

· 现场调查 ·

乙型肝炎病毒宫内感染危险因素研究

冯永亮 王素萍 魏俊妮 史晓红 张俊斌 郭琼 武旭彪 樊华 王小芳

【摘要】 目的 研究乙型肝炎病毒(HBV)宫内感染的危险因素。方法 采用巢式病例对照研究的方法,进行 HBV 宫内感染危险因素的 logistic 回归分析。结果 HBV 宫内感染危险因素的单因素分析显示在 $\alpha=0.05$ 水平上,孕妇 DR3、婴儿 DR3、母婴 DR3 同阳性、孕妇血清 HBV DNA 阳性、孕妇血清 HBeAg 阳性和胎盘感染在病例组和对照组差异均有统计学意义;是 HBV 宫内感染的危险因素,OR 值(95% CI)分别为4.71(1.62~13.66)、3.91(1.18~12.94)、5.96(1.14~31.15)、6.59(2.72~15.97)、4.53(1.93~10.64)和2.51(1.12~5.60);在 $\alpha_{\lambda}=0.05, \alpha_{\text{世}}=0.10$ 水平上,进行 HBV 宫内感染的多因素 logistic 回归分析,孕妇 DR3(OR = 4.65, 1.44~15.05)、孕妇血清 HBV DNA(OR = 6.56, 2.65~16.23)被引入回归方程,为 HBV 宫内感染的危险因素,且两因素间未显示交互作用;其他因素的暴露率在病例组和对照组未见明显差别。随着孕妇血清 HBV DNA 含量的增加,其发生宫内感染的危险性呈现增高趋势($\chi^2=16.74, P<0.05$)。结论 HBV 宫内感染的危险因素为孕妇 HLA-DR3 阳性和孕妇血清 HBV DNA 阳性,且两因素间未显示交互作用,HBV 宫内感染率随孕妇血中 HBV DNA 含量增高呈增高趋势。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 宫内感染; 危险因素

Comprehensive study on the risk factors of hepatitis B virus intrauterine infection FENG Yong-liang, WANG Su-ping, WEI Jun-ni, SHI Xiao-hong, ZHANG Jun-bin, GUO Qiong, WU Xu-biao, FAN Hua, WANG Xiao-fang. Department of Epidemiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China
Corresponding author: WANG Su-ping, Email: spwang88@163.com

【Abstract】 Objective To study the risk factors of hepatitis B virus (HBV) intrauterine infection. **Methods** Risk factors of HBV intrauterine infection were analyzed by nested case control study. **Results** Data from univariate analysis revealed that risk factors of HBV intrauterine infection were positive results on HLA-DR3 (OR = 4.71, 1.62-13.66), HBV DNA (OR = 6.59, 2.72-15.97) and HBeAg (OR = 4.53, 1.93-10.64) in pregnant women, HLA-DR3 (OR = 3.91, 1.18-12.94) in newborn, HLA-DR3 (OR = 5.96, 1.14-31.15) both in pregnant women and her newborns and HBV infection in placentas (OR = 2.51, 1.12-5.60). Results from Multivariate unconditional logistics regression analysis showed that the risk factors of HBV intrauterine infection were positive in both HLA-DR3 (OR = 4.65, 1.44-15.05) and HBV DNA (OR = 6.56, 2.65-16.23) in pregnant women. However, there was no interaction between the two factors. The exposure rate of other factors did not reveal the difference in the two groups. With the increase of HBV DNA in pregnant women, the risk of HBV intrauterine infection was rising ($\chi^2=16.74, P<0.05$). **Conclusion** Risk factors of HBV intrauterine infection were HLA-DR3 positive and HBV DNA positive in pregnant women but there was no interaction between the two factors. The risk of HBV intrauterine infection was increased along with the increase of HBV DNA in pregnant women.

【Key words】 Hepatitis B virus; Intrauterine infection; Risk factors

乙型肝炎(乙肝)呈世界范围流行,我国是高流行区,其中乙肝病毒(HBV)携带者中 50% 以上为母婴垂直传播所致^[1,2]。在 HBV 母婴传播的三个阶段中,产中及产后感染的机制已基本清楚,联合应用乙肝免疫球蛋白(HBIG)和乙肝疫苗可以有效

预防和阻断乙肝传播,而宫内感染的危险因素及传播机制尚有争议,目前还不能有效防制 HBV 宫内感染。本文结合 HBV 宫内感染的遗传与环境因素来研究 HBV 宫内感染的危险因素,为防制 HBV 宫内感染提供一定的理论依据。

对象与方法

1. 对象:以 2003 年 6 月至 2004 年 11 月经太原

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070699)

作者单位:030001 太原,山西医科大学流行病学教研室

通讯作者:王素萍, Email: spwang88@163.com

市各省市级医院筛检,在太原市传染病院妇产科进行产前检查的 HBsAg 阳性孕妇为研究队列,追踪观察至分娩,收集孕妇产前、产中及产后的流行病学和临床资料,并收集其新生儿的临床资料,共采集 HBsAg 阳性孕妇肘静脉血及其新生儿出生 24 h 内且未注射 HBIG 的股静脉血标本各 187 份,检测与研究有关的各种指标,进行 HBV 宫内感染危险因素的研究。

2. 方法:

(1)调查方法:由经过培训合格的临床医师按统一设计的调查表对孕妇进行面对面询问及查阅产前检查档案,获得 HBsAg 阳性孕妇从产前检查至新生儿分娩的有关资料,并填写调查表。

(2)调查内容:主要包括孕妇一般资料;孕妇及家庭成员 HBV 感染情况;孕妇既往史;孕期各因素暴露史,如先兆流产、先兆早产等;以及新生儿情况,如性别、体重、畸形等内容。并对某些因素的暴露规定了执行定义。

(3)乙肝血清标志物检测:采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法,试剂盒购自上海科华实业总公司。

(4)HBV DNA 检测:参照文献[3-5]采用异硫氰酸胍一步法提取血清 DNA,采用巢式聚合酶链反应(nPCR)进行 HBV DNA 的扩增;荧光定量 PCR 法对血清 HBV DNA 进行定量检测。

(5)HLA-DR 等位基因检测:采用 SDS-蛋白酶 K 法提取血块基因组 DNA,参照文献[4]的引物设计采用聚合酶链反应/序列特异性引物(PCR-SSP)技术检测孕妇及其新生儿外周静脉血血块中 HLA-DR3、DR7、DR13、DR53 基因型分布及频率。

(6)新生儿 HBV 宫内感染诊断标准:新生儿外周血 HBsAg 和/或 HBV DNA 阳性,即诊断为 HBV 宫内感染。

3. 统计学分析:资料输入 SPSS 13.0 统计软件进行 logistic 回归模型分析。

结 果

1. 一般情况:共收集 HBsAg 阳性孕妇及其新生儿 187 对。其中顺产 74 例中发生 HBV 宫内感染 10 例,非顺产者(胎吸、臀助、产钳和剖腹产)113 例中发生 HBV 宫内感染 19 例。HBsAg 阳性孕妇均为汉族,平均年龄 27.67 岁,其中 HBsAg、HBeAg 双阳性者 72 例(38.50%),187 例均为 HBsAg 携带者,其中 27 例为病后携带,余未发现肝炎史。

2. HBV 宫内感染情况:HBV 宫内感染新生儿 HBsAg 阳性 11 例,HBV DNA 阳性 22 例,病毒载量介于 $10^4 \sim 2.16 \times 10^7$ 拷贝/ml,HBsAg 和 HBV DNA 任一项阳性者 29 例,HBV 宫内感染率为 15.51% (29/187)。

3. HBV 宫内感染危险因素的巢式病例对照研究:将发生 HBV 宫内感染的 29 例新生儿作为病例组,余 158 例未发生宫内感染的新生儿作为对照组,分析孕妇孕期各因素、HBV 感染状态、新生儿各因素及新生儿父亲等因素对 HBV 宫内感染发生的作用。

(1)均衡性检验:病例组和对照组孕妇均为汉族,两组年龄分布差别无统计学意义($t = 0.220$, $P > 0.05$);文化程度、职业构成也无差异(χ^2 值分别为 1.840、6.193, $P > 0.05$),说明两组均衡性较好。

(2)HBV 宫内感染危险因素单因素分析:将所调查因素逐一进行单因素分析,比较病例组和对照组暴露率的差异。结果显示在 $\alpha = 0.05$ 水平上,孕妇 DR3、婴儿 DR3、母婴 DR3 同阳性、孕妇血清 HBV DNA 阳性、孕妇血清 HBeAg 阳性和胎盘感染在病例组与对照组中差异有统计学意义,结果见表 1。

(3)HBV 宫内感染危险因素的多因素分析:为了控制混杂因素对研究结果的影响,将单因素分析有意义的因素及文献报道与宫内感染有关的因素引入非条件 logistic 回归模型,主要有先兆早产、孕妇血清 HBeAg 阳性、孕妇血清 HBV DNA、胎盘感染、孕妇 DR3、婴儿 DR3、母婴 DR3 同阳性等进行多因素分析,结果以 $\alpha_{\text{入}} = 0.05$, $\alpha_{\text{出}} = 0.10$ 为标准,孕妇 DR3、孕妇血清 HBV DNA 被引入回归方程,结果见表 2。

(4)HBV 宫内感染危险因素的交互作用分析:参照文献[5]病例对照研究中判断交互作用的方法,以孕妇血清 HBV DNA 分层,分析孕妇 DR3 与新生儿 HBV 宫内感染的关系,两层的 OR 值分别为 4.38 和 5.05,经一致性检验, $P > 0.05$ ($\chi^2 = 0.012$),两因素间不存在交互作用。

4. 孕妇血清 HBV DNA 含量与 HBV 宫内感染关系的分级分析:将 187 例 HBsAg 阳性孕妇血清 HBV DNA 荧光定量检测结果按拷贝/ml 分为四个等级: $< 10^3$ 、 $10^3 \sim 10^6$ 、 $10^6 \sim 10^8$ 、 $> 10^8$,各级病毒载量与 HBV 宫内感染的关系分析显示,随着孕妇血清 HBV DNA 含量的增加,其发生宫内感染的危险

表1 HBV 宫内感染危险因素的单一因素分析

因素	病例组		对照组		OR 值(95% CI)	χ^2 值	P 值
	+	-	+	-			
孕妇既往肝炎史	5	24	22	136	1.29(0.45~3.73)		0.56
父亲肝炎史	1	27	4	150	1.39(0.15~12.91)		0.57
乙肝疫苗接种史	3	26	9	149	1.43(0.29~7.13)	0.72	0.65
流产史	9	20	54	104	0.87(0.37~2.03)	0.11	0.74
先兆早产	0	29	2	156	0.99(0.970~1.01)		1.00
妊周 \geq 40	15	14	78	80	1.10(0.50~2.43)	0.05	0.82
分娩方式	19	10	94	64	1.29(0.57~2.96)	0.37	0.54
注射 HBIG	21	8	109	49	1.36(0.54~3.41)	0.43	0.51
新生儿性别	13	16	76	82	0.88(0.40~1.94)	0.11	0.75
胎盘感染	16	13	52	106	2.51(1.12~5.60)	5.25	0.02 ^a
孕妇血清 HBeAg 阳性	20	9	52	106	4.53(1.93~10.64)	13.45	0.00 ^b
孕妇血清 HBV DNA 阳性	21	8	45	113	6.59(2.72~15.97)	20.71	0.00 ^b
孕妇 DR3	22	7	10	148	4.71(1.62~13.66)		0.00 ^b
婴儿 DR3	5	24	8	150	3.91(1.18~12.94)		0.03 ^a
母婴 DR3 同阳性	3	26	3	155	5.96(1.14~31.15)		0.05 ^a
孕妇 DR7	5	24	22	136	1.29(0.45~3.73)		0.58
婴儿 DR7	7	22	26	132	1.62(0.63~4.17)	1.00	0.32
母婴 DR7 同阳性	3	26	7	151	22.49(0.61~10.25)		0.19
孕妇 DR13	0	29	3	155	0.98(0.96~1.00)		1.00
婴儿 DR13	0	29	15	143	0.91(0.86~0.95)		0.13
母婴 DR13 同阳性	0	29	14	144	0.91(0.87~0.96)		0.13
孕妇 DR53	16	13	96	62	0.80(0.36~1.77)	0.32	0.57
婴儿 DR53	18	11	97	61	1.03(0.45~2.33)	0.01	0.95
母婴 DR53 同阳性	14	15	69	89	1.20(0.55~2.66)	0.12	0.65

注：^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

性呈现增高趋势(总 $\chi^2 = 17.21, P < 0.05$, 趋势 $\chi^2 = 16.74, P < 0.05$), 结果见表 3。

表2 HBV 宫内感染危险因素的多因素分析

因素	β	s_e	Wald χ^2 值	P 值	OR 值(95% CI)
孕妇 DR3	1.54	0.60	6.58	0.01	4.65(1.44~15.05)
孕妇血清 HBV DNA	1.88	0.46	16.53	0.00	6.56(2.65~16.23)
常数项	-2.85	0.39	53.28	0.00	0.06

表3 孕妇血清 HBV DNA 含量与 HBV 宫内感染关系的分级分析

因素	孕妇血清 HBV DNA 含量(拷贝/ml)				合计
	$< 10^3$	$10^3 \sim 10^6$	$10^6 \sim 10^8$	$> 10^8$	
宫内感染	6	6	12	5	29
非宫内感染	92	28	29	9	158
合计	98	34	41	14	187
OR 值 (95% CI)		3.44(1.03~11.55)	6.41(2.21~18.61)	8.61(2.19~33.89)	
总 $\chi^2 = 17.21, P < 0.05$; 趋势 $\chi^2 = 16.74, P < 0.05$					

讨论

HBV 宫内感染是控制乙肝流行的关键环节, 明确 HBV 宫内感染的危险因素才能有效防制 HBV

宫内感染。目前, 关于 HBV 宫内感染危险因素的研究, 母亲孕期外周血 HBsAg 滴度、HBeAg 阳性和 HBV DNA 含量水平已被多项研究证实; 孕妇 PBMC HBV 感染、先兆早产史、胎儿宫内窘迫等是否为 HBV 宫内感染的危险因素尚有争议。

1. 孕妇血清中 HBV 的感染状态: 依据 HBV 的病原学特点, HBsAg 阳性表示正在感染 HBV 或发病或为病毒携带; HBeAg 阳性和 HBV DNA 表示血中存在大量病毒, 传染性较强。HBeAg 是衡量病毒在体内复制和宿主传染性的间接指标, 而血清 HBV DNA 是反映病毒在体内复制的最直接最可靠的指标。目前, 许多研究均已证实孕妇 HBeAg、HBV DNA 阳性是 HBV 宫内感染的高危因素^[6-10]。本次 HBV 宫内感染单一因素分析表明, 孕妇血清 HBV DNA 阳性和 HBeAg 阳性是 HBV 宫内感染的危险因素, 但多因素分析只将孕妇血清 HBV DNA 阳性引入回归方程, 可能是由于孕妇体内存在有复制能力的突变株, 发生 PreC 的 1896 位点突变, 形成的终止密码子, 导致 HBeAg 不能合成与分泌有关^[11]。

2. HLA-DR 抗原: 目前, 学者们对 HBV 宫内感染的遗传易感性进行了一些研究, 但未能取得一致

意见,而且易感基因的选取也极为不一致。而综合 HBV 宫内感染的遗传易感性和 HBV 本身因素进行 HBV 宫内感染危险因素的多因素分析,国内外尚未见报道。王素萍等^[12]研究提示,HLA-DR3、DR51 可能是 HBV 宫内感染的易感型,而 DR53 有可能是具有保护作用的型别;而刘海英等^[13]的研究显示,孕妇及新生儿 HLA-DR3 阳性是 HBV 宫内感染的易感基因。

本研究率先将 HLA-DR 抗原与 HBV 宫内感染的其他外在因素一起纳入 logistic 回归模型,得出孕妇 HLA-DR3 阳性是 HBV 宫内感染的危险因素,推测人类遗传因素在一定程度上增加了 HBV 宫内感染的发生。可见,在 HBV 宫内感染的发生中人类遗传因素也在发挥着重要作用;提示,在防治 HBV 宫内感染时应进一步加强对有遗传易感性倾向者的防治。

参 考 文 献

- [1] 叶庆华. 乙肝病毒宫内感染的研究. 国外医学妇产科学分册, 2002, 29(1): 18-20.
- [2] Yao JL. Perinatal transmission of hepatitis B virus infection and vaccination China. Gut, 1996, 38 Suppl: S37.
- [3] 向海平, 郭雁宾, 孟庆华, 等. 聚合酶链反应定量检测乙型肝炎病毒 DNA 及其临床意义分析. 中华实验和临床病毒学杂志, 1999, 13(1): 89-90.
- [4] Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantations. Tissue Antigens, 1992, 39: 225-229.
- [5] 赵仲堂. 流行病学研究方法与应用. 北京: 科学技术出版社, 2000: 8, 525-526.
- [6] Shao ZJ, Xu DZ, Xu JQ, et al. Maternal hepatitis B virus (HBV) DNA positivity and sexual intercourse are associated with HBV intrauterine transmission in China: a prospective case-control study. J Gastroenterol & Hepatol, 2007, 22(2): 165-170.
- [7] Pande Chandana MBBS, Patra Sharda MBBS MS, Mishra Namita MBBS, et al. Maternal HBV DNA levels correlate with frequency of vertical transmission of hepatitis B in Newborns: 437. American J Gastroenterol, 2006, 101 Suppl 2: S191.
- [8] 刘一萍, 门可, 徐德忠, 等. 乙型肝炎病毒宫内感染的随访研究. 第四军医大学学报, 2004, 25(8): 734-736.
- [9] Li JH, Shao ZJ, Wang ZG, et al. Risk factors affecting the mother-to-infant transmission of hepatitis B virus: a meta analysis. J Med Colleges of PLA, 2006, 21(4): 268-273.
- [10] 宋秀霞, 李铁钢, 原琛利, 等. HBsAg 阳性孕妇血清乙肝病毒含量与 HBV 宫内感染关系的研究. 疾病控制杂志, 2006, 10(2): 142-145.
- [11] Carman WF, Hadziyannis S, Mcgarvey JJ, et al. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. Lancet, 1989, 2: 588-591.
- [12] 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(7): 772-774.
- [13] 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 DR 区域基因相关性的研究. 中华妇产科杂志, 2003, 38(10): 599-603.

(收稿日期: 2007-03-28)

(本文编辑: 尹廉)

· 消息 ·

《中华临床感染病杂志》创刊

经国家新闻出版总署批准,《感染病杂志》正式更名为《中华临床感染病杂志》(CN 11-5673/R),于 2008 年创刊。《中华临床感染病杂志》由中国科学技术协会主管,中华医学会主办,属中华医学会系列杂志。主要以从事感染病专业临床、预防、科研和教学工作的中高级人员为对象,刊登内容以感染病的临床诊治为重点。杂志将紧扣临床医疗与科研工作主旋律,为感染病医务工作者提供新的交流平台,力求为我国感染病学科的发展、国内外优秀科研成果的交流和推广做出贡献。

《中华临床感染病杂志》为双月刊,逢双月 28 日出版,欢迎感染性疾病领域的广大医务工作者踊跃投稿和订阅。来稿和订阅请联系:《中华临床感染病杂志》编辑部,地址:浙江省杭州市庆春路 79 号浙医一院内,邮政编码:310003,电话:0571-87236590,传真:0571-87236591,Email:zhgrb@126.com

中华临床感染病杂志编辑部