

乙肝孕妇服用替比夫定对新生儿阻断效果及外周血 T 细胞亚群和补体的影响

王根菊, 韩国荣*, 江红秀, 王翠敏, 丁 祎

(东南大学医学院附属南京第二医院妇产科, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的:探讨乙肝表面抗原(HBsAg)阳性孕妇孕期服用替比夫定后母婴阻断的效果,及其新生儿外周血中 T 细胞亚群和补体的变化。方法:选取 40 例 HBsAg 阳性孕妇,HBV-DNA 载量 $\geq 1 \times 10^6$ U/mL,自愿在 24~28 周服用替比夫定为服药组,另选取 40 例孕期没有服用替比夫定的 HBsAg 阳性患者作为对照组,两组新生儿出生即刻抽取外周血检测 HBV-DNA、T 细胞亚群及补体。比较两组新生儿母婴阻断效果及外周血中 T 细胞亚群和补体的变化。结果:服药组新生儿外周血中 T 细胞亚群及补体与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),服药组新生儿阻断成功率 100.0%,对照组阻断失败率 7.5%。但是两组统计学差异不显著。结论:HbsAg 阳性孕妇服用替比夫定对其新生儿 T 细胞亚群及补体水平无明显影响。

[关键词] T 细胞亚群;替比夫定;补体 C3、C4;HBV-DNA

[中图分类号] R512.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)11-1507-03

doi:10.7655/NYDXBNS20171133

在中国近一半以上乙肝患者的感染途径是母婴垂直传播,在过去的几十年中,携带乙肝病毒的孕母妊娠晚期注射乙肝高效价免疫球蛋白,联合新生儿出生后的主被动免疫,阻断母婴垂直传播的成功率可达到 90%以上,但是仍然还有约 10%的新生儿会发生宫内感染而演变为乙肝病毒携带者。宫内感染是母婴阻断的瓶颈,核苷类似物的应用,使宫内感染率大大降低。本院前期研究中,对乙肝病毒高载量的孕妇应用替比夫定,母婴阻断成功率接近 100%。但是服用替比夫定后对于新生儿有无影响,尤其是新生儿免疫状态有无变化,未见文献报道。本研究选取了 2009 年 1 月—2015 年 12 月在南京市第二医院分娩的乙肝表面抗原(HBsAg)阳性的孕妇 80 例分为服药组和对照组,并对两组孕妇所生婴儿的母婴阻断效果、外周血中 T 细胞亚群及补体进行检测,以了解孕妇服用替比夫定后对其新生儿免疫系统有无影响。

1 对象和方法

1.1 对象

HBsAg 阳性孕妇 80 例分为服用替比夫定的服药组及未服用替比夫定的对照组,每组 40 例,年龄 20~38 岁,孕周 22~41 周。80 例孕母所分娩的新生

儿也纳入研究。入选标准:①孕妇血清 HBsAg 阳性,肝功能正常,且 HBV-DNA $\geq 1 \times 10^6$ U/mL,妊娠 12 周左右开始建卡,产检相关资料齐全;②签订知情同意书;③24~28 周按要求服药,配合治疗和随访。排除标准:①合并任何其他病毒、细菌及梅毒螺旋体感染;②有对核苷类似物过敏史;③存在基础疾病,合并严重内科疾病或其他重要器官的严重疾患。

1.2 方法

1.2.1 T 细胞亚群的测定

服药组和未服药组孕妇的新生儿出生时,均抽取外周静脉血,利用流式细胞仪(FACSCalibur, BD 公司,美国)检测 T 细胞亚群。检测步骤如下:计数管中加入 50 μ L 新鲜全血,于全血中加入 CD3-Percp、CD4-FITC、CD8-PE 试剂(BD 公司,美国)表面染色,溶血素溶血处理后,打开 Multiset 程序,进行自动检测。

1.2.2 补体的测定

检测补体采用补体单体 C4、C3 测定试剂盒(德灵公司,德国),正常人参考值为 0.8~1.6 g/L。两组孕妇的新生儿出生时,分别静脉采血 2 mL,以 1 500 r/min 离心 5 min,取血清-20 $^{\circ}$ C 保存。样本均采用免疫比浊法测定,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 HBV-DNA 和 HBV 标志物的测定

采新生儿股静脉血以检测 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc 水平与 HBV-DNA 滴度。HBV-M 的检测采用微粒子法(雅培公司,美国);HBV-DNA 的定量检测采用荧光定量 PCR 方法(上

[基金项目]江苏省科技厅重大临床专项(BL2140006)

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

海科华生物工程公司),检测范围 $5 \times 10^2 \sim 1 \times 10^8$ U/mL。

1.3 统计学方法

统计资料采用 SPSS16.0 软件处理,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验方法,两组率的比较采用确切概率法, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

服药组及对照组新生儿 T 细胞亚群比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05 ,表 1)。

表 1 两组新生儿 T 细胞亚群的比较 (%)

组别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
服药组	14.38±15.57	69.13±9.44	29.01±8.67	2.62±1.68
对照组	20.95±23.18	64.73±15.06	31.41±9.08	3.08±4.36
<i>t</i> 值	-1.489	1.567	-1.209	-0.629
<i>P</i> 值	0.141	0.121	0.230	0.531

服药组与对照组补体 C3、C4 的数值接近,差异无统计学意义(表 2)。但是服药组的 e 抗原较对照组偏低,虽然差异无统计学意义,考虑是否与本次样本量不是足够大有关,扩大样本量是否会有不同发现,有待继续研究。

表 2 两组新生儿出生时外周血中补体 C3、C4 及 e 抗原的变化

组别	C3(g/L)	C4(g/L)	e 抗原(S/CO)
服药组	0.56±0.25	0.21±0.18	76.37±11.24
对照组	0.59±0.24	0.20±0.18	116.80±18.09
<i>t</i> 值	0.548	-0.190	1.202
<i>P</i> 值	0.586	0.850	0.234

新生儿出生即刻抽取外周静脉血,服药组 HBsAg(-)、HBV-DNA(-)新生儿为 82.5%,对照组为 80.0%。出生 7 个月时检测服药组 HBsAg(-)、HBV-DNA(-)比例为 100.0%,没有新生儿发生宫内感染,后续随访时这些新生儿阻断全部成功,阻断成功率 100.0%,宫内感染率为 0。对照组出生 7 个月时检测 3 例诊断为宫内感染 HBsAg(+),HBV-DNA(+)(7.5%),母婴阻断失败率 7.5%(表 3)。新生儿出生时服药组与对照组的 HBV 母婴传播率比较差异没有统计学意义($P=0.775$),7 月龄时服药组与对照组 HBV 母婴传播率比较差异也无统计学意义($P=0.077$)。

3 讨论

妊娠期乙肝病毒 HBV-DNA 的高水平复制,是乙肝病毒母婴传播的唯一独立危险因素^[1-2]。也是导致婴儿宫内感染使母婴阻断失败的重要原因。已有

表 3 服药组及未服药组新生儿出生时及 7 月龄 HBV 母婴传播情况比较 [n(%)]

指标	出生时		7 月龄	
	服药组	对照组	服药组	对照组
HBsAg(-)、HBV-DNA(-)	33(82.5)	32(80.0)	40(100.0)	37(92.5)
HBsAg(+),HBV-DNA(-)	7(17.5)	5(12.5)	0(0)	0(0)
HBsAg(+),HBV-DNA(+)	0(0)	3(7.5)	0(0)	3(7.5)
HBV 母婴传播率(%)	7(17.5)	8(20.0)	0(0)	3(7.5)

研究表明,病毒载量越高,肝脏的炎症及纤维化程度越重,对母婴健康威胁也就越大^[3-4]。加强孕期检测,及时抗病毒治疗,可以有效减少妊娠并发症的发生及对围产儿不良结局的影响^[5]。乙肝病毒本身不会引起肝损伤,但通过激活机体的免疫反应,可间接引起肝细胞破坏^[6-9]。替比夫定是目前已经被肝病指南推荐为 HBV-DNA 高载量孕妇的一线用药,使用替比夫定抗病毒可以解决乙肝病毒母婴阻断的瓶颈即宫内感染问题,有望阻断乙肝病毒的母婴传播。现有报道均限于对成人细胞免疫功能的影响,而鲜见有关替比夫定治疗后孕妇所分娩的新生儿免疫功能变化的报道。

机体有体液免疫和细胞免疫两种方式,血液中各类 T 淋巴细胞亚群之间的相互制约、协作,对于维持正常人体的免疫功能状态很重要,机体的免疫平衡更是有赖于各种免疫细胞的相互平衡及比例的稳定。补体在体液免疫中也占有重要作用,补体 C3、C4 的升高或降低能够反映机体的体液免疫状况,故本研究选择检测 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、补体 C3、补体 C4。通过分析这些指标,明确 HBsAg 阳性孕妇服用替比夫定后,其所分娩的婴儿补体及 T 细胞亚群是否会发生变化。本研究显示,服用替比夫定孕妇所生新生儿与对照组比较,虽然数值稍有差异,但是对新生儿 T 淋巴细胞亚群及补体 C3、C4 无明显影响。

替比夫定分子量很小,为 242.23 Da,可以通过胎盘到达胎儿体内,临床观察与实验研究均显示其有较强的 e 抗原阴转作用和血清学转换率,具体机制尚不明确。替比夫定系核苷类似物,既往临床研究显示其抑制病毒复制的作用较强,除了具有较高的 e 抗原转换率还可使丙氨酸氨基转移酶复常^[10-11],且能在一定程度上改善患者免疫功能^[12-14]。我们发现有部分孕妇服用替比夫定抗病毒后短期出现肝功能异常,e 抗原清除较快,病情稳定。本研究中服用替比夫定的孕妇,其新生儿出生后 e 抗原较对照组低,但统计学差异不显著,考虑与病例数少有关。

本研究显示服药组阻断成功率达到 100.0%, 对照组达到 92.5%, 这与替比夫定降低了乙肝病毒 HBV-DNA 滴度密切相关。因为孕妇从 24~28 周服用替比夫定, 服药至分娩时的时间较短, 扩大病例后是否会有所不同, 期待后续的研究结果。替比夫定为妊娠 B 级药物, 对母婴相对安全, 抗病毒作用强^[15], 但是如果患者长期应用存在病毒变异和耐药风险, 同时也加重其经济负担。本研究服药组在孕 24~28 周开始服替比夫定能有效阻断母婴传播, 未发生新生儿感染病例。而对照组发生了 3 例宫内感染。两组新生儿出生时 HBsAg 阳性率分别为 17.5%、12.5%, 部分新生儿属于假阳性, 至 7 月龄时两组 HBsAg 阳性率分别降至 0 和 7.5%, 考虑可能与产时抽血污染有关。

除此之外替比夫定还有类似干扰素的作用, 可以调节机体免疫, Evans 等^[12]在替比夫定治疗过程中, 发现其在大幅度降低病毒和 e 抗原数量的同时, 也可以有效降低 T 细胞数量。对 T 细胞的活化和功能具有负向调控作用。因此通过替比夫定抗病毒治疗, 可以部分恢复机体免疫功能。本研究服药组和对照组的新生儿 T 细胞亚群及免疫补体差异均无统计学意义, 考虑与新生儿免疫状态尚不成熟有关。但是本组资料未显示服药组新生儿与对照组新生儿有区别, 是否与孕母服用替比夫定的时间短及例数偏少有关, 如果扩大样本, 延长胎儿的药物暴露时间, 以上指标是否有区别, 有待后续研究。

综上所述, 合适的孕周服用替比夫定对新生儿外周血 T 细胞亚群及免疫补体 C3、C4 无明显影响, 但是可有效阻断新生儿宫内感染, 使乙肝病毒母婴零传播成为可能。

[参考文献]

- [1] 方芳, 易为, 张丽菊, 等. HBV 垂直传播儿童免疫失败影响因素分析[J]. 中华实验与临床感染病杂志(电子版), 2012, 6(4): 292-295
- [2] 王爱喜, 王世超. 妊娠合并病毒性乙型肝炎母婴阻断的临床观察[J]. 中国医学创新, 2013, 10(4): 137-138
- [3] 刘爱菊, 赵建夫, 陈淑彦, 等. 蚤休和古拉定联用治疗妊娠合并病毒性肝炎临床体会[J]. 中国医学创新, 2014, 11(3): 9-11

- [4] 杨兰艳, 刘海, 郑盛, 等. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV DNA 水平与肝纤维化指标的相关性研究[J]. 中国医学创新, 2011, 8(14): 45-46
- [5] 刁俊春, 干宁. 肝功能异常与妊娠并发症的关系及对围生儿的影响[J]. 安徽医学杂志, 2011, 32(6): 782-784
- [6] Webster GJ, Reignat S, Maini MK, et al. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms[J]. *Hepatology*, 2000, 32(5): 1117-1124
- [7] Rapicetta M, Ferrari C, Levrero M. Viral determinants and host immune responses in the pathogenesis of HBV infection[J]. *J Med Virol*, 2002, 67(3): 454-457
- [8] Tanner MS. Mechanisms of liver injury relevant to pediatric hepatology[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2002, 39(1): 51-61
- [9] Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(8): 1269-1280
- [10] Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(2): 486-495
- [11] Hou JL, Yin YK, Xu D, et al. Telbivudine versus lamivudine in Chinese patients with chronic hepatitis B: Results at 1 year of randomized, double-blind trial[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2): 447-454
- [12] Evans A, Riva A, Cooksley H, et al. Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: Impact of hepatitis B e-antigen seroconversion[J]. *Hepatology*, 2008, 48(3): 759-769
- [13] Lamberth JR, Reddy SC, Pan JJ, et al. Chronic hepatitis B infection in pregnancy[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(9): 1233-1237
- [14] Nurutdinova D, Onen NF, Hayes E, et al. Adverse effects of tenofovir use in HIV-infected pregnant women and their infants[J]. *Ann Pharmacother*, 2008, 42(11): 1581-1585
- [15] Chen HL, Lee CN, Chang CH, et al. Efficacy of maternal tenofovir disoproxil fumarate in interrupting mother-to-infant transmission of hepatitis B virus[J]. *Hepatology*, 2015, 62(2): 375-386

[收稿日期] 2017-05-02