

乙型肝炎病毒宫内感染的研究现状及今后工作重点

王素萍 徐德忠

乙型肝炎(乙肝)呈世界范围流行,我国是高发区,全世界约有3.5亿乙肝病毒(HBV)慢性感染者,我国乙肝表面抗原(HBsAg)携带者就达1亿多,其中1/3以上是母婴传播所致,乙肝疫苗和乙肝高效价免疫球蛋白的应用使母婴间的水平传播及产中、产后的传播得到有效控制,但HBV母婴传播中的宫内感染尚不能用乙肝疫苗完全阻断。若按一般人群HBsAg携带率为10%,HBV宫内感染率为5%~10%保守估计,我国每年约有8万~16万HBV宫内感染的新生儿出生(依2004年出生资料统计),其多数将形成HBV终生携带,可能有25%以上慢性HBV感染者死于与之相关的肝脏疾病或肝癌。而且,这一特殊人群所造成的各代子女的HBV宫内感染延绵不断,水平传播和垂直传播持续存在,后果极为严重。世界卫生组织提出2010年在全球控制乙肝流行,我国的任务异常艰巨。因此,深入研究HBV宫内感染的机制,进行针对性的预防,是控制乙肝流行的关键。

有关HBV宫内传播机制的研究,国内外文献报道较少,研究始于20世纪80年代^[1,2],由于HBV感染率国内较高,近年国内学者研究报道较多,基于人群的研究多在90年代之后,综合国内外研究结果,1999年提出了HBV宫内感染的两条途径^[3]:①血源性:如先兆早产等因素引起胎盘微血管破裂导致母血进入胎儿血循环使胎儿感染;②细胞源性:HBV从母亲蜕膜细胞至胎儿绒毛毛细血管内皮细胞通过细胞间传递而引起胎儿感染。近几年国内外学者应用先进的生物学技术结合流行病学方法,使研究不断深入,如HBV宫内传播与病毒变异及宿主易感性的研究,外周血单个核细胞与HBV宫内感染关系的研究等,取得了一些进展,主要集中于以

下几个方面。

1.HBV宫内感染率:HBV宫内感染即孕妇HBV经胎盘传播给胎儿引起的感染。一般认为若出生时外周静脉血HBsAg阳性和/或HBV DNA阳性,判为HBV宫内感染。出生时脐血等标本中HBV标志尚难排除母血污染之嫌,一般不作为诊断依据。HBV宫内感染率因测量指标及生物材料不同而各异,用新生儿外周血HBsAg作为诊断指标,HBV宫内感染率一般在5%~10%^[4],增加外周血HBV DNA等HBV感染指标的检测,宫内感染率有所提高,但近年资料报道产前、产后母婴主、被动免疫的联合应用使HBV宫内感染率明显降低^[5]。

2.HBV宫内感染的机制及危险因素:

(1)胎盘HBV感染:HBV通过胎盘传播,由先兆流产和先兆早产等因素使胎盘损伤导致母血进入胎儿血循环使胎儿感染毋庸置疑,但由于孕期保健的加强,此类因素近年暴露率很低,对HBV宫内感染的作用有待进一步认识。胎盘各类细胞,特别是绒毛毛细血管内皮细胞HBV感染状况已得到分子病理学研究的证实,从母面到胎儿面的蜕膜细胞、滋养层细胞、绒毛间质细胞至绒毛毛细血管内皮细胞HBV感染率逐渐下降,但胎儿HBV宫内感染的危险性逐渐增加,呈剂量反应关系。研究中发现HBV感染胎盘以及在胎盘中的“逐层转移”是以“HBsAg-抗-HBs复合物”的形式,由Fc γ III受体介导而完成^[6]。

(2)母亲HBV感染状态与病毒变异:多项巢式病例对照研究已显示,母亲高水平HBV复制是宫内感染发生的危险因素。HBV宫内感染率与母亲血清HBeAg阳性、HBsAg滴度和HBV DNA浓度成正比^[7]。母亲感染HBV的基因型以C型为绝大多数,与一般人群一致。有关病毒变异问题,一项研究结果显示宫内感染组4对母婴HBV的S区 α 决定簇表位几乎没有突变^[8],似乎前S/S区突变的

作者单位:030001 太原,山西医科大学流行病学教研室(王素萍);第四军医大学流行病学教研室(徐德忠)

HBV 更容易从母体传播给胎儿,可能是由于突变减低了病毒与细胞的结合能力的缘故。但有资料报道在宫内感染免疫失败儿童(7例)均发生 HBV S 区基因突变^[9],使 131、161、121 及 133 氨基酸发生突变,突变发生在第一环内及上游和第二环下游,国内其他学者也有类似报道。因而,基因突变与 HBV 宫内感染关系的确定尚需加大样本进一步研究。

(3) 外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC) HBV 感染:目前将 HBV 宫内感染的传播机制归结为血源性和细胞源性两种途径,但研究中发现无此二类因素却发生 HBV 宫内感染,甚至仅表现为新生儿 PBMC HBV 感染的现象^[10]。研究者用选择性 PCR 法检测孕妇及其新生儿 PBMC HBV DNA^[11],结果表明 HBsAg 阳性孕妇及其新生儿存在 PBMC HBV 复制,并经序列测定证实,说明 PBMC 是 HBV 复制的肝外场所,巢式病例对照研究提示母亲 PBMC HBV 感染是 HBV 宫内感染的危险因素,但要确立其作用,还需进行大量的研究工作。另外,已有报道其他因素,如先兆流产、先兆早产、羊水 HBV 感染、羊膜穿刺术、助产术、超期妊娠等因素可以增加 HBV 宫内感染的危险性。

3. HBV 宫内感染的易感性:易感性是决定病原体感染的发生、发展和转归的重要因素,HBV 感染、乙肝甚至 HBV 宫内感染的分布差异,强烈提示遗传易感性对 HBV 宫内感染的重要作用。近年对细胞因子和人类白细胞抗原-DR 抗原及其基因与 HBV 宫内感染关系进行了探讨。

(1) 人类白细胞抗原 DR 区域(HLA-DR)基因:两项研究选择发生及未发生 HBV 宫内感染的新生儿^[12,13],采用序列特异引物 PCR 技术扩增 HLA-DR 基因区 18 对等位基因,分析 HLA-DR 抗原各型别出现频率并分析其在两组间的差别,结果显示 DR3、DR51 在宫内感染组的频率高于非宫内感染组,DR53 在非感染组的频率高于感染组,但差异均无统计学意义,提示 DR3、DR51 可能是 HBV 宫内感染的易感型,DR53 有可能具有保护作用。而 HBsAg 阳性孕妇 DR3 基因频率显著高于正常孕妇组;DR13 基因频率显著低于正常孕妇,新生儿 HBV 宫内感染组孕妇 DR3 的基因频率显著高于宫内未感染组。但仍需要扩大样本量进一步研究。

(2) 细胞因子:采用半定量逆转录 PCR 对 HBV 宫内感染免疫失败儿童、宫内感染免疫有效儿童及

正常免疫儿童 PBMC 在丝裂原、酵母重组 HBsAg 及无刺激物时的 γ_2 干扰素(IFN)、白细胞介素 24 mRNA 表达水平进行检测。结果显示宫内感染 HBV 免疫失败儿童存在 Th1 型和 Th2 型细胞因子的特异性反应低下,Th1 型细胞因子非特异性反应增强^[14]。应用实时荧光定量 PCR 技术检测肿瘤坏死因子(TNF)- α 基因 -238 位点的单核苷酸多态性,结果 TNF- α 基因 -238 位点 A 等位基因频率,宫内感染 HBV 经免疫接种失败者显著高于免疫接种有效者,并与非携带 HBV 母亲所生健康儿童相比差异有统计学意义,而免疫接种有效者与非携带 HBV 母亲所生健康儿童相比差异无统计学意义,IFN- γ 基因 +874 位点 A 等位基因也呈同样的趋势,因此认为 TNF- α 基因 -238 位点 A 等位基因和 IFN- γ 基因 +874 位点 A 等位基因与 HBV 宫内感染易感性有关^[15]。

HBV 宫内感染机制是一个非常复杂的问题,国内外不同学科的学者进行了许多艰苦的工作,然而既往的研究仅仅是初步的,欲阐明 HBV 宫内传播的机制并有效地加以控制,还需进行多方面的研究工作,包括①胎盘 HBV 感染机制的深入研究,病毒感染宿主细胞是一个多细胞因子参与的复杂的内化过程,那么,HBV 进入胎盘组织各类细胞具体机制如何? HBV 在胎盘组织中的内化作用有多少因子的参与? 具体过程如何? 还需进一步研究;②HBV 病毒基因型和病毒变异与 HBV 宫内感染关系,目前研究结论不一,现行的新生儿主动及被动免疫对病毒变异及体内优势株的作用如何? ③HBV 宿主易感性研究要进一步深化,但在易感性研究的同时,要特别注意易感基因之间及与环境因素之间的交互作用和混杂作用问题;④注重母婴 PBMC 在 HBV 宫内感染发生、转归、免疫失败等方面作用的随访研究;⑤将先进的生物学技术引入 HBV 宫内感染机制研究的同时,不可忽视传统流行病学对宏观因素的研究,要最大限度地挖掘一些可控制的宏观因素,如孕期性生活等问题,在 HBV 宫内感染发生中的作用,进而有效地控制,以降低 HBV 宫内感染发生率。以上问题的研究工程是庞大的,在保证足够样本的前提下,尚需严密设计,多学科密切合作才能取得进展,得出较为真实的研究结果,为防制 HBV 宫内感染提供科学依据。

本期发表的 4 篇论文,分别用病例对照研究方法探讨孕期性行为与 HBV 宫内感染关系,用等位

基因特异性 PCR 和半巢式 PCR 方法检测新生儿外周血母亲细胞 DNA, 研究母胎细胞转运与 HBV 宫内感染关系, 用实时荧光定量 PCR 技术检测部分细胞因子基因位点单核苷酸多态性, 探讨细胞因子基因多态性与 HBV 宫内感染的易感性, 用随访研究的方法观察 HBsAg 阳性孕妇的婴儿经宫内阻断治疗后 HBVM 模式及意义。上述研究对 HBV 宫内感染机制等问题有一些新的启示, 但要确立相关的结论, 还应进行大量的工作。

参 考 文 献

- Lin HH, Lee TY, Chen DS, et al. Transplacental leakage of HBeAg-positive maternal blood as the most likely route in causing intrauterine infection with hepatitis B virus. *J Pediatr*, 1987, 111: 877-881.
- Ohto H, Lin HH, Kawana T, et al. Intrauterine transmission of hepatitis B virus is closely related to placental leakage. *J Med Virol*, 1987, 21:1-6.
- 徐德忠, 闫永平, 徐剑秋, 等. 乙型肝炎病毒宫内传播因素和机制的分子流行病学研究. *中华医学杂志*, 1999, 79:24-27.
- Ghendon Y. Perinatal transmission of hepatitis B virus in high incidence countries. *J Virol Meth*, 1987, 17:69-79.
- 朱启镛, 俞惠, 陈慧, 等. 产前和产后联合阻断 HBsAg、HBeAg 阳性孕妇母婴传播的研究. *中华传染病杂志*, 2004, 22: 160-163.
- Xu DZ, Yan YP, Zou SM, et al. Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185:981-987.
- Xu DZ, Yan YP, Choi BCK, et al. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study and a molecular pathology study. *J Med Virol*, 2002, 67:20-26.
- 苏海霞, 闫永平, 徐德忠, 等. 宫内传播中乙型肝炎病毒前 S/S 基因序列分析. *中国公共卫生*, 2003, 19:770-772.
- 孔宪毅, 王素萍. 联合应用乙型肝炎疫苗与乙型肝炎免疫球蛋白预防乙型肝炎病毒母婴传播失败危险因素的研究. *中华流行病学杂志*, 2002, 23:161-163.
- 王素萍, 徐德忠, 闫永平, 等. HBsAg 阳性孕妇新生儿外周血单个核细胞乙型肝炎病毒感染状况及意义的研究. *中华流行病学杂志*, 2002, 23: 101-104.
- 史晓红, 王素萍, 李淑珍, 等. HBsAg 阳性孕妇及新生儿 PBMC HBV 复制状况的研究. *中国公共卫生*, 2004, 20:513-514.
- 王素萍, 孔宪毅, 薛淑莲, 等. HLA-DR 抗原与 HBV 宫内感染关系研究. *中国公共卫生*, 2003, 19:772-774.
- 刘海英, 孔北华, 罗霞, 等. 乙型肝炎病毒母婴垂直传播与人类白细胞抗原 2DR 区域基因相关性的研究. *中华妇产科杂志*, 2003, 38:599-603.
- 朱启镛, 于广军, 吕晴, 等. 宫内感染乙型肝炎病毒儿童接种乙型肝炎疫苗免疫失败与其相关细胞因子关系研究. *中华儿科杂志*, 1999, 37:404-407.
- 顾绍庆, 朱启镛, 俞惠, 等. 肿瘤坏死因子- α 基因多态性与乙型肝炎病毒宫内感染易感性的关系. *中华肝病杂志*, 2004, 12:538-539.

(收稿日期:2004-12-05)

(本文编辑:张林东)

· 疾病控制 ·

从健康体检饮食服务人员中检出一株伤寒沙门菌

许少洪 孙凤琪 曾爱芳 李兰芳

2004 年 10 月海珠区疾病预防控制中心微检室在饮食从业人员健康体检者肛拭标本中检出一株伤寒沙门菌。伤寒的健康带菌者较少被发现, 由从业人员体检标本中检出该菌的报道也不多见。

该名健康带菌者为某海鲜酒家 18 岁女性服务员, 体检之前无伤寒病史, 近期身体也无不适。肛拭标本接种亚硒酸半胱氨酸增菌液 37℃ 培养 24 h 后, 划线分离于 SS 琼脂平板上 37℃ 培养 24 h, 平板上形成中等大小, 无色较透明, 表面光滑湿润, 边缘整齐, 圆形稍隆起的菌落。接种克氏双糖琼脂 37℃ 培养 24 h, 斜面产碱, 底层产酸不产气, 无黑色沉淀; 约 72 h 后底层出现少量黑色沉淀。镜检该菌为革兰阴性杆菌, 无芽胞, 无荚膜。该菌株氧化酶(-)、硝酸盐还原(+), H₂S(+, 迟缓)、动力(+), 尿素(-)、葡萄糖产酸(+), 葡萄糖产气(-)、麦芽糖(+), 甘露醇(+), 蔗糖(-)、乳糖(-)、鼠李糖(-)、木糖(+), 蕈糖(+), 阿拉伯糖(-)、棉子糖(-)、卫茅醇(-)、山梨醇(+), 侧金盏花醇(-)、肌醇(-),

丙二酸盐(-)、靛基质(-)、甲基红(+), VP 试验(-)、枸橼酸盐(-)。以上结果符合伤寒沙门菌生物 1 型的生化特征。该菌株噬菌体裂解试验(三滴法)能被肠杆菌科分属诊断噬菌体 O-1 融合性裂解, 不被 E 多价噬菌体和 C 多价噬菌体裂解。取该菌纯培养物作玻片凝集试验, 与沙门菌 A~F 多价血清凝集(++) , 与因子血清 O₆ 凝集(++) , 与因子血清 O₁ 不凝集, 与 Vi 血清凝集(++) , 与鞭毛因子血清 Hd 不凝集, 与生理盐水不凝集。用 0.5% 琼脂平板诱导 6 代后, 该菌能与鞭毛因子血清 Hd 发生凝集(++)。该菌株的抗原式为 9, 12, [Vi]:d:-, 参照 Kauffman-White 诊断抗原表, 该菌为伤寒沙门菌(*S. typhi*, 9, 12, [Vi]:d:-)。该菌株经广州市疾病预防控制中心中心进一步复核证实。该菌药敏试验(K-B 法)对复方新诺明、庆大霉素、诺氟沙星、头孢噻肟、头孢哌酮、头孢唑啉、羧苄青霉素、氨苄西林、卡那霉素和阿米卡星敏感, 对青霉素 G、红霉素及去甲万古霉素耐药。

(收稿日期:2004-12-09)

(本文编辑:张林东)