

新生儿HBV血清标志物及免疫状态与乙型肝炎疫苗无/弱应答的关系

张芳 王素萍 史晓红 王雪飞 高怡 郭健 张临瑞 王婷 温海秀
许喜喜 杨志清 王斌 汪波 丰淑英

030001 太原,山西医科大学流行病学教研室(张芳、王素萍、史晓红、王雪飞、高怡、郭健、张临瑞、王婷、温海秀、许喜喜、杨志清、王斌); 030001 太原市第三人民医院妇产科(汪波、丰淑英)

通信作者:王素萍, Email: spwang88@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.08.004

【摘要】 目的 探讨新生儿HBV血清标志物及免疫状态对乙型肝炎(乙肝)疫苗无/弱应答的影响。方法 选择2011年7月至2013年7月太原市第三人民医院妇产科HBsAg阳性孕产妇及其足月新生儿386对,按我国0-1-6月免疫接种程序对新生儿进行乙肝疫苗接种并随访至12月龄。采用化学发光法检测孕产妇、新生儿及其12月龄(婴儿)的外周血HBV血清标志物HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe和抗-HBc水平;利用流式细胞术及ELISA检测新生儿及婴儿的外周血TLR3蛋白表达量及T淋巴细胞亚群、B淋巴细胞、树突状细胞(DCs)数量和Th1/Th2型细胞因子水平。结果 新生儿HBV血清标志物以“HBeAg⁺抗-HBe⁺”、“HBsAg⁺HBeAg⁺抗-HBe⁺”、“HBsAg⁺”和“HBV血清标志物全阴,HBVM⁻”为主;“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下婴儿乙肝疫苗无/弱应答率为5.2%,低于其他3种模式的20.0%、40.0%和22.5%。4种主要HBV血清学模式下婴儿的CD₄⁺T淋巴细胞和CD₈⁺T淋巴细胞数量、新生儿及婴儿IL-6水平差异有统计学意义。“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下新生儿及婴儿的IL-6水平均高于“HBVM⁻”模式;新生儿及婴儿的IL-6水平均与抗-HBs水平呈正相关;血清IL-6水平>112.0 pg/ml的新生儿发生乙肝疫苗无/弱应答的风险下降了61.4%(OR=0.386, 95% CI: 0.266~0.561, P<0.001)。结论 新生儿“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式及高水平IL-6者的乙肝疫苗无/弱应答率较低,新生儿各血清学标志物组合模式与免疫状态的关系有待进一步研究。

【关键词】 乙型肝炎病毒血清学标志物模式; 乙肝疫苗无/弱应答; 新生儿; 白介素-6

基金项目:国家自然科学基金(81072341); 山西省普通高校特色重点学科建设(C01201007); 山西省留学人员科研基金(2008-50)

Relationship between the mode of HBV marker and immune status in neonates and non-/hypo-response to hepatitis B vaccine Zhang Fang, Wang Suping, Shi Xiaohong, Wang Xuefei, Gao Yi, Guo Jian, Zhang Linrui, Wang Ting, Wen Haixiu, Xu Xixi, Yang Zhiqing, Wang Bin, Wang Bo, Feng Shuying

Department of Epidemiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China (Zhang F, Wang SP, Shi XH, Wang XF, Gao Y, Guo J, Zhang LR, Wang T, Wen HX, Xu XX, Yang ZQ, Wang B); Obstetrics and Gynaecology Department, Third People Hospital of Taiyuan City, Taiyuan 030001, China (Wang B, Feng SY)

Corresponding author: Wang Suping, Email: spwang88@163.com

【Abstract】 Objective A prospective study was conducted to explore the influence of neonatal modes of HBV marker (HBVM) on non-/hypo-response to hepatitis B vaccine in infants. **Methods** From July 2011 to July 2013, a total of 386 pregnant women who showed serum HBsAg positive with their neonates at birth and another 227 infants at 12 months admitted in the Third People's Hospital of Taiyuan in Shanxi province, China. All infants received hepatitis B vaccine with the 0-1-6 month schedule. Maternal, neonatal and infantile HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe and anti-HBc were measured by chemiluminescence-immunoassay. The neonatal/infantile PBMC TLR3 expression level and the quantities of T cell subsets, B cells, DCs were measured by Flow Cytometry. The neonatal/

infantile Th1/Th2 cytokines were measured by ELISA. **Results** Four types of common neonatal modes of HBVM appeared as “HBeAg⁺anti-HBe⁺”, “HBsAg⁺HBeAg⁺anti-HBe⁺”, “HBsAg⁺” and “HBVM⁻”, respectively. The overall rate of non-/hypo-response to hepatitis B vaccine in neonatal mode of “HBeAg⁺anti-HBe⁺” was 5.2%, lower than that seen in the other three types of mode (20.0%, 40.0% and 22.5%, respectively). The frequencies of circulating CD4⁺ T cells and CD8⁺ T cells were significantly different among four common modes of HBVM in infants. Meanwhile, the level of IL-6 in mode of “HBeAg⁺anti-HBe⁺” was higher than that in the mode of “HBVM⁻” at two points. There was a positive correlation appeared between the level of IL-6 and the level of anti-HBs. It was quite unlikely to show non-/hypo-response to hepatitis B vaccine, when neonates were at the level as IL-6 > 112.0 pg/ml (*OR* = 0.386, 95% *CI*: 0.266–0.561, *P* < 0.001). **Conclusions** Neonates who were with the mode of “HBeAg⁺anti-HBe⁺” and high level of IL-6 showed a lower non-/hypo-response rate on hepatitis B vaccine. It is necessary to further study the relationship between neonatal mode of HBVM and the immune status.

【Key words】 Modes of hepatitis B virus marker; Non-/hypo-response of hepatitis B vaccine; Neonate; Interleukin-6

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81072341); Science and Technology Innovation Foundation of Shanxi Medical University (C01201007); Returned Personnel Science Research Project of Shanxi Province (2008–50)

新生儿接种乙型肝炎(乙肝)疫苗是阻断HBV母婴传播最有效的方法^[1],但最近的文献报道显示,国内HBsAg阳性孕产妇的12月龄婴儿乙肝疫苗无/弱应答率仍高达27.4%~30.2%^[2-3]。HBV血清标志物与HBV感染密切相关^[4-5],且新生儿自身的免疫功能受HBV感染的调节^[6-7],推测新生儿HBV血清学模式可能会影响其免疫状态,进而影响乙肝疫苗免疫效果。本研究旨在了解HBsAg阳性孕产妇的新生儿HBV血清学模式与乙肝疫苗无/弱应答的关系;进而从新生儿外周血Toll样受体3(TLR3)及相关免疫细胞和Th1/Th2型细胞因子方面探讨新生儿HBV血清学模式及其免疫状态对乙肝疫苗无/弱应答的影响。

对象与方法

1. 研究对象:2011年7月至2013年7月太原市第三人民医院妇产科HBsAg阳性孕产妇及其足月分娩的新生儿386对,收集孕产妇及新生儿流行病学资料。采集孕产妇孕期肘静脉血及新生儿出生后24 h内主、被动免疫前股静脉抗凝和非抗凝血各3 ml。按照我国0–1–6月免疫接种程序对新生儿进行乙肝疫苗接种和出生24 h内注射200 IU乙肝高效价免疫球蛋白。随访至12月龄(婴儿,227例),收集流行病学资料,并采集其股静脉抗凝和非抗凝血各3 ml。所有血液样本置于-80℃冰箱保存。本研究经山西医科大学伦理委员会批准,所有孕产妇均签署知情同意书。

2. HBV血清标志物检测:化学发光免疫试验(CLIA)检测孕产妇、新生儿及婴儿的HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc。婴儿乙肝疫苗

免疫应答判定标准:抗-HBs < 100 mIU/ml为无/弱应答;抗-HBs ≥ 100 mIU/ml为强应答^[8-9]。HBV血清标志物(HBVM)试剂盒购于德国罗氏诊断有限公司。

3. 外周血TLR3蛋白和免疫细胞的检测:分离外周血单个核细胞(PBMC),采用流式细胞术(FCM)检测新生儿及婴儿的PBMC TLR3蛋白表达量及外周血树突状细胞(DCs)、CD4⁺ T淋巴细胞、CD8⁺ T淋巴细胞、CD19⁺ B淋巴细胞和FoxP3⁺ (CD4⁺ CD25⁺)调节性T淋巴细胞数量。检测TLR3蛋白用的羊抗鼠IgG-FITC和TLR3鼠抗人抗体购于美国Santa Cruz公司;检测免疫细胞所用的单克隆抗体均购于美国eBioscience公司。使用Cell Quest软件进行结果分析。从外周血中检测的细胞数量是指相对数量,用百分数(%)表示。

4. 外周血细胞因子的检测:采用ELISA检测新生儿及婴儿的血清白介素(IL)-12p40(IL-12p40)、IL-6、IL-10、IL-2、IL-4和干扰素-γ(IFN-γ)水平。IL-12p40、IL-6、IL-10、IL-2、IL-4和IFN-γ的检出限分别为15、23.3、11、50、14.5和20 pg/ml。标准曲线的决定系数:*R*² > 0.997。细胞因子检测试剂盒购于生工生物工程(上海)股份有限公司。

5. 统计学方法:采用SPSS 20.0软件进行统计学分析。定量资料组间的比较采用方差分析或秩和检验;用“ $\bar{x} \pm s$ ”表达服从正态分布的资料,用“*M*值(*Q_R*)”表达呈偏态分布的资料。定性资料组间的比较采用χ²检验。*OR*值及其95%*CI*的计算采用logistic回归分析。不服从正态分布变量的相关性分析采用Spearman秩相关分析。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. HBsAg 阳性孕产妇及其新生儿 HBV 血清学模式: 386 对 HBsAg 阳性孕产妇及其新生儿 HBV 血清学模式共 15 种, 见表 1。其中, HBsAg 阳性孕产妇 HBV 血清学模式有 10 种, 为表 1 所列第 1~10 种; 新生儿 HBV 血清学模式也有 10 种, 为表 1 所列第 1、2、3、4、7、11~15 种。

(1) HBsAg 阳性孕产妇及其新生儿 HBV 血清学模式种类: 386 例 HBsAg 阳性孕产妇的 10 种 HBV 血清学模式中以模式 1 多见, 占孕产妇总数的 47.4% (183/386), 模式 2 次之, 占 37.6% (145/386), 为 HBsAg 阳性孕产妇的 2 种主要模式, 共 328 例。其余模式占孕产妇总数的比例均较低, 其中模式 8 (大三阳) 和模式 9 (小三阳) 这 2 种传统模式各占 0.5% (2/386)。328 例新生儿的 10 种 HBV 血清学模式中以模式 15 最多见, 占新生儿总数的 50.3% (165/328); 其次为模式 11、模式 2 和模式 1, 分别占新生儿总数的 29.6% (97/328)、8.8% (29/328) 和 4.0% (13/328), 其他模式所占比例均较少。见表 1。

(2) HBsAg 阳性孕产妇及其新生儿 HBV 血清学模式种类的关系: HBsAg 阳性孕产妇 2 种主要模式下其新生儿 4 种主要模式所占比例的差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。HBsAg 阳性孕产妇模式 1 下其新生儿以模式 15 多见, 占该模式下新生儿总数的 90.2% (156/173); HBsAg 阳性孕产妇模式 2 下其新生儿以模式 11 多见, 占该模式下新生儿总数的 71.0% (93/131)。见表 2。

2. 新生儿 4 种主要 HBV 血清学模式与婴儿乙肝疫苗免疫应答的关系:

(1) 新生儿 4 种主要 HBV 血清学模式下婴儿抗体水平的比较: 4 种主要模式 (即模式 11、2、1、15) 的新生儿共 304 例, 共随访到婴儿 227 例, 随访婴儿与未随访婴儿在孕周、身长和体重等方面差异无统计学意义

($P > 0.05$)。新生儿 4 种模式下婴儿抗体水平的差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 且模式 11 婴儿抗体水平均高于其他 3 种模式。见表 3。

(2) 新生儿 4 种主要 HBV 血清学模式与婴儿乙肝疫苗无/弱应答的关系: 227 例婴儿乙肝疫苗无/弱应答率为 17.2% (39/227), 强应答率为 82.8% (188/227)。新生儿各模式无/弱应答率的差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 且无/弱应答率由低到高依次为模式 11 (5.2%) < 模式 2 (20.0%) < 模式 15 (22.5%) < 模式 1 (40.0%)。同时新生儿模式 11 发生乙肝疫苗

表 1 HBsAg 阳性孕产妇及其新生儿 HBV 血清学标志物检出模式

模式种类	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc	孕产妇		新生儿	
						例数	构成比(%)	例数	构成比(%)
1	+	-	-	-	-	183	47.4	13	4.0
2	+	-	+	+	-	145	37.6	29	8.8
3	+	+	-	-	-	16	4.1	1	0.3
4	+	+	+	+	-	16	4.1	1	0.3
5	+	-	+	-	-	14	3.6	-	-
6	+	+	+	-	-	3	0.8	-	-
7	+	-	+	+	+	3	0.8	1	0.3
8	+	-	+	-	+	2	0.5	-	-
9	+	-	-	+	+	2	0.5	-	-
10	+	+	-	+	+	2	0.5	-	-
11	-	-	+	+	-	-	-	97	29.6
12	-	-	+	-	-	-	-	10	3.0
13	-	-	-	+	-	-	-	6	1.8
14	-	+	-	-	-	-	-	5	1.5
15	-	-	-	-	-	-	-	165	50.3
合计						386	100.0	328	100.0

注: “+”代表阳性, “-”代表阴性; 模式 15 为 HBV 血清学五项指标全阴模式

表 2 HBsAg 阳性孕产妇 2 种主要 HBV 血清学模式与其新生儿 HBV 血清学模式的关系

孕产妇主要模式种类	新生儿主要模式种类				合计	χ^2 值	P值
	1	2	11	15			
1	13(7.5)	0(0.0)	4(2.3)	156(90.2)	173	253.700	<0.001
2	0(0.0)	29(22.1)	93(71.0)	9(6.9)	131		
合计	13	29	97	165	304		

注: 括号外数据为人数, 括号内数据为构成比 (%)

表 3 新生儿 4 种主要 HBV 血清学模式下婴儿抗体水平的比较及 HBV 血清学模式与乙肝疫苗免疫应答的关系

模式种类	抗-HBs 水平 (mIU/ml)		应答水平		OR 值 (95%CI)	P 值
	例数	M 值 (Q _s)	无/弱应答人数 (构成比, %)	强应答人数 (构成比, %)		
11	77	1 000.0(540.00)	4(5.2)	73(94.8)	0.189(0.063 ~ 0.563)	0.003
2	20	368.2(864.20) ^a	4(20.0)	16(80.0)	0.861(0.266 ~ 2.793)	0.803
1	10	279.9(890.40) ^b	4(40.0)	6(60.0)	2.299(0.604 ~ 8.696)	0.223
15	120	498.3(892.15) ^c	27(22.5)	93(77.5)	1.000	
合计	227		39(17.2)	188(82.8)		

注: 多组间抗-HBs 水平比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, $\chi^2 = 15.093, P = 0.002$; 两组比较采用 Nemenyi 法检验; ^a与模式 11 相比, $\chi^2 = 5.075, P = 0.032$; ^b与模式 11 相比, $\chi^2 = 9.293, P = 0.020$; ^c与模式 11 相比, $\chi^2 = 12.075, P = 0.002$; 多组间无/弱应答率的比较采用 Fisher 确切概率法, $\chi^2 = 15.306, P = 0.001$

无/弱应答的风险比模式15下降了81.1% ($OR=0.189$, 95% $CI: 0.063 \sim 0.563$, $P=0.003$)。见表3。

3. 新生儿4种主要HBV血清学模式下新生儿及婴儿PBMC TLR3蛋白表达量以及相关免疫细胞数量和Th1/Th2型细胞因子水平的比较:

(1) PBMC TLR3蛋白表达量的比较:共测得149例新生儿PBMC TLR3蛋白表达量,169例婴儿PBMC TLR3

蛋白表达量。新生儿孕周、身长和体重在测定者和未测定者之间及各模式下的差异无统计学意义 ($P>0.05$),各模式下新生儿及婴儿PBMC TLR3蛋白表达量的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

(2)外周血免疫细胞数量的比较:共测得140例新生儿和169例婴儿外周血 CD_4^+ T淋巴细胞、 CD_8^+ T淋巴细胞、 $FoxP3^+$ ($CD_4^+ CD_{25}^+$)调节性T淋巴细胞、 CD_{19}^+ B淋巴细胞以及DCs的数量。新生儿孕周、身长和体重在测定者和未测定者之间及各模式下的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。新生儿外周血各免疫细胞数量在各血清学模式下的差异均无统计学意义;婴儿 CD_4^+ T淋巴细胞、 CD_8^+ T淋巴细胞数量在各模式下的差异均有统计学意义 ($P<0.05$),其他细胞数量差异均无统计学意义。两两比较可知,模式2和模式15下婴儿 CD_4^+ T淋巴细胞数量低于模式11 ($P<0.05$);模式11和模式1下婴儿 CD_8^+ T淋巴细胞数量低于模式15 ($P<0.05$)。见表4。

(3)Th1/Th2型细胞因子水平的比较:共测得90例新生儿和87例婴儿外周血Th1/Th2型细胞因子IL-12p40、IL-4、IL-6、IL-10、IL-2及IFN- γ 水平。新生儿孕周、身长和体重在测定者和未测定者之间及各模式下的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。新生儿及婴儿IL-6水平在各模式下的差异均具有统计学意义 ($P<0.05$),两两比较可知,模式11下新生儿及婴儿IL-6水平均高于模式15 ($P<0.05$)。见表4。新生儿及婴儿IL-12p40、IL-4、IL-10、IL-2及IFN- γ 水平在各模式下的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

4. 婴儿 CD_4^+ T淋巴细胞、 CD_8^+ T淋巴细胞数量和新生儿及婴儿外周血IL-6水平与婴儿抗-HBs水平的相关性分析:婴儿 CD_4^+ T淋巴细胞与抗-HBs

表4 新生儿4种主要HBV血清学模式下婴儿免疫细胞数量、新生儿及婴儿IL-6水平比较

模式种类	婴儿		新生儿		婴儿		
	人数	CD_4^+ T淋巴细胞 ($\bar{x} \pm s$)	CD_8^+ T淋巴细胞 ($\bar{x} \pm s$)	人数	IL-6 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	人数	IL-6 (pg/ml)
11	59	44.75 \pm 9.20	16.26 \pm 5.91 ^a	28	1 113.0 \pm 64.7 ^a	24	1 286.2(60.1) ^f
2	16	38.24 \pm 15.17 ^a	16.81 \pm 7.12	15	1 074.9 \pm 133.8	11	1 282.8(38.7)
1	8	41.11 \pm 10.52	16.02 \pm 5.19 ^d	7	1 117.4 \pm 115.2	7	1 247.1(264.0)
15	86	39.73 \pm 11.57 ^b	19.39 \pm 6.54	40	1 028.7 \pm 136.1	45	1 076.8(280.6)
F值/ χ^2 值		2.853	4.058		3.088		11.293
P值		0.039	0.008		0.032		0.010

注:正态分布资料多组间比较采用方差分析,两两比较采用LSD- t 检验;偏态分布资料多组间比较采用Kruskal-Wallis H 检验,两两比较采用Nemenyi法检验; CD_4^+ T淋巴细胞和 CD_8^+ T淋巴细胞的数量均为占总T淋巴细胞的百分比;^a与模式11相比, $P=0.040$; ^b与模式11相比, $P=0.008$; ^c与模式15相比, $P=0.004$; ^d与模式15相比, $P=0.023$; ^e与模式15相比, $P=0.032$; ^f与模式15相比, $\chi^2=11.293$, $P=0.010$;括号外数据为 M ,括号内数据为 Q_n 。

水平不存在相关关系 ($r=0.136$, $P=0.063$);婴儿 CD_8^+ T淋巴细胞与抗-HBs水平不存在相关关系 ($r=-0.138$, $P=0.060$)。新生儿IL-6水平与抗-HBs水平呈正相关 ($r=0.679$, $P<0.001$);婴儿IL-6水平与抗-HBs呈正相关 ($r=0.746$, $P<0.001$)。

5. 新生儿IL-6水平分级与婴儿乙肝疫苗免疫应答的关系:新生儿IL-6水平按 M 分为IL-6水平 $\leq 1 112.0$ pg/ml组和IL-6水平 $> 1 112.0$ pg/ml组,87例婴儿中34.5%(30/87)为乙肝疫苗无/弱应答者,65.5%(57/87)为强应答者。IL-6水平 $> 1 112.0$ pg/ml组无/弱应答发生率为0.0%,低于IL-6水平 $\leq 1 112.0$ pg/ml组的65.2% ($P<0.001$)。且IL-6水平 $> 1 112.0$ pg/ml的新生儿发生乙肝疫苗无/弱应答的风险比IL-6水平 $\leq 1 112.0$ pg/ml新生儿下降了61.4% ($OR=0.386$, 95% $CI: 0.266 \sim 0.561$, $P<0.001$)。见表5。

表5 新生儿IL-6水平分级与婴儿乙肝疫苗无/弱应答的关系

IL-6水平 (pg/ml)	应答水平		χ^2 值	P值	OR值(95%CI)
	无/弱应答	强应答			
$\leq 1 112.0$	27(61.4)	17(38.6)	38.260	<0.001	1.000
$> 1 112.0$	0(0.0)	43(100.0)			0.386(0.266 ~ 0.561)

6. 综合分析新生儿“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式和IL-6水平对婴儿乙肝疫苗无/弱应答的影响:新生儿IL-6水平按 M 分为IL-6低水平 ($\leq 1 112.0$ pg/ml)和IL-6高水平 ($> 1 112.0$ pg/ml)。以新生儿模式11 (“HBeAg⁺抗-HBe⁺”是与否)分层,显示乙肝疫苗无/弱应答率呈现IL-6高水平者低于IL-6低水平者 ($OR=0.269$, 95% $CI: 0.143 \sim 0.503$, $P<0.001$);以IL-6水平(高、低)分层,显示“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式与乙肝疫苗无/弱应答无关 ($OR=0.246$, 95% $CI:$

0.053 ~ 1.138, $P=0.143$)。见表 6。

表 6 “HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式和新生儿 IL-6 水平对乙肝疫苗无/弱应答的影响

模式	IL-6 水平	应答水平		χ^2 值	P 值	OR 值(95%CI)
		无/弱应答	强应答			
是	高	0	16	21.351	<0.001	0.269(0.143 ~ 0.503)
是	低	4	6	2.141	0.143	0.246(0.053 ~ 1.138)
否	高	0	14	19.487	<0.001	0.269(0.143 ~ 0.503)
否	低	19	7			1.000

注:IL-6 低水平(≤ 112.0 pg/ml)和 IL-6 高水平(> 112.0 pg/ml)

讨 论

HBV 血清学模式复杂多样,且 HBsAg 阳性孕产妇 HBV 血清学模式与新生儿 HBV 血清学模式存在一定关联。2007 年王健等^[4]研究显示孕产妇 HBV 血清学模式以“小三阳”模式多见,占孕产妇感染总数的 36.0%(95/264);其次为“HBsAg⁺”模式和“大三阳”模式。而本研究结果显示,HBsAg 阳性孕产妇 HBV 血清学模式以“HBsAg⁺”模式多见,占孕产妇总数的 47.4%;而传染性较强的“大三阳”和“小三阳”模式均较少见。这可能与 HBsAg 阳性孕产妇抗病毒治疗有关,提示孕产妇阻断 HBV 母婴传播的意识有所提高。由于抗-HBe 检出多数是在 HBeAg 转阴后,通常 HBeAg 和抗-HBe 同时检出较少见,而本研究显示 HBsAg 阳性孕产妇的新生儿“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式所占比例较大,且 HBsAg 阳性孕产妇“HBsAg⁺HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下其新生儿 HBV 血清学模式以“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式多见。这可能是由于孕产妇 HBeAg 和抗-HBe 通过胎盘传递给新生儿,也可能是由于机体自身的免疫作用使其 HBV 感染向康复方向发展。

本研究中 227 例 HBsAg 阳性孕产妇婴儿乙肝疫苗无/弱应答率为 17.2%,高于我国一般人群乙肝疫苗无/弱应答率。这可能是由于这些婴儿在生命早期长期处于孕产妇 HBV 感染的生物环境因素中,使其自身免疫功能不同于一般人群所致。同时,本研究 HBsAg 阳性孕产妇的婴儿乙肝疫苗无/弱应答率低于国内其他相关研究的 27.4% ~ 30.2%^[2-3],这可能与所选研究对象自身免疫功能的差异等诸多原因造成的。HBV 血清学模式能反映 HBV 感染状况,也能反映机体对入侵的 HBV 产生免疫应答的能力^[4-5,10];且新生儿 HBV 感染会影响新生儿的免疫功能^[7],故推测具有不同 HBV 血清学模式的新生儿对乙肝疫苗的免疫应答效果不同。本研究也显示,不同 HBV 血清学模式的新生儿对乙肝疫苗的免疫应答反应不

同,且新生儿“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下乙肝疫苗无/弱应答发生率最低。提示新生儿 HBeAg 和抗-HBe 阳性可能会通过影响新生儿免疫功能来提高乙肝疫苗免疫应答能力。

TLR3 作为连接机体天然免疫和获得性免疫的纽带,能特异性识别 HBV 复制的中间产物,随后 TLR3 信号通路被活化,进而促进其下游效应 T 淋巴细胞以及 IL-6、IL-8、IL-12 和 IFN- γ 等细胞因子表达增多,从而发挥免疫调节的作用^[11-14]。虽然本研究新生儿 4 种主要 HBV 血清学模式下新生儿及婴儿 PBMC TLR3 蛋白表达量差异无统计学意义,但是 TLR3 信号通路相关的婴儿 CD₄⁺ T 淋巴细胞和 CD₈⁺ T 淋巴细胞及新生儿、婴儿的 IL-6 水平差异有统计学意义。由于 CD₄⁺ T 淋巴细胞和 CD₈⁺ T 淋巴细胞是主要抗 HBV 感染的免疫细胞^[15-16],推测不同 HBV 血清学模式的婴儿其清除病毒的能力可能不同。但本研究未显示婴儿 CD₄⁺ T 淋巴细胞及 CD₈⁺ T 淋巴细胞数量与抗-HBs 水平存在相关性。本研究显示“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下新生儿 IL-6 水平高于“HBVM⁻”模式,提示新生儿 HBeAg 和抗-HBe 阳性可促进 IL-6 的产生。进一步研究显示新生儿及婴儿的 IL-6 水平与抗-HBs 呈正相关,即随着 IL-6 水平的升高,婴儿抗-HBs 水平随之升高;且血清 IL-6 水平 > 112.0 pg/ml 的新生儿发生乙肝疫苗无/弱应答的风险比 IL-6 水平 ≤ 112.0 pg/ml 新生儿下降了 61.4%。提示乙肝疫苗接种者体内 IL-6 高水平可能与强应答的发生有关,与孔令斌等^[17]的研究一致。由于 Th2 型细胞因子 IL-6 是机体免疫调节网络中的一个关键因子,其可活化 B 淋巴细胞,并调节 B 淋巴细胞的增殖、分化,从而影响机体的免疫功能^[18]。提示 IL-6 可能是通过促进 B 淋巴细胞的成熟来增加抗-HBs 水平的产生。综合分析显示,新生儿“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式与婴儿乙肝疫苗无/弱应答无直接关系,推测“HBeAg⁺抗-HBe⁺”模式下婴儿乙肝疫苗无/弱应答率低是由于该模式能够促进 IL-6 分泌而起作用的。

综上所述,HBsAg 阳性孕产妇 HBV 血清学模式与其新生儿 HBV 血清学模式存在关联;IL-6 高水平者的乙肝疫苗无/弱应答发生率较低,且新生儿 HBeAg 和抗-HBe 阳性可能通过促进 IL-6 分泌来增强婴儿乙肝疫苗免疫应答。因此,IL-6 可能作为乙肝疫苗佐剂来降低这一特殊人群的乙肝疫苗无/弱应答发生率。由于本研究 HBsAg 阳性孕产妇新生儿的例数较少,难以全面反映这一特殊人群的真实

情况,希望能增大样本量进一步深入地探讨。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] 王富珍,郑徽,张国民,等. 8个省(自治区)乙型肝炎病毒表面抗原阳性产妇筛查及新生儿免疫预防措施的调查[J]. 中国疫苗和免疫, 2014, 20(6): 523-528.
Wang FZ, Zheng H, Zhang GM, et al. Survey on hepatitis B virus surface antigen screening among pregnant women and prevention measures for newborns in 8 provinces or autonomous region, China[J]. Chin J Vaccines Immun, 2014, 20(6): 523-528.
- [2] 王静,冯玉岭,刘明晖,等. HBsAg阳性母亲所生婴儿联合免疫后乙型肝炎表面抗体的动态变化[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(8): 580-583. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.08.005.
Wang J, Feng YL, Liu MH, et al. Combined immunoprophylaxis induces changes in anti-hepatitis B surface protein titer in infants born to mothers with positivity for hepatitis B surface antigen [J]. Chin J Hepatol, 2013, 21(8): 580-583. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.08.005.
- [3] 唐洁,许联红,陈洁,等. 新生儿免疫预防乙型肝炎病毒母婴传播的效果及传播易患因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(21): 3427-3430. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2014.21.24.
Tang J, Xu LH, Chen J, et al. Effect of neonatal immunoprophylaxis in mother-to-fetus transmission of HBV and analysis on risk factors for transmission[J]. Matern Child Health Care China, 2014, 29(21): 3427-3430. DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2014.21.24.
- [4] 王健,孙琳,侯稳. 孕妇HBV感染模式与宫内感染关系的临床研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2007, 15(4): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8189.2007.04.015.
Wang J, Sun L, Hou W. Relationship of the modes of hepatitis B virus marker in pregnant women with intrauterine infection[J]. Chin J Fam Plan, 2007, 15(4): 223-226. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8189.2007.04.015.
- [5] 苑妹,王青. 不同乙肝五项模式乙型肝炎患者血清HBV-DNA检测结果及其意义[J]. 医学检验与临床, 2008, 19(5): 62-63. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2008.05.025.
Yuan M, Wang Q. Serum HBV-DNA detection results and significant in different five items of HBV model patients[J]. Med Lab Sci Clin, 2008, 19(5): 62-63. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2008.05.025.
- [6] Goenka A, Kollmann TR. Development of immunity in early life [J]. J Infect, 2015, 71 Suppl 1: S112-120. DOI: 10.1016/j.jinf.2015.04.027.
- [7] Hong M, Sandalova E, Low D, et al. Trained immunity in newborn infants of HBV-infected mothers [J]. Nat Commun, 2015, 6: 6588. DOI: 10.1038/ncomms7588.
- [8] Bracciale L, Fabbiani M, Sansoni A, et al. Impact of hepatitis B vaccination in children born to HBsAg-positive mothers: a 20-year retrospective study [J]. Infection, 2009, 37(4): 340-343. DOI: 10.1007/s15010-008-8252-3.
- [9] Zou HB, Chen Y, Duan ZP, et al. Protective effect of hepatitis B vaccine combined with two-dose hepatitis B immunoglobulin on infants born to HBsAg-positive mothers [J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26748. DOI: 10.1371/journal.pone.0026748.
- [10] 李文郎,刘卫东,吴爱成,等. 不同HBV感染模式产妇血清及乳汁HBV-DNA检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(4): 400-401. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.04.007.
Li WL, Liu WD, Wu AC, et al. HBV-DNA level analysis in serum and breast milk of puerpera with different HBV infection modes [J]. Int J Lab Med, 2013, 34(4): 400-401. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.04.007.
- [11] Karimi-Gogheri M, Arababadi MK. TLR3 plays significant roles against hepatitis B virus [J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(5): 3279-3286. DOI: 10.1007/s11033-014-3190-x.
- [12] Rong YH, Song HH, You SL, et al. Association of Toll-like receptor 3 polymorphisms with chronic hepatitis B and hepatitis B-related acute-on-chronic liver failure [J]. Inflammation, 2013, 36(2): 413-418. DOI: 10.1007/s10753-012-9560-4.
- [13] Isogawa M, Robek MD, Furuichi Y, et al. Toll-like receptor signaling inhibits hepatitis B virus replication in vivo [J]. J Virol, 2005, 79(11): 7269-7272. DOI: 10.1128/JVI.79.11.7269-7272.2005.
- [14] Zhang SY, Herman M, Ciancanelli MJ, et al. TLR3 immunity to infection in mice and humans [J]. Curr Opin Immunol, 2013, 25(1): 19-33. DOI: 10.1016/j.coi.2012.11.001.
- [15] Dinney CM, Zhao LD, Conrad CD, et al. Regulation of HBV-specific CD₈⁺ T cell-mediated inflammation is diversified in different clinical presentations of HBV infection [J]. J Microbiol, 2015, 53(10): 718-724. DOI: 10.1007/s12275-015-5314-y.
- [16] TrehanPati N, Geffers R, Sukriti, et al. Gene expression signatures of peripheral CD₈⁺ T cells clearly discriminate between patients with acute and chronic hepatitis B infection [J]. Hepatology, 2009, 49(3): 781-790. DOI: 10.1002/hep.22696.
- [17] 孔令斌,安锐,林立,等. 乙肝疫苗接种后无弱应答者发生的分子生物学机制[J]. 济宁医学院学报, 2007, 30(1): 13-16. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2007.01.003.
Kong LB, An R, Lin L, et al. Study on Molecular Biology Mechanism of Non-and-Hyporesponder After Hepatitis B Vaccination [J]. J Jining Med Coll, 2007, 30(1): 13-16. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2007.01.003.
- [18] Hösel M, Quasdorff M, Wiegmann K, et al. Not interferon, but interleukin-6 controls early gene expression in hepatitis B virus infection [J]. Hepatology, 2009, 50(6): 1773-1782. DOI: 10.1002/hep.23226.

(收稿日期:2016-03-21)

(本文编辑:万玉立)