

## · 乙肝病毒宫内传播研究进展 ·

# HBsAg 阳性产妇 IL-18 的表达在 HBV 宫内传播中的相关性研究

严敏<sup>1</sup> 邵昱璋<sup>2</sup> 王海荣<sup>1</sup> 胡妮<sup>1</sup> 付婷<sup>1</sup> 高洁<sup>1</sup> 张磊<sup>1</sup>

<sup>1</sup>空军军医大学军事预防医学系流行病学教研室 特殊作业环境危害评估与防治教育部重点实验室, 西安 710032; <sup>2</sup>西安交通大学医学院 710061

通信作者:张磊, Email: drzhanglei@fmmu.edu.cn

**【摘要】** 目的 探讨 HBsAg 阳性产妇外周血白介素 18(IL-18)水平在 HBV 宫内传播(BIT)中的表达变化。方法 采用病例对照研究,以陕西省西北妇女儿童医院住院分娩的 282 例 HBsAg 阳性产妇为病例组,43 例健康产妇为对照组进行流行病学调查,采用 ELISA 法检测孕妇和新生儿外周血乙型肝炎(乙肝)五项指标,采用实时荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 水平,采用流式液相芯片法检测细胞因子 IL-18 水平。结果 HBsAg 阳性产妇发生 HBV 宫内显性感染(DBI)率、HBV 宫内隐匿性感染(OBI)率、BIT 率分别为 8.42%(24/285)、40.00%(114/285)和 48.42%(138/285)。对照产妇的 IL-18 水平显著低于 HBsAg 阳性产妇组( $P=0.001$ )、宫内未传播(NBIT)组( $P=0.001$ )、OBI 组( $P<0.001$ );HBeAg 阴性组 IL-18 水平显著低于 HBeAg 阳性组( $P=0.023$ );产妇 HBV DNA 载量 $\geq 10^3$ 拷贝/ml,其 IL-18 水平显著高于对照组( $P<0.01$ ),并随着母血中 HBV DNA 载量的增高,其 IL-18 水平呈增高趋势( $P=0.024$ ),当 HBV DNA 载量在  $10^3 \sim 10^6$  拷贝/ml,其 DBI 组 IL-18 水平显著低于 NBIT 组( $P=0.022$ ),并随着 BIT 程度的加重,其 IL-18 水平呈下降趋势( $P=0.016$ );未接种乙肝疫苗组中呈现随着 BIT 程度的加重,其 IL-18 含量明显减少的趋势( $P=0.044$ ),未接种乙肝疫苗和乙肝免疫球蛋白组中,OBI 组 IL-18 水平均显著高于 NBIT 组( $P<0.05$ );多因素分析结果显示,产妇 HBeAg 与母体 IL-18 水平的线性关系有统计学意义( $P=0.01$ )。结论 IL-18 是 Th1/Th2 网络平衡更高层次的调控者,监测 HBsAg 阳性孕妇体内 IL-18 水平,不仅可以对其新生儿发生 DBI 和 OBI 进行预判,而且可以考虑作为干预手段,尤其对于 HBeAg 阳性和 HBV DNA 载量 $\geq 10^3$ 拷贝/ml 者,提高母体的细胞免疫功能,从而有利于控制 BIT。

**【关键词】** 乙型肝炎病毒; 宫内传播; 显性感染; 隐匿性感染; 白介素 18

**基金项目:** 国家自然科学基金(81102140, 81472988, 81773488); 国家重点研发计划(2016YFC1303204); 陕西省自然科学基金基础研究(2018JM7109097)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.09.010

## Correlation study of IL-18 expression in HBsAg positive parturients in intrauterine transmission of HBV

Yan Min<sup>1</sup>, Shao Yuzhang<sup>2</sup>, Wang Hairong<sup>1</sup>, Hu Ni<sup>1</sup>, Fu Ting<sup>1</sup>, Gao Jie<sup>1</sup>, Zhang Lei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology, Key Laboratory of Hazard Assessment and Control in Special Operational Environment of Ministry of Education, School of Military Preventive Medicine, Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China; <sup>2</sup>Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Corresponding author: Zhang Lei, Email: drzhanglei@fmmu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expression of IL-18 in peripheral blood of HBsAg positive parturients in intrauterine transmission of HBV. **Methods** A case-control study was conducted in 282 HBsAg positive parturients and 43 health parturients (control group) in Northwest Women and Children Hospital of Shaanxi Province. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect five serological makers of hepatitis B, real time PCR was used to detect HBV DNA, and flow liquid chip method was used to detect IL-18 levels in peripheral blood of parturients and newborns. **Results** The incidence of dominant HBV infection (DBI), occult HBV infection (OBI) and intrauterine transmission of HBV were 8.42% (24/285), 40.00% (114/285) and 48.42% (138/285), respectively. The level of IL-18 in peripheral blood of HBsAg-negative parturients were significantly lower than those of HBsAg-positive parturients ( $P=0.001$ ), non-HBV intrauterine transmission (NBIT) group

( $P=0.001$ ) and OBI group ( $P<0.001$ ). The level of IL-18 in HBeAg negative group was significantly lower than that in HBeAg positive group ( $P=0.023$ ). When HBV DNA load was  $\geq 10^3$  copies/ml, the level of IL-18 was significantly higher than that in HBsAg-negative group ( $P<0.01$ ). With the increase of HBV DNA load in maternal blood, the level of IL-18 increased ( $P=0.024$ ). When HBV DNA load was  $10^3-10^6$  copies/ml, the level of IL-18 in DBI group was significantly lower than that in NBIT group ( $P=0.022$ ), and increased with the increase of HBV DNA load in maternal blood ( $P=0.016$ ). With the increased severity of intrauterine transmission of HBV, the level of IL-18 in non-hepatitis B vaccine group decreased significantly ( $P=0.044$ ). The level of IL-18 in non-hepatitis B vaccine group and immunoglobulin injection group was significantly higher than that in NBIT group ( $P<0.05$ ). Multivariate analysis showed that the linear relationship between maternal HBeAg status and maternal IL-18 levels had statistical significance ( $P=0.01$ ). **Conclusions** IL-18 is a higher level balance regulator of Th1/Th2 immune network. Monitoring the level of IL-18 in HBsAg-positive parturients can be used not only for predicting the probability of DBI and OBI, but also as an intervention mean, especially for those who are HBeAg-positive and had HBV DNA load  $\geq 10^3$  copies/ml, to improve maternal cellular immune function, which is conducive to interrupting intrauterine transmission and providing a theoretical basis for the prevention and control of HBV intrauterine transmission.

**【Key words】** HBV; Intrauterine transmission; Dominate infection; Occult infection; Interleukin 18

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81102140, 81472988, 81773488); Key Research and Development Program of China (2016YFC1303204); Natural Science Basic Research Plan of Shaanxi Province (2018JM7109097)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.09.010

从免疫学角度看,妊娠是一种特殊的免疫耐受状态,正常妊娠时 Th1 型细胞因子表达缺乏, Th2 型细胞因子呈优势表达,白介素 18(IL-18)是具有多种免疫调节功能的细胞因子,参与宿主抗胞内感染、肿瘤免疫,能够促进 Th1 细胞增殖和 Th1 型免疫应答, Th1 型免疫反应能增强宿主抵抗微生物的感染,从而有利于 HBV 的清除<sup>[1]</sup>。在 HBV 感染中,垂直传播无法完全阻断而成为研究热点<sup>[2]</sup>, IL-18 在整个妊娠过程中发挥重要作用,因此研究 IL-18 在 HBV 宫内传播(BIT)中的作用有重要意义。本研究通过监测 HBsAg 阳性产妇外周血 IL-18 水平,探讨 HBsAg 阳性产妇外周血 IL-18 水平在 BIT 中的表达变化。

## 对象与方法

1. 研究对象:收集 2015 年 1 月至 2017 年 5 月陕西省西北妇女儿童医院住院产妇 282 例,其新生儿 285 例。纳入标准:①HBsAg 为阳性产妇;②所生新生儿在出生 24 h 内未接种乙型肝炎(乙肝)疫苗和卡介苗前采集静脉血;③新生儿身体状况符合抽血条件;④知情同意。

2. 研究方法:采用病例对照研究,比较病例组 HBsAg 阳性与对照组 HBsAg 阴性产妇 IL-18 水平的差别。HBsAg 阳性产妇在孕期接受的干预措施包括:抗病毒治疗、接种乙肝疫苗和注射乙肝免疫球蛋白(HBIG)情况。

(1)分组:采用两组均数比较的样本量估计方

法。根据预实验数据设定相关参数:病例组( $95.66 \pm 85.62$ ),对照组( $51.51 \pm 46.58$ )。等比例分组,采用 PASS 16.0 软件计算病例组与对照组样本量各为 40 例。同期选择 45 例健康产妇为对照组,纳入标准:①产妇血清 HBsAg 及 HBV DNA 均为阴性;②年龄匹配;③居住地匹配;④新生儿身体状况符合抽血条件。排除标准:①罹患其他感染性疾病;②未签署知情同意书。

(2)问卷调查:产妇的一般情况、家族史、本次妊娠史以及生产情况和新生儿情况等。

(3)标本采集:采集产妇临产前肘静脉血及其新生儿(出生 24 h 内)股静脉血。均 1 500 r/min、6 min 分离血清,-20 °C 保存备用。

(4)血清 HBV 标志物检测:产妇及新生儿 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe 和抗-HBc(乙肝五项)均采用 ELISA 法检测,操作和结果判定按试剂盒说明书(北京万泰生物药业股份有限公司)进行。HBV DNA 载量采用 PCR-荧光探针法检测,操作和结果判定按照试剂盒说明书(湖南圣湘生物科技有限公司)进行。

(5)产妇外周血 IL-18 检测:采用流式液相芯片法检测,7-PLEX HUMAN CYTOKINE PANEL 96 well plate Assay (SPR1036)试剂盒(美国 MILLIPLEX 公司)。各种检测均严格按照试剂盒说明书进行操作和判读结果。采用流式检测仪 Luminex®200™(美国伯乐公司)检测。

(6)新生儿 HBV 感染结果判定:① BIT:HBV 宫

内显性感染 (DBI) 与 HBV 宫内隐匿性感染 (OBI) 的统称<sup>[2]</sup>, 即 HBsAg 阳性产妇所生新生儿 24 h 静脉血中 HBsAg 阳性或 HBV DNA 载量  $\geq 200$  拷贝/ml; ② DBI: HBsAg 阳性产妇所生新生儿 24 h 静脉血中 HBsAg 阳性者; ③ OBI: HBsAg 阳性产妇所生新生儿 24 h 静脉血中 HBsAg 阴性, 但 HBV DNA 载量  $\geq 200$  拷贝/ml, 或者新生儿在全程接种 HBIG 和 3 针乙肝疫苗后外周静脉血中 HBsAg 阴性, 但 HBV DNA 载量  $\geq 200$  拷贝/ml。④ HBV 宫内未传播 (NBIT): 新生儿外周血检测 HBsAg 和 HBV DNA 均为阴性。

(7) 相关定义: ① 孕早期出血: 孕 1~13 周, 出现的阴道出血, 血液多呈咖啡色或鲜红色; ② 孕晚期出血: 孕 28 周后的阴道出血; ③ 抗病毒治疗: 为了降低 HBsAg 阳性孕妇发生婴儿感染风险, 临床上对 HBV DNA 载量  $> 2 \times 10^6$  拷贝/ml 或具有 HBsAg 阳性家族史或既往子代感染 HBV 指征的孕妇建议抗病毒治疗, 建议在怀孕 24~28 周开始口服替诺福韦或替比夫定, 并于分娩前检测 HBV DNA; ④ 乙肝疫苗接种: 全程需接种 3 针, 免疫程序为 0-1-6 个月, 即接种第 1 针疫苗后, 间隔 1、6 个月分别接种第 2、3 针疫苗, 每针疫苗接种 20  $\mu\text{g}$ ; ⑤ HBIG 注射: 目前仍在一些医院允许在孕期使用 HBIG 用于预防 HBV 宫内感染, 一般用于孕晚期, 于孕 28、32 及 36 周肌肉注射 HBIG 200 IU 或每月 1 次 (200 IU/次), 使用 3~5 次; 具体剂量依据检测 HBeAg 状态、孕妇主观要求而定。

3. 质量控制: 调查员和实验员进行统一培训, 调查表采用双人双录入核对, 随机抽取 10% 重复测量。通过 Kappa 系数法一致性检验分析, Kappa 值为 0.99, 结果表明, 本次调查信度较好。实验检测均设有阴阳性、空白对照, 并随机抽取 30% 进行复测, 通过 Kappa 系数法一致性检验分析, 乙肝五项 ELISA 检测结果 Kappa 值为 0.98; HBV DNA 载量检测结果 Kappa 值为 0.94, IL-18 检测结果 Kappa 值为 0.87, 结果表明本研究检测结果可信度较好。

4. 统计学分析: 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学

分析。计量资料方差齐者采用 *t* 检验, 方差不齐者采用 *t* 检验, 计数资料采用  $\chi^2$  检验。相关影响因素采用多元线性回归分析, 以估计相关因素与 IL-18 的关联强度。把握度  $(1-\beta) = 0.08$ , 检验水准  $\alpha = 0.05$ , 双侧检验。

## 结 果

1. 社会人口学特征和 BIT 情况: HBsAg 阳性产妇 282 例及新生儿 285 例, 产妇年龄 20~45 (29  $\pm$  3.49) 岁, HBsAg 及 HBV DNA 均为阴性的正常产妇 43 例, 年龄 (28  $\pm$  5.00) 岁。两组社会人口学特征均衡可比 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。检测发现, 285 名新生儿外周血 HBsAg 为阳性者 24 例, HBsAg 阴性的 261 名新生儿中 HBV DNA 载量  $\geq 200$  拷贝/ml 者 114 例, 即该人群发生 DBI、OBI 和 BIT 率分别为 8.42% (24/285)、40.00% (114/285) 和 48.42% (138/285)。

表 1 HBsAg 阳性和阴性产妇及新生儿一般情况

特征	产妇 HBsAg 阳性组	产妇 HBsAg 阴性组	<i>t</i> / $\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
产妇	282	43		
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	29 $\pm$ 3.49	28 $\pm$ 5.00	0.720 <sup>a</sup>	0.475
有孕产史	118 (41.84)	18 (41.86)	0.001	0.475
第一胎	164 (58.16)	25 (58.14)	0.001	0.998
新生儿	285	43		
男婴	139 (48.77)	21 (48.84)	0.001	0.994
顺产	149 (52.28)	22 (51.16)	0.177	0.647
早产	6 (2.13)	21 (2.33)	0.001 <sup>b</sup>	1.000

注: 括号外数据为例数, 括号内数据为构成比 (%); <sup>a</sup>*t* 检验; <sup>b</sup>校正  $\chi^2$

2. 不同 HBV 宫内传播分组产妇中外周血的 IL-18 水平比较: HBsAg 阴性产妇 IL-18 水平显著低于 HBsAg 阳性产妇组 ( $P = 0.001$ )、NBIT 组 ( $P = 0.001$ )、OBI 组 ( $P = 0.000$ ), 差异有统计学意义; 在 HBsAg 阳性产妇外周血中虽然 DBI 组 IL-18 水平最低, OBI 组最高, 但是 3 组间差异无统计学意义 (表 2)。

3. 不同 HBV 感染特征下产妇外周血 IL-18 状况: HBsAg 阳性产妇 HBV 感染特征包括 HBeAg 和 HBV DNA 载量, ① HBeAg: HBeAg 阴性组外周血的 IL-18 水平显著低于 HBeAg 阳性组 ( $P = 0.023$ ), DBI

表 2 HBsAg 阴性产妇与 HBsAg 阳性产妇各宫内传播组 IL-18 水平情况

产妇分组	例数	IL-18 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$ )	HBsAg 阳性组比 HBsAg 阴性组		NBIT 组比 OBI、DBI 组		OBI 组比 DBI 组	
			<i>t</i> / <i>U</i> 值	<i>P</i> 值	<i>t</i> / <i>U</i> 值	<i>P</i> 值	<i>t</i> / <i>U</i> 值	<i>P</i> 值
HBsAg 阴性	43	51.51 $\pm$ 46.58	-	-	-	-	-	-
HBsAg 阳性	282	93.90 $\pm$ 95.83	-4.65	0.001	-	-	-	-
NBIT	144	86.01 $\pm$ 80.10	-3.54	0.001	-	-	-	-
OBI	114	108.60 $\pm$ 115.04	-4.42	0.000	-1.86	0.065	-	-
DBI	24	71.38 $\pm$ 72.76	-1.36	0.178	0.84	0.403	1.52	0.131

注: DBI: 显性感染; OBI: 隐匿性感染; NBIT: 宫内未传播; -: 无结果

组中 HBeAg 阴性组外周血的 IL-18 水平也显著低于 HBeAg 阳性组 ( $P=0.044$ ); ② HBV DNA 载量按  $10^3$  和  $10^6$  拷贝/ml 为截点分组, 当 HBV DNA 载量  $\geq 10^3$  拷贝/ml 后, 其 IL-18 水平均显著高于 HBsAg 阴性产妇组 ( $P<0.01$ ), 并随着母体血中 HBV DNA 载量的增高, 其 IL-18 水平呈增高趋势 ( $P=0.024$ ), 其中 NBIT 组也随 HBV DNA 载量增高呈增高趋势 ( $P=0.002$ ); 当 HBV DNA 载量在  $10^3 \sim 10^6$  拷贝/ml 时 DBI 组 IL-18 水平显著低于 NBIT 组 ( $P=0.022$ ), 并随着母体血中 HBV DNA 载量的增高, 其 IL-18 水平呈增高趋势 ( $P=0.016$ ) (表 3)。

4. HBsAg 阳性产妇孕期干预情况与 IL-18 水平的关系: 各因素干预组与未干预组间 IL-18 水平差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 且 DBI、OBI、NBIT 组在各因素干预组与未干预组间 IL-18 水平差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。未接种乙肝疫苗组中随着 BIT 程度的加重, 产妇外周血 IL-18 含量呈明显减少趋势 ( $P=0.044$ ), 未接种乙肝疫苗和 HBIG 组中 OBI 组 IL-18 水平均显著高于 NBIT 组 ( $P<0.05$ ) (表 4)。

5. HBsAg 阳性产妇各因素与 IL-18 水平的多因素分析: 对母体的 HBV 感染血清学因素、妊娠过程中的暴露史以及新生儿出生时情况与 IL-18 进行相关分析, 发现产妇 IL-18 水平与其年龄 ( $P=0.012$ )、HBeAg ( $P=0.016$ )、HBeAb ( $P=0.012$ )、乙肝疫苗接种 ( $P=0.005$ )、HBIG 注射 ( $P=0.009$ )、孕早期出血 ( $P=0.001$ )、孕晚期出血 ( $P=0.007$ ) 和新生儿 HBV DNA 载量按  $10^3$ 、 $10^6$  拷贝/ml 为截点分组

( $P=0.001$ ) 相关, 多因素分析结果显示, 排除了其他因素影响仅产妇 HBeAg 与母体 IL-18 水平的线性关系有统计学意义 ( $P=0.01$ ) (表 3)。

### 讨 论

妊娠晚期主要是以 Th1 细胞免疫为主, IL-18 能促使 Th1 细胞、NK 细胞增殖和发挥细胞毒性, IL-18、IL-18 受体 (IL-18R) 及 IL-18 结合蛋白 (IL-18BP) 是目前研究 CHB 发病机制最受关注的细胞因子之一<sup>[5]</sup>。本研究发现 HBsAg 阴性产妇外周血中 IL-18 水平显著低于 HBsAg 阳性产妇组、NBIT 组、OBI 组, 符合既往研究提出当 HBV 攻击机体时, Th1 细胞占优势可以促进细胞免疫, 从而清除细胞内病毒<sup>[6-7]</sup>的论点; 同时, 当 HBV DNA 载量  $\geq 10^3$  拷贝/ml, 其 IL-18 水平均显著高于对照组, 并随着母体血中 HBV DNA 载量的增高, 其 IL-18 水平呈增高趋势, 其中 NBIT 组也呈现显著差异趋势; 即提示 HBsAg 阳性产妇 Th1 细胞活跃性高于 HBsAg 阴性产妇, 可能是由于体内病毒抗原激发机体免疫导致的 IL-18 升高, 促使 Th1 细胞发挥细胞免疫应对 HBV 攻击, 并且在病毒载量一定水平的前提下呈现正相关递增<sup>[8]</sup>, 这与本研究结果相符。

本研究还发现 HBsAg 阳性产妇外周血中 IL-18 呈现 OBI 组最高趋势, 即 OBI 组的 Th1 细胞活性优于 NBIT 组, 可能与母体病毒水平高低有关, 导致其 IL-18 激发水平的差异; 然而 DBI 组产妇其 IL-18 水平低于 NBIT 组和 OBI 组, 当 HBV DNA 载量在

表 3 HBsAg 阳性产妇不同 HBV 感染特征下各组的 IL-18 水平对比

指标	IL-18(pg/ml)			合计	组间比较		多因素分析	DBI 组比 OBI 组		DBI 组比 NBIT 组		OBI 组比 NBIT 组		各感染组比对照组	
	DBI 组	OBI 组	NBIT 组		$\chi^2$ 值	P 值		t/U 值	P 值	t/U 值	P 值	t/U 值	P 值	t/U 值	P 值
HBsAg															
阳性	39.64 ± 33.52 (10)	95.71 ± 104.05 (78)	80.61 ± 72.93 (111)	84.47 ± 85.88 (199)	4.46	0.108	-1.69	0.096	-1.76	0.082	1.17	0.242	3.52	0.001	
阴性	94.05 ± 85.21 (14)	136.54 ± 133.18 (36)	104.18 ± 99.73 (33)	166.50 ± 113.70 (83)	1.69	0.430	-1.11	0.275	-0.33	0.742	1.13	0.261	4.53	0.000	
t/U 值	2.17	1.78	1.49	2.31	-	-	2.58	-	-	-	-	-	-	-	
P 值	0.044	0.078	0.138	0.023			0.01								
HBV DNA (拷贝/ml)															
< $10^3$	48.19 ± 31.97 (8)	97.49 ± 105.05 (71)	75.07 ± 70.59 (98)	82.85 ± 85.74 (177)	3.73	0.155	-1.31	0.193	-1.06	0.290	1.66	0.099	-2.13	0.220	
$10^3 \sim$	17.48 ± 21.22 (3)	115.90 ± 113.32 (18)	121.03 ± 72.21 (26)	112.45 ± 90.74 (47)	8.32	0.016	-1.47	0.158	-2.44	0.022	-0.18	0.855	-4.06	0.000	
> $10^6$	98.08 ± 87.28 (13)	134.89 ± 141.07 (25)	94.13 ± 116.73 (20)	112.58 ± 122.11 (58)	0.44	0.804	-0.86	0.398	0.10	0.918	1.04	0.305	-3.48	0.001	
$\chi^2$ 值	5.09	0.79	12.57	7.47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P 值	0.078	0.675	0.002	0.024											

注: 括号内数据为例数; DBI: 显性感染; OBI: 隐性感染; NBIT: 宫内未传播;  $\chi^2$  为采用 Kruskal-Wallis 检验对各状态分组中 DBI、OBI、NBIT 3 组比较, 以及 DBI、OBI、NBIT 在不同 HBV DNA 载量中 3 组比较; -: 无统计学意义, 未计算相关统计量

表4 HBsAg阳性产妇不同干预因素下IL-18水平的对比

分组	IL-18(pg/ml)			合计	各干预组总体比较		DBI组比OBI组		DBI组比NBIT组		OBI组比NBIT组		各干预组比对照组	
	DBI组	OBI组	NBIT组		$\chi^2$ 值	P值	t/U值	P值	t/U值	P值	t/U值	P值	t/U值	P值
抗病毒治疗														
是	69.94±63.48 (4)	117.61±114.60 (14)	71.01±72.18 (21)	87.22±89.92 (39)	3.79	0.150	0.85	0.406	0.13	0.897	1.48	0.148	2.29	0.025
否	72.46±75.93 (20)	107.34±115.62 (100)	88.57±81.37 (123)	94.97±96.88 (243)	2.37	0.305	1.29	0.199	0.83	0.409	1.37	0.172	4.61	0.000
t值	0.16	0.31	0.93	0.47										
P值	0.874	0.756	0.355	0.640										
接种乙肝疫苗														
是	95.40 (1)	68.56±88.66 (7)	81.65±57.81 (12)	77.76±66.89 (20)	1.36	0.507	0.28	0.787	0.23	0.823	-0.39	0.700	1.81	0.076
否	73.11±74.72 (22)	113.58±118.88 (101)	83.30±81.76 (124)	94.77±99.08 (247)	6.26	0.044	-1.53	0.129	-0.55	0.586	2.18	0.031	4.56	0.000
t值	0.29	0.98	0.07	0.75										
P值	0.773	0.329	0.946	0.452										
注射HBIG														
是	99.13±85.82 (11)	127.11±125.15 (44)	80.47±71.09 (45)	103.04±101.41 (100)	3.31	0.191	-0.70	0.488	0.75	0.457	2.16	0.035	4.16	0.000
否	47.89±52.03 (13)	96.96±107.50 (70)	88.54±84.53 (98)	88.90±92.78 (181)	4.77	0.092	-1.61	0.112	-1.69	0.094	0.57	0.570	3.77	0.000
t值	1.80	1.37	0.56	1.19										
P值	0.085	0.174	0.579	0.237										

注:括号内数据为例数; DBI:显性感染; OBI:隐匿性感染; BIT:宫内传播; NBIT:宫内未传播; HBIG:乙肝免疫球蛋白

10<sup>3</sup> ~ 10<sup>6</sup> 拷贝/ml时, DBI组的IL-18水平显著低于NBIT组,并随着BIT的加重,其IL-18水平呈下降趋势,呈现Th2细胞优势。既往研究也提出无症状携带者Th1功能减退,呈病毒高复制状态, Th2应答占优势<sup>[6-7]</sup>,有研究表明IL-18能上调Th1细胞免疫反应同时抑制Th2细胞反应影响Th1/Th2细胞平衡,提出HBV携带者孕妇外周血IL-18低水平参与HBV宫内感染机制<sup>[8]</sup>。本研究的DBI等于传统研究中的宫内感染组,因此,本研究与既往研究结果一致,即HBsAg阳性产妇外周血IL-18水平降低,其新生儿发生DBI可能性升高。

在机体对HBV的免疫应答过程中, HBeAg与HBcAg结构上的差异以及受宿主MHC和T细胞识别部位的不同, HBeAg可以诱导Th1细胞耐受,诱导特异性的Th2细胞增殖,并促进Th2细胞因子大量分泌,从而下调机体对HBcAg的免疫攻击反应<sup>[9-11]</sup>。本研究发现HBeAg阴性组IL-18水平显著低于HBeAg阳性组, DBI组中HBeAg阴性组IL-18水平也显著低于HBeAg阳性组,即HBeAg阳性和BIT者,其体内HBV病原体较容易刺激母体的免疫应答,试图保护胎儿免受HBV感染,而母体的HBeAg若传播至胎儿并通过Th1/Th2细胞亚群失衡引起胎儿机体对HBV耐受,将会导致HBV宫内感染发生<sup>[8]</sup>,因此,既往研究结论从某种程度上支

持本研究结果。

从本研究HBsAg阳性产妇孕期干预情况来看,进行抗病毒治疗、接种乙肝疫苗和注射HBIG的孕妇存在自我选择性,往往是HBV DNA载量>10<sup>6</sup>拷贝/ml和HBeAg阳性者更倾向于选择阻断干预,如:71.42%的HBeAg阳性者选择注射HBIG,而仅21.22%的HBeAg阴性者选择注射HBIG, 18.82%的HBeAg阳性者选择抗病毒治疗, 10.85%的HBeAg阴性者选择抗病毒治疗等现象;导致检测其外周血IL-18水平存在HBV感染本底因素的混杂,本研究除接种乙肝疫苗组外,其他组别均呈现IL-18水平显著高于对照组,未接种乙肝疫苗组中呈现随着BIT程度的加重,产妇外周血IL-18含量明显减少的趋势,未接种乙肝疫苗和未注射HBIG组中OBI组IL-18水平均显著高于NBIT组,推测HBIG能明显激发机体IL-18升高,而高水平的IL-18更有利于阻断BIT,有研究提出注射一定剂量的IL-18能快速、可逆性地抑制HBV复制,且无明显的细胞毒性作用,提出IL-18可能是一种潜在的治疗慢性乙肝药物<sup>[10-11]</sup>,因此,较高水平的IL-18有利于孕妇清除体内HBV,甚至推测可以免疫阻断和治疗HBV宫内感染中的细胞因子产生异常及水平低下者,对降低BIT概率有积极意义。

通过多因素分析发现孕妇体内IL-18水平与其

HBV感染状态密切相关,尤其HBeAg与IL-18存在着一定的内在联系。因此控制BIT的首要任务是减少孕妇体内病毒负荷量、改善感染状况;同时,母体孕期IL-18水平与新生儿BIT结局也密切相关。既往对BIT只针对新生儿发生HBsAg阳性者,忽略了基数更大的OBI者,本研究针对IL-18的研究首次拓展了BIT定义范畴,一旦发生BIT,便极可能会产生免疫耐受,导致胎儿及新生儿不能及时有效地清除体内病毒,故预防及降低胎儿BIT的发生,重点应放在孕妇管理的环节。

综上所述,IL-18是Th1/Th2网络平衡更高层次的调控者,监测HBsAg阳性孕妇体内IL-18水平,不仅可以对其新生儿发生DBI和OBI进行预判,而且可以考虑作为干预手段,尤其对于HBeAg阳性和HBV DNA载量 $\geq 10^3$ 拷贝/ml者,提高母体的细胞免疫功能,有利于控制BIT。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Jegaskanda S, Ahn SH, Skinner N, et al. Downregulation of interleukin-18-mediated cell signaling and interferon gamma expression by the hepatitis B virus e antigen[J]. *J Virol*, 2014, 88(18):10412-10420. DOI:10.1128/JVI.00111-14.
- [2] 黄睿,曹引丽,高洁,等.西安市HBV宫内感染的发生情况及其影响因素研究[J]. *华南预防医学*, 2017, 43(6):507-511. DOI:10.13217/j.scjpm.2017.0507.  
Huang R, Cao YL, Gao J, et al. HBV intrauterine infection and its influencing factors in Xi'an[J]. *South China J Prev Med*, 2017, 43(6):507-511. DOI:10.13217/j.scjpm.2017.0507.
- [3] Zhang WL, Ji ZH, Wang L, et al. A Meta-analysis of HBsAg-positive rate among general Chinese populations aged 1-59 years[J]. *Infect Dis*, 2015, 47(12):878-888. DOI:10.3109/23744235.2015.1064541.
- [4] Gambarin-Gelwan M. Hepatitis B in pregnancy[J]. *Clin Liver Dis*, 2007, 11(4):945-963. DOI:10.1016/j.cld.2007.08.004.
- [5] Migita K, Sawakami-Kobayashi K, Maeda Y, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms and the disease progression of hepatitis B virus-related liver disease[J]. *Transl Res*, 2009, 153(2):91-96. DOI:10.1016/j.trsl.2008.11.008.
- [6] Jiang H, Cao FS, Cao H, et al. Associations of human leukocyte antigen and interleukin-18 gene polymorphisms with viral load in patients with hepatitis B infection[J]. *Medicine*, 2018, 97(30):e11249. DOI:10.1097/MD.00000000000011249.
- [7] 乔国昱,何亚萍,韩宝生,等.乙型肝炎孕妇血清AFP、IL-18的表达及相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2013, 28(4):59-61. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2013.04.020.  
Qiao GY, He YP, Han BS, et al. Association of interleukin-18 and Alpha fetoprotein of pregnant women with hepatitis B virus infection[J]. *J Mod Lab Med*, 2013, 28(4):59-61. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2013.04.020.
- [8] 郑九生,杜二球,周小飞,等.新生儿IL-18对Th1/Th2类细胞免疫平衡的作用与HBV宫内感染相关性研究[J]. *现代妇产科进展*, 2009, 18(9):678-681.  
Zheng JS, Du EQ, Zhou XF, et al. Relationship between the effects on immune balance of helper T cell 1, 2 (Th1/Th2) by interleukin-18 (IL-18) level of newborns and hepatitis B virus intrauterine infection[J]. *Prog Obstet Gynecol*, 2009, 18(9):678-681.
- [9] 李多孚,任莉平,李欣. HBeAg与IL-18表达的关系对轻度慢性乙肝的影响及其临床意义[J]. *现代预防医学*, 2008, 35(16):3150-3152. DOI:10.3969/j.issn.1003-8507.2008.16.045.  
Li DF, Ren LP, Li X. Effect of the relation of the Interleukin-18 expression and HBeAg status on patients with low grade chronic hepatitis B and its clinical significance[J]. *Mod Prev Med*, 2008, 35(16):3150-3152. DOI:10.3969/j.issn.1003-8507.2008.16.045.
- [10] Motavaf M, Safari S, Alavian SM. Interleukin 18 gene promoter polymorphisms and susceptibility to chronic hepatitis B infection: a review study[J]. *Hepat Mon*, 2014, 14(7):e19879. DOI:10.5812/hepatmon.19879.
- [11] Dai SM, Nishioka K, Yudoh K. Interleukin (IL) 18 stimulates osteoclast formation through synovial T cells in rheumatoid arthritis: comparison with IL1 $\beta$  and tumour necrosis factor  $\alpha$ [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(11):1379-1386. DOI:10.1136/ard.2003.018481.

(收稿日期:2019-02-01)

(本文编辑:斗智)