

[14] Durandy A. Development of the Immune System[J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 1997, 5(2): 93-97.

(**收稿**:2012-10-28;**修回**:2013-01-24)

(编辑 王 红)