

慢性乙肝孕妇血清 e 抗原对其婴儿联合免疫应答的影响

岳欣,江红秀,丁祎,张贤,张荣,韩国荣*

(东南大学附属第二医院妇产科,江苏 南京 210003)

[摘要] 目的:探讨慢性乙肝孕妇血清中乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)对婴儿联合免疫应答效果的影响。方法:选取 2008 年 1 月至 2011 年 1 月在东南大学附属第二医院妇产科产前检查及分娩 HBeAg 阳性孕妇及所生婴儿 128 对作为研究组,HBeAg 阴性孕妇及所生婴儿 88 对为对照组,两组婴儿在出生即刻及 15 d 注射乙型肝炎免疫球蛋白 200 U,并按常规 0、1、6 月龄方案分别注射基因重组乙型肝炎疫苗 20 μ g。所有婴儿于出生后未免疫预防前及 1、7、12 月龄采集静脉血,检测乙肝病毒标志物,观察婴儿血清 HBeAg 情况、联合免疫失败率及免疫应答反应。结果:① HBeAg 阳性孕妇的婴儿出生时 HBeAg 阳性率 95.31%;HBeAg 阴性孕妇的婴儿出生时 HBeAg 均为阴性。② HBeAg 阳性和阴性孕妇的婴儿进行联合免疫接种后在 7 月龄时免疫失败率分别为 6.25%、0%($P < 0.01$)。③ HBeAg 阳性孕妇免疫失败 8 例婴儿出生直至 12 月龄血清乙肝病毒表面抗体(HBsAb)均阴性,12 月龄时 HBeAg 明显高于出生时。④ HBeAg 阳性孕妇非免疫失败婴儿 12 月龄 HBeAg 均转阴;7、12 月龄时婴儿 HBsAb 滴度分别为(717.38 \pm 338.43) mU/ml、(476.46 \pm 322.27) mU/ml,与 HBeAg 阴性母亲的婴儿 7、12 月龄时 HBsAb 滴度(747.26 \pm 343.23) mU/ml、(532.31 \pm 341.61) mU/ml 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:母亲 HBeAg 阳性是联合免疫失败的高危因素,婴儿体内母源性 HBeAg 不影响婴儿免疫应答中 HBsAb 的产生。

[关键词] 乙型肝炎病毒;水平传播;乙型肝炎 e 抗原;乙型肝炎抗体

[中图分类号] R512.62

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2014)08-1105-03

doi:10.7655/NYDXBNS20140821

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)母婴传播是乙型肝炎的主要传播方式,尤其乙肝病毒表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)双阳性母亲的婴儿如不免疫阻断,85%~90%可成为慢性 HBV 感染者。目前对 HBsAg 和 HBeAg 双阳性母亲的婴儿,采用 HBV 疫苗加乙型肝炎免疫球蛋白进行主动与被动免疫,有效降低了婴儿感染率。HBeAg 可诱导免疫耐受,其分子量小,容易通过胎盘,因此当母亲 HBeAg 阳性时,母血中的游离 HBeAg 可通过胎盘进入胎儿体内,导致新生儿外周血 HBeAg 阳性。本研究即探讨母血中的 HBeAg 与所生婴儿联合免疫效果的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2008 年 1 月~2011 年 1 月在东南大学附属第二医院妇产科分娩的单胎妊娠,同时产后完成 12 个月系统追踪的 HBsAg 阳性产妇及所生婴儿 216 对作为研究对象,按母亲 HBeAg 检测结果分为

HBeAg 阳性组 128 对,HBeAg 阴性组 88 对。两组孕妇在年龄、分娩孕周、剖宫产率,新生儿在性别、体重等方面的差异无统计学意义。排除标准:①孕母合并甲、丙、丁戊型肝炎及人类免疫缺陷病毒感染;②孕母合并糖尿病、系统性红斑狼疮、贫血等其他疾病;③分娩孕周 < 37 周;④新生儿体重 < 2 500 g。

1.2 方法

1.2.1 婴儿免疫预防方法

所有孕妇临产前采集静脉血检测 HBV 血清标志物。所生婴儿出生即刻及出生后 15 d 分别于臀大肌注射人乙肝免疫球蛋白(hepatitis B immunoglobulin,HBIG)200 U(四川蜀阳有限公司,规格 200 U/支),婴儿 0、1、6 月龄于三角肌注射基因工程乙型肝炎疫苗 20 μ g(长春生物制品研究所,规格 10 μ g/支)。所有婴儿于出生后未免疫预防前采集并检测 HBV 标志物、HBV DNA 定量,出生后 1、7、12 月龄采集静脉血,检测 HBsAg、HBeAg 和乙肝病毒表面抗体(HBsAb)确定阻断结果。

1.2.2 实验检测

乙肝血清标志物检测:采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,ELISA 试剂盒购自上海科华生物技术公司;血清 HBV DNA 定量:采用荧光定量 PCR

[基金项目] 江苏省自然科学基金重点项目(BK2010026)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:hgr518@163.com

方法,试剂盒购自上海科华生物技术公司,HBV DNA的检测范围为 $5 \times 10^2 \sim 1 \times 10^9$ copies/ml。

1.2.3 诊断标准

婴儿出生时HbsAg阳性和(或)HBV DNA阳性并持续至1个月以上为宫内感染;婴儿出生时HBsAg阳性和(或)HBV DNA阳性至1月龄时转阴为HBV产时感染。婴儿完成免疫后HBsAg阳性,HBsAb阴性为免疫预防失败。婴儿完成免疫后HBsAg阴性,HBsAb < 10 mU/ml为无免疫应答,HBsAb ≥ 10 mU/ml为免疫应答阳性,10~99 mU/ml为低免疫应答,100~999 mU/ml为中免疫应答, $> 1\ 000$ mU/ml为高免疫应答^[1]。

1.3 统计学方法

采用SPSS13.0软件进行数据处理。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用 t 检验;计数资料用率表示,组间差异采用 χ^2 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 母亲HBeAg与婴儿出生时HBeAg的关系

128例HBeAg阳性孕妇的婴儿出生时122例HBeAg阳性,阳性率95.31%;出生时6例HBeAg阴性婴儿,其母亲HBeAg值均在10 s/co以下。HBeAg阴性88例孕妇的婴儿出生时HBeAg均为阴性。

2.2 婴儿免疫应答情况

2.2.1 母亲HBeAg与婴儿免疫失败的关系

128例HBeAg阳性孕妇的婴儿进行联合免疫接种后,在7月龄时8例免疫失败,失败率6.25%,88例HBeAg阴性孕妇所生婴儿免疫失败率0%,两

组比较差异有显著性($\chi^2 = 5.71, P < 0.05$)。8例宫内感染婴儿母亲HBV DNA滴度均为高病毒载量。7例宫内感染婴儿母亲HBV DNA滴度 $> 1.0 \times 10^7$ copies/ml,其中5例婴儿母亲HBV DNA滴度 $> 1.0 \times 10^8$ copies/ml;另1例婴儿母亲HBV DNA滴度 $1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7$ copies/ml。HBeAg阳性、阴性孕妇的婴儿7月龄免疫无应答率分别为0.78%、0%($\chi^2 = 0.74, P > 0.05$),两组比较无显著性差异。

2.2.2 免疫失败婴儿血清HBeAg和HBsAb滴度的变化

8例免疫失败婴儿均为宫内感染,出生时HBsAg、HBeAg及HBV DNA均阳性,经过联合免疫后仍持续阳性,至12月龄时HBeAg滴度($1\ 202.75 \pm 172.16$) s/co,明显高于出生时(305.91 ± 336.29) s/co($t = 3.13, P = 0.001$)。免疫失败婴儿出生直至12月龄血清HBsAb均阴性。128例HBeAg阳性孕妇所生婴儿中非免疫失败婴儿出生时HBeAg滴度(126.78 ± 211.56)s/co,明显低于免疫失败婴儿($t = 2.33, P = 0.014$)。

2.2.3 非免疫失败婴儿HBsAb与母亲HBeAg的关系

母亲HBeAg阳性所生婴儿7月龄组HBsAb滴度与HBeAg阴性组差异无统计学意义,母亲HBeAg阳性所生婴儿12月龄组HBsAb滴度与HBeAg阴性组差异亦无统计学意义(表1)。

2.2.4 非免疫失败婴儿血清HBeAg滴度的变化

114例血清中HBeAg(+)非免疫失败婴儿,血清中HBeAg逐渐下降,至7月龄时3例婴儿HBeAg阳性,随访至12月龄时3例婴儿HBeAg均转阴,在HBeAg消减过程中,无1例婴儿产生HBsAb。

表1 非免疫失败婴儿7月龄及12月龄的免疫应答效果

分组	n	HBsAb(mU/ml, n)				平均值 (mU/ml)	t值	P值
		0~	10~	100~	1 000~			
7月龄								
HBeAg(+)	120	1	5	59	55	717.38 \pm 338.43	0.563	0.575
HBeAg(-)	88	0	2	35	50	747.26 \pm 343.23		
12月龄								
HBeAg(+)	120	1	12	86	21	476.46 \pm 322.27	0.971	0.333
HBeAg(-)	88	0	9	59	18	532.31 \pm 341.61		

3 讨论

HBV呈世界性流行,乙肝病毒母婴传播是中国乙肝感染的主要途径^[2]。HBeAg及HBV DNA是母婴传播的高危因素,近年来随着婴儿乙肝疫苗及乙肝免疫球蛋白的联合免疫接种,80%~90%母婴传播

得到明显阻断^[3-4],是目前阻断乙肝病毒母婴传播的有效手段。本研究中HBeAg阳性孕妇婴儿联合免疫失败率6.25%,而HBeAg阴性孕妇婴儿联合免疫失败率0%,两组比较差异有显著性,与Wiseman等^[5]报告一致,进一步表明孕妇HBeAg也是婴儿联合免疫失败的高危因素。HBV母婴垂直传播包括产前、

产时和产后传播,联合免疫主要针对急性暴露于HBV,刚进入机体内的HBV是可被免疫阻断的,类似于产时婴儿接触母血情况;另一方面,联合免疫接种后多数婴儿体内能产生一定水平的乙肝表面保护性抗体,预防HBV产后水平传播。而体内已感染HBV肝细胞产生的HBsAg对疫苗接种产生耐受,因此联合免疫对乙肝病毒宫内感染婴儿无效,导致免疫失败。

由于游离HBeAg分子量小,容易通过胎盘,因此当母亲HBeAg阳性时,母血中的游离HBeAg容易在妊娠及分娩过程中通过胎盘进入胎儿体内,导致新生儿出生后外周血HBeAg血症,而并非宫内感染。绝大部分HBeAg在出生后6个月内会被机体清除转为阴性^[6]。本研究显示,128例血清中HBeAg阳性母亲婴儿血清HBeAg阳性122例,阳性率达95.31%,包括非宫内感染婴儿114例和宫内感染婴儿8例。非宫内感染婴儿,血清中母源性HBeAg逐渐下降,至7月龄时3例婴儿HBeAg阳性,随访至12月龄时3例婴儿HBeAg均转阴。本研究中在非宫内感染婴儿体内母源性HBeAg清除的过程中,并未发现HBeAb的产生,进一步提示婴儿对HBeAg发生免疫耐受;宫内感染婴儿出生时HBeAg滴度(305.91 ± 336.29)s/co,由于婴儿体内病毒复制,不断的产生HBeAg,因此对乙肝疫苗接种无反应,至12月龄时HBeAg滴度($1\ 202.75 \pm 172.16$)s/co,明显高于出生时。

本研究发现,HBeAg阳性组母亲的非宫内感染婴儿、HBeAg阴性组母亲的婴儿经全程联合免疫接种后在7、12月龄HBsAb两组间差异无统计学意义;同时,全程接种后在7、12月龄HBeAg(+)组中HBsAg未出现阳性率。经过联合免疫后,母亲HBeAg阳性及滴度的高低对非宫内感染婴儿体内HBsAb的产生无影响。提示目前的免疫措施有可能打破胎儿HBeAg存在引起的免疫耐受状态,从而有效阻断婴儿出生后的HBV感染。一般认为HBeAg或其衍生肽可能通过胎盘而抑制甚至清除胎儿体内

HBeAg特异的T辅助细胞(T helper cell,Th细胞)。但是通过免疫调控治疗,HBeAg特异的Th细胞有可能恢复功能。

研究结果表明,HBeAg和HBV DNA双阳性的母亲,高病毒载量是HBV母婴阻断失败的独立危险因素^[7]。联合免疫不能阻断宫内感染婴儿,有研究显示^[8],在产前3个月用核苷类药物抑制孕妇血清中HBV DNA,可有效降低婴儿HBV感染率,预期可提高联合免疫的母婴阻断效率。

[参考文献]

- [1] 张文宏,李欣.乙型肝炎疫苗免疫策略研讨会会议纪要[J].中华传染病杂志,2005,23(6):432-433
- [2] 朱徐,张兴录,柴峰,等.中国10个省乙型肝炎疫苗接种率及其影响因素[J].中国计划免疫,2008,4(4):217-218
- [3] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assessing completeness of perinatal hepatitis B virus infection reporting through comparison of immunization program and surveillance data-United States [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep,2011,60(13):410-413
- [4] 中华医学会肝病学会和感染病分会.慢性乙肝防治指南[J].中华传染病杂志,2011,29(1):11-23
- [5] Wiseman E,Fraser MA,Holden S,et al. Perinatal transmission of hepatitis B virus:an Australian experience [J]. Med J Aust,2009,190(9):489-492
- [6] Selton D,Andre M,May T,et al. Hepatitis B e-antigen positive mother hepatitis B e-antigen long persistence in heron-infected baby [J]. Acta Paediatr,2007,96(2):314-316
- [7] 邓新清,徐志一,欧阳佩英,等.母亲血清乙型肝炎表面抗原、e抗原滴度与新生儿接种乙型肝炎疫苗免疫失败的关系[J].中华传染病杂志,2000,18(4):232
- [8] Han GR,Cao MK,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

[收稿日期] 2013-05-06