

# 还原叶酸载体基因多态性与先天性心脏病和唇腭裂关联的研究

裴丽君 任爱国 郝玲 朱慧萍 朱江辉 赵文睿 周敏霞 孙霞美  
姜梅芳 陈海兰 张伯兰 李竹

**【摘要】** 目的 检验还原叶酸载体基因(RFC1)A80G 多态性与先天性心脏病(CHD)和唇腭裂之间的关联,为寻找 CHD 和唇腭裂危险因素遗传易感标志物提供流行病学依据。方法 采用 RFLP-PCR 方法,对 67 个 CHD 患儿家庭、82 个唇腭裂患儿家庭和 100 个正常儿童家庭成员的外周血 DNA 进行 RFC1 第 80 位 SNP 检测,利用核心家庭标本进行以家庭为基础的关联检验(FBAT),并分析了子代 RFC1 基因型与母亲孕期前后增补叶酸的相互作用。结果 不增补叶酸的母亲生育 CHD 儿的危险高于增补叶酸的母亲( $OR = 2.68, 95\% CI: 1.14 \sim 6.41$ ),即母亲孕期未增补叶酸与 CHD 发生危险的关联有统计学意义( $\chi^2 = 6.213, P = 0.013$ );在 FBAT 检验中,RFC1 G 等位基因与 CHD 发病危险有统计学关联( $Z = 2.140, P < 0.05$ ),表明 RFC1 G 等位基因可能是 CHD 发病的遗传易感基因,未发现唇腭裂与 RFC1 之间的统计学关联。结论 RFC1 G 等位基因可能是 CHD 发生的遗传易感基因之一,子代 RFC1 基因 GG 或 GA 基因型、母亲孕期叶酸缺乏可能增加 CHD 的发病危险。

**【关键词】** 心脏病,先天性;唇腭裂;还原叶酸载体基因;以家庭为基础的关联检验

**Study on the association between reduced folate carrier gene polymorphism and congenital heart defects and cleft lip with or without cleft palate** PEI Li-jun\*, REN Ai-guo, HAO Ling, ZHU Hui-ping, ZHU Jiang-hui, ZHAO Wen-ruì, ZHOU Min-xia, SUN Xia-mei, JIANG Mei-fang, CHEN Hai-lan, ZHANG Bo-lan, LI Zhu. \*Institute of Reproductive and Child Health, National Reference Laboratory on Reproductive Health Research Ministry of Health, Peking University, Beijing 100083, China

**【Abstract】** **Objective** To study the association between reduced folate carrier gene (RFC1) polymorphism and congenital heart defects (CHD) as well as cleft lip with or without cleft palate (CLP) and to provide epidemiological evidence on genetic markers of CHD and CLP. **Methods** RFC1 (A80G) genotype was detected using RFLP-PCR for blood DNA of the 67 triads with nonsyndromic CHD-affected child, the 82 triads with child-affected cleft lip with or without CLP and the 100 control families without child-affected birth defects. We performed a family-based association test and analyzed the interaction between RFC1 A80G genotype and maternal periconceptional supplementation of folic acid. **Results** Offspring of mothers who did not take folic acid had an elevated risk for CHD when comparing with offspring of mothers who did ( $OR = 2.68, 95\% CI: 1.14-6.41$ ). There was a statistical association between the risk of CHD and maternal periconceptional folic acid supplementation ( $\chi^2 = 6.213, P < 0.05$ ). In the family-based association test, G allele was positively associated with an increased risk for children CHD ( $Z = 2.140, P < 0.05$ ) while G allele of RFC1 (A80G) polymorphism might increase the risk for CHD. Elevated risks for either CLP group were not observed between RFC1 genotype using or not using folic acid. **Conclusion** Our findings suggested that the G allele was likely to be a genetically susceptible allele for CHD. There was possible association between offspring with GG, GA genotype and maternal periconceptional folic acid deficiency.

**【Key words】** Congenital heart defects; Cleft lip with or without cleft palate; Reduced folate carrier gene; Family-based association test

基金项目:国家重点基础研究专项基金资助项目(G1999055905)

作者单位:100083 北京大学生育健康研究所卫生部生育健康重点实验室(裴丽君、任爱国、郝玲、朱江辉、赵文睿、李竹);美国得克萨斯州农工大学环境与遗传医学中心生物科学技术研究所(朱慧萍);江苏省锡山区妇幼保健所(周敏霞);浙江省海宁市妇幼保健院(孙霞美);江苏省苏州市妇幼保健院(姜梅芳);浙江省舟山市妇幼保健院(陈海兰);河北省香河县妇幼保健院(张伯兰)

增补叶酸可以有效降低神经管畸形(NTDs)的初发和再发<sup>[1,2]</sup>。正如叶酸预防 NTDs 的情况那样,有许多叶酸预防先天性心脏病(CHD)和唇裂伴或不伴腭裂(cleft lip with or without cleft palate, CLP)的流行病学证据<sup>[3-7]</sup>。但叶酸可以减少这些疾病危险的机制目前尚不清楚,因此,许多研究者将焦点集中于研究影响叶酸吸收、转运和代谢的基因上。大量研究证实,叶酸代谢酶 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因(MTHFR) C667T 热敏感性纯合突变及 A1298C 突变是 NTDs 发生的遗传易感因素<sup>[8,9]</sup>。然而,在叶酸被吸收转运进入细胞过程中涉及到的还原叶酸载体(reduced folate carrier, RFC),它与叶酸受体相互配合、协同作用,共同完成叶酸从组织到细胞内的转运。因此,还原叶酸载体基因(RFC1)的突变或表达异常可能成为叶酸正常代谢过程的重要因素。本研究的目的是检验 RFC1 第 80 位单核苷酸多态性 A80G 突变与 CHD 和 CLP 发生危险之间是否存在关联,为 CHD 和 CLP 的病因研究寻找遗传易感标志物提供流行病学依据。

### 对象与方法

1. 标本来源与研究对象的确定:44 例 CHD 病例主要来自 1995-1997 年北京大学生育健康研究所对 22 万“0~2 岁儿童先天性心脏病与孕期前后服用叶酸增补剂关系的研究”中确诊并存活 CHD 病例<sup>[10]</sup>,有 23 例为 2000-2002 年期间出生的 CHD 病例,上述病例均经过超声心动图确诊,共得到 67 个 CHD 患儿及其父母;82 例 CLP 病例来自 1993-2002 年期间中美预防出生缺陷与残疾合作项目出生缺陷监测系统,再次募集获得。在与病例相同的现场、同时期出生、不患任何缺陷的正常儿童及其亲生父母中选择了 100 个核心家庭作为对照。规定每个病例和对照家庭成员无明显的心血管疾病、牛皮癣、未接受过各种癌症后化疗和抗惊厥药物治疗。对上述研究对象进行问卷调查和采集血标本前,必须征得本人同意后在知情同意书上签字。本研究是经北京大学医学部伦理学委员会审查批准后实施。

2. 研究对象:67 例非综合征 CHD 病例家庭中,母亲 65 例,父亲 63 例。其中室间隔缺损占 64.2%,房间隔缺损 16.4%,动脉导管未闭 14.9%,法乐氏三联症 3.0%,单心室 1.5%。CHD 病例平均年龄为 4.59 岁,年龄范围 0.5~9.42 岁。CHD 病例组男

性 28 例,女性 39 例。82 例 CLP 病例中,母亲 80 例,父亲 76 例。单纯腭裂占 12.2%,单纯唇裂 37.8%,唇裂伴腭裂 50.0%。CLP 病例的平均年龄为 5.24 岁,其范围是 0~9.47 岁,CLP 病例中,男性 47 例,女性 35 例。100 个对照家庭中,儿童 99 例,父亲 97 例,母亲 100 例,对照是与病例在同一时期募集,平均年龄为 5.88 岁,其年龄范围为 1.96~9.42 岁,对照中男性 48 例,女性 52 例。CHD 组和 CLP 组分别与对照组比较,在性别上均无差别。

3. 增补叶酸的定义:叶酸使用信息来源于调查问卷,调查是在 2001 年 1 月至 2002 年 12 月期间,由经过统一培训的儿科保健医生完成。询问病例和对照母亲在怀孕前后是否服用叶酸,将孕前 3 个月至孕后 3 个月全程服用叶酸定义为增补叶酸,从未服用叶酸或服用时间不足一个月的定义为未增补叶酸。

4. DNA 模板的制备:利用美国生产的 Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega Madison, WI, USA)从全血中提取基因组 DNA, Taq DNA 聚合酶和内切酶 Hha I 均为 Promega 产品,引物由上海生工生物技术有限公司合成, dNTPs 购自华美生物公司。

5. PCR、酶切反应及聚丙烯酰胺凝胶电泳:在 PE 9600 扩增仪上扩增 RFC1 基因第 2 外显子部分序列,引物序列上游为 5' agt gtc acc ttc gtc ccc tc-3', 下游为 5'-ctc ccg cgt gaa gtt ctt-3'<sup>[11]</sup>;反应体系:10× PCR buffer、25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> (Mg<sup>2+</sup> 的终浓度为 1.5 mmol/L), 25 mmol/L dNTPs、上游引物 (10 μmol/L) 0.5 μl, 下游引物 (10 μmol/L) 0.5 μl, Taq DNA polymerase (5 U/μl) 0.2~0.4 μl (1.0~2.0 U), DNA 模板 1 μl, 加蒸馏水使总体积至 25 μl; PCR 反应条件:95℃ 5 min (95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 20 s) 共 35 个循环;72℃ 5 min;限制性内切酶 Hha I (20 U/μl) 0.5 μl 消化 PCR 扩增产物,总体积 15 μl, 37℃ 约 8 h。12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳。

结果分析:目的基因长度为 230 bp, RFC1 基因多态性表现为 GG 纯合子 (125 bp, 68 bp, 37 bp)、AA 纯合子 (162 bp, 68 bp) 和 GA 杂合子 (162 bp, 125 bp, 68 bp, 37 bp)。

6. 统计学方法:利用 SPSS 10.0 估计 RFC1 基因型与 CHD 关联之间的 OR 值及其 95% CI;利用以家庭为基础的关联检验 (the family-based association test, FBAT) 模型对 RFC1 基因型与

CHD、CLP 表型之间是否存在关联进行线性回归模型检验,以子代、父母基因型作为基因型数据,以子代是否受累和母亲是否增补叶酸作为表型数据进行关联检验<sup>[12-14]</sup>。检验假设是:假设所检验的基因上某一个或几个 Marker 与疾病状态不连锁或不关联。在无效假设成立前提下,对核心家庭成员的基因型数据进行综合评价。该软件于 2000 年由美国 Harvard 大学公共卫生学院生物统计学系编制。

### 结 果

表 1 所示,母亲未增补叶酸生育 CHD 的危险是增补叶酸母亲的 2.68 倍(95% CI: 1.14~6.41),经  $\chi^2$  检验具有统计学意义( $\chi^2 = 6.213, P < 0.05$ ),未检验出与 CLP 之间的关联( $P > 0.05$ );按照母亲是否增补叶酸分层,无论在增补叶酸组还是未增补叶酸组,以 CHD 子代 GA 和 GG 基因型分别与 AA 比较,结果差异均无显著性。

表 2 为 CHD 和 CLP 患儿 RFC1 基因型与母亲增补叶酸之间的作用。以子代 AA 基因型和母亲增补叶酸为非暴露,子代 GA、GG 基因型和母亲未增补叶酸为暴露因素进行比较,调整年龄因素后计算 OR 值,未得到有意义的 OR 值。

表 3 是以家庭为基础的关联检验。从显性遗传模型中发现,等位基因 G 与 CHD 表型之间呈正关联( $P < 0.05$ ),即 RFC1 基因的 G 等位基因可增加 CHD 的发病风险,但未发现 G 等位基因与 CLP 发

病风险存在关联。

### 讨 论

目前,国内对 RFC1 突变或功能表达异常与出生缺陷之间的关联研究尚未起步,国外对 RFC1 基因在癌症患者抗癌治疗中的作用及 RFC 转运氨甲喋呤(MTX)的研究较多,借助这些研究结果初步探讨 RFC 及其基因 RFC1 缺陷导致的叶酸转运障碍机制。在提出 CHD 或 CLP 是否与 RFC1 存在关联的假设过程中,我们首先在国内进行了 RFC1 基因 A80G 在中国人群中的分布研究,结果初步认为 RFC1 基因型分布与北方神经管畸形率高于南方的分布特点一致<sup>[15]</sup>,这一结果为进一步开展叶酸代谢相关基因 RFC1 与 CHD、NTDs 等出生缺陷之间关联研究提供更多依据。

本研究采用了 FBAT,利用双亲基因型、受累子女基因型及其表型的家系数据,进行双等位基因或多等位基因与疾病表型的关联分析<sup>[12-14,16]</sup>,目的是研究显性(dominant)和隐性(recessive)候选基因的特异性遗传假设,这种方法比现有的其他方法有更高的检验效率。由于它是由传递不平衡检验(TDT)扩展到对任何表型、对多基因或环境因素的研究,因此,保留了原来只利用父母亲杂合子不一致对子进行检验的方法,这样会有一些父母纯合子数据不参与分析,损失部分信息,这在 FBAT 研究结果可以看出,比如 CHD 研究中共有 67 个核心家

表1 母亲增补与未增补叶酸子代 RFC1 基因型与 CHD 和 CLP 发生危险病例对照研究

因 素	CHD			CLP			对 照	
	例数	构成比(%)	OR 值(95% CI)	例数	构成比(%)	OR 值(95% CI)	例数	构成比(%)
母亲增补叶酸	10	14.9	1.00	20	24.4	1.00	32	32.0
母亲未增补叶酸	57	85.1	2.68(1.14~6.41)	62	75.6	1.46(0.72~2.96)	68	68.0
母亲增补叶酸								
子代 AA	2	20.0	1.00	7	35.0	1.00	7	22.6
GA	4	40.0	0.82(0.09~8.43)	8	40.0	0.47(0.10~2.19)	17	54.8
GG	4	40.0	2.00(0.19~23.40)	5	25.0	0.71(0.11~4.42)	7	22.6
母亲未增补叶酸								
子代 AA	10	17.5	1.00	11	17.7	1.00	15	22.1
GA	38	66.7	1.73(0.62~4.83)	35	56.5	1.45(0.53~3.97)	33	48.5
GG	9	15.8	0.68(0.19~2.39)	16	25.8	1.09(0.35~3.42)	20	29.4

注:CHD 病例 67 例,母亲 65 例;CLP 病例 82 例,母亲 80 例;对照儿 99 例,母亲 100 例,上述例数是指所收集到的血标本数,因此,对照儿基因型检测总数为 99 例

表2 CHD 和 CLP 患儿 RFC1 基因型与母亲增补叶酸之间的交互作用

子代基因型	母亲增补叶酸	CHD 例数	CLP 例数	对照人数	CHD OR 值(95% CI)	CLP OR 值(95% CI)
AA	是	2	7	7	1.00	1.00
GG+GA	是	8	13	24	1.17(0.16~10.14)	0.54(0.13~2.23)
AA	否	10	11	15	2.33(0.32~20.42)	0.73(0.16~3.27)
GG+GA	否	47	51	53	3.10(0.55~22.84)	0.96(0.28~3.33)

表3 CHD 和 CLP 的 FBAT 显性模型

疾病	等位基因	等位基因频率	Fam <sup>#</sup>	S	E(S)	Var(S)	Z 值	P 值
CHD	A	0.515	34	43.00	37.75	21.438	1.134	0.2568
	G	0.485	34	49.00	38.75	22.938	2.140	0.0323*
CLP	A	0.463	43	69.00	85.25	84.438	-0.588	0.5562
	G	0.537	41	23.00	69.75	80.188	-0.895	0.1716

注:Fam<sup>#</sup>:有信息家庭或家系数;S:参与分析的家庭总和得分统计量;E(S):S的均数;Var(S):方差;Z score =  $\frac{\sum_i [S_i - E(S_i)]}{\sqrt{\sum_i Var(S_i)}}$ ;P<0.05表明具有统计学意义

庭参与分析,但在 FBAT 检验中所显示的有信息家庭数(Fam<sup>#</sup>)为 34 个。然而,TDT 或 HHRR(基于单体型的单体型相对危险度)却不能充分利用父母亲或子代的一个或多个表型数据,这一点上它却不及 FBAT 能最大限度的利用表型数据参与分析。总之,通过本研究得知,FBAT 方法比较适合于核心家庭或家系资料的遗传分析,也是目前为数不多的进行疾病与基因关联检验的家系分析软件之一,是值得推广和应用的家系统计分析方法。

RFC 是叶酸的膜转运载体,RFC1 基因突变可能影响细胞对叶酸的吸收、转运和代谢。CHD 主要是在怀孕后头 6 周心脏发育不全导致,孕期增补叶酸可以降低 NTDs 和 CHD 的发生<sup>[3,4,17]</sup>,这一预防效果使许多学者在叶酸通道中寻找候选基因,其中 MTHFR C677T 纯合突变与 CHD 发病危险有统计学关联<sup>[18]</sup>。RFC 是叶酸代谢过程中使还原叶酸进入细胞的基本途径,RFC1 对正发育的胚胎,特别是叶酸穿过胎盘的运输具有重要影响<sup>[19]</sup>。RFC1 很可能成为叶酸代谢通道中第二个与 CHD 发病危险有关的、新的遗传易感基因之一。因此,我们的研究假设是,如果母亲孕早期未增补叶酸,RFC1 基因 GG 基因型与 AA 基因型比较,GG 基因型对 CHD 发病危险具有潜在的影响。然而,到目前为止还没有充分的证据表明子代携带 GG 基因型和母亲未增补叶酸之间存在明显的交互作用,本研究以子代 AA 基因型和母亲增补叶酸为非暴露,子代携带 GA、GG 基因型和母亲未增补叶酸为暴露因素进行比较,未得到有意义的 OR 值,这与 Shaw 等<sup>[20]</sup>的研究结果不完全一致,后者研究发现母亲未增补叶酸组,后代携带 GA 基因型可增加 CHD 发病危险,此研究选择了 163 例 CHD 病例。同时 Botto 等<sup>[4]</sup>研究显示,怀孕前后增补含叶酸的多种维生素比未增补的母亲在生育 CHD 中有更低的发病危险,但并非所有的 CHD 在使用叶酸后具有预防效果,而只是与流出道

缺陷和室间隔缺损有较强的关联。本研究与 Shaw 等的研究不一致,可能是由于样本量的限制,并未按照 CHD 的不同缺陷类型统计其基因型与 CHD 的发病危险。因此,有待于扩大样本量并且选择缺陷类型一致的 CHD 病例进一步证实。

许多实验研究结果提示:RFC1 基因低表达能影响正常组织发育,加重叶酸缺乏对于心血管疾病和胎儿异常以及癌变过程的发展<sup>[21,22]</sup>。在胎儿发育关键时期,RFC1 缺陷可能对叶酸转运的动力学产生不利影响,由于 RFC 异常可降低它与还原叶酸的亲和力,损害合胞体滋养层和神经口腔上皮细胞内叶酸饱和状态,增加剥夺叶酸的危险,传递给正发育胚胎的叶酸不足,发生 NTDs 或 CHD 的危险增加。由此可见,如果父母传递给胎儿两个 G 等位基因的同时,能保证叶酸的供给量,则可能有效拮抗因胎儿携带 GG 基因型而导致的 CHD 发生。

加拿大学者观察了 RFC1 与 MTHFR 两者联合作用对总同型半胱氨酸的影响后发现,RFC1 80GG 和 MTHFR 677TT 基因型同时存在,可提高同型半胱氨酸水平<sup>[11]</sup>,由于该研究中携带 80GG/677TT 基因型的病例仅有 4 例,这些结果还需在更大的人群研究中证实。所以,今后要把出生缺陷病因研究与叶酸通道基因、血浆叶酸水平、同型半胱氨酸水平结合起来,综合评价这些因素在疾病发病中的作用,这对出生缺陷病因研究具有重要的推动作用。

### 参 考 文 献

- 李竹,Robert JB,李松,等.中国妇女妊娠前后单纯服用叶酸对神经管畸形的预防效果.中华医学杂志,2000,80:493-498.
- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the medical research council vitamin study. Lancet,1991,338:131-137.
- 杨江帆,许月珍,李平,等.新生儿先天性心脏病患病率的调查和孕妇增补叶酸的预防效果.中国当代儿科杂志,2000,2:320-322.
- Botto LD, Mulinare J, Erickson DJ. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use. Am J Epidemiol, 2000,151:878-884.
- Botto LD, Khoury MJ, Mulinare J, et al. Periconceptional multivitamin use and the occurrence of conotruncal heart defects. Results from a population-based, case-control study. Pediatrics, 1996,98:911-917.
- Shaw GM, Lammer EJ, Wassermann CR, et al. Risk of orofacial clefts in children born to woman using multivitamins containing folic acid periconceptionally. Lancet,1995,346:393-396.
- Itikala PR, Watkins ML, Mulinare J, et al. Maternal multivitamin use and orofacial clefts in offspring. Teratology,2001,63:79-86.
- Volcik KA, Blanton SH, Tyerman GH, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and spina bifida: evaluation of level of defect and maternal genotype risk in Hispanics. Am J Med Genet,2000,95:21-27.

- 9 朱慧萍,李竹. 中国人 MTHFR 基因多态性与神经管畸形遗传易感性. 遗传, 2000, 22: 236-238.
- 10 张泽峰,李竹,季成叶,等. 浙江省 0~2 岁儿童先天性心脏病患病率研究. 中华流行病学杂志, 1999, 20: 155-157.
- 11 Chango A, Emery-Fillon N, Courcy GP, et al. A polymorphism (80G→A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. Molec Genet Metab, 2000, 70: 310-315.
- 12 Tu IP, Balise RR, Whittemore AS. Detection of disease genes by use of family data II. Application to nuclear families. Am J Hum Genet, 2000, 66: 1341-1350.
- 13 Horvath S, Xu X, Laird N. Family-based association test method: strategies for studying general genotype-phenotype associations. Euro J Hum Genet, 2001, 9: 301-306.
- 14 Lake SL, Blacker D, Laird NM. Family-based tests of association in the presence of linkage. Am J Hum Genet, 2000, 67: 1515-1523.
- 15 裴丽君,朱慧萍,任爱国,等. 中国南北方人群还原叶酸载体基因 (RFC1) 多态性分布研究. 中华流行病学杂志, 2004, 25: 499-502.
- 16 Kathryn LL, Stephen VF, Joseph B, et al. Family-based test of association and linkage that use unaffected sibs, covariates, and interactions. Am J Hum Genet, 2000, 66: 605-614.
- 17 Kapusta L, Haagsmans MLM, Steegers EAP, et al. Congenital heart disease defects and maternal derangement of homocysteine metabolism. J Pediatrics, 1999, 135: 773-774.
- 18 Junker R, Kothhoff S, Vielhaber H, et al. Infant methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype is a risk factor for congenital heart disease. Cardiovascular Research, 2001, 51: 251-254.
- 19 Prasad PD, Ramamoorthy S, Leibach FH, et al. Molecular cloning of the human placental folate transporter. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 206: 681-687.
- 20 Shaw GM, Huiping Zhu, Lammer EJ, et al. Genetic variation of infant reduced folate carrier (A80G) and risk of orofacial and conotruncal heart defects. Am J Epidemiol, 2003, 158: 747-752.
- 21 Whetstone JR, Matherly LH. The basal promoters for the human reduced folate carrier gene are regulated by a GC-box and a cAMP-response element/AP-1-like element. J Biol Chem, 2001, 276: 6350-6358.
- 22 Johnathan RW. The human reduced folate carrier gene is regulated by the AP2 and Sp1 Transcription factor families and a functional 61-base pair polymorphism. J Biol Chem, 2002, 277: 43873-43880.

(收稿日期: 2004-04-28)

(本文编辑: 张林东)

## · 读者 · 作者 · 编者 ·

## 读《加强新生儿以外人群乙型肝炎疫苗免疫》后的一点建议

倪健儿

拜读贵刊 2004 年第 5 期第 376 页庄辉教授关于《加强新生儿以外人群乙型肝炎疫苗免疫》的述评文章,文中提出了我国乙型肝炎(乙肝)防治工作中的重要免疫策略及我国乙肝计划免疫新的工作重点。我深表赞赏。

上海是我国乙肝计划免疫工作开展比较好的地区。上海市乙肝疫苗 24 h 内首针及时接种率和全程接种率都达到 99% 以上,乙肝抗体覆盖率 85%,HBsAg 阳性携带率 0.46%~0.98%,已经达到 WHO 提出的乙肝控制标准。最近,笔者对上海市 632 名在新生儿期全程接受重组(酵母)乙肝疫苗接种的 4 岁以内儿童给予乙肝病毒血清标志物(HBVM)定性和定量检测,抗-HBs 阳性率 82.44%,感染乙肝病毒率 0.95%,结果提示儿童乙肝疫苗初免后的免疫效果是非常明显的。但仍有 16.61% 的儿童在新生儿期乙肝疫苗全程接种后呈无(低)应答状态,这些儿童不能得到有效的抗体保护,存在极大的乙肝病毒感染的潜在危险。对 94 名无(低)应答儿童进行了乙肝疫苗加强接种后随访,在加强接种完成后一个月给予 HBVM 定量检测,随访结果抗-HBs 阳转率达 100%,呈高应答反应。这表明对无(低)应答儿童进行加强接种的免疫效果是理想的。因此我们认为:①我国是乙肝高流行地区,乙肝慢性化进程的关键年龄在婴幼儿期的乙肝病毒感染,因此乙肝的防治必须从新生儿抓起,这有利于降低我国乙肝、肝硬化、肝癌的发病率。②乙肝疫苗初免后

无(低)应答儿童的主要原因为乙肝病毒潜在感染、HBsAg 携带、乙肝病毒突变株、遗传因素等,这些已达成共识。对出生后 24 h 内未及及时首针接种或未全程接种乙肝疫苗和因疫苗剂型、疫苗剂量、疫苗储存、疫苗接种等其他原因引起的无(低)应答儿童,采用乙肝疫苗加强接种(更换剂型、加大剂量的)免疫方案后取得相当满意的效果,因此对初免后无(低)应答儿童进行加强接种是很有必要的。尤其是 HBsAg 阳性的母亲所生的新生儿,最好加大乙肝疫苗接种(HBVac)剂量(由 5 μg 加量至 10 μg)或与乙肝免疫球蛋白(HBIG)联合应用。③为了全面落实加强新生儿以外人群乙肝疫苗免疫策略,应制订相应的政策和具体实施方案。如儿童在入幼入托前应进行常规的 HBVM 检测,加强幼托儿童和教职员工的乙肝管理,避免乙肝的水平传播。

我国每年出生约 2000 万名新生儿,乙肝疫苗初免后无(低)应答儿童就有 300 万名之多。由于我国乙肝计划免疫工作开展不平衡,无(低)应答儿童仍可能被乙肝病毒感染。无(低)应答的确切机理还不清楚。为了早日达到 WHO 乙肝控制目标,无(低)应答儿童应该得到社会的广泛关注。鉴于以上理由,建议在我国乙肝计划免疫工作中继续加强新生儿乙肝疫苗免疫的同时,应把初免后无(低)应答儿童列入加强对新生儿以外人群乙肝疫苗免疫的重点人群。

此建议若有不妥之处,敬请庄辉教授指教。

(收稿日期: 2004-09-09)

(本文编辑: 张林东)