

HBV 父婴垂直传播水平与 HBV-DNA 载量的相关研究

张荣莲 罗颖 谢婧娴 陈起燕 成玲 郭胜斌 黄欣欣

【摘要】 目的 探讨 HBsAg 阳性父亲血 HBV-DNA 的不同载量水平对其新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的影响。方法 对 161 例 HBsAg 阳性的父亲及其新生儿(母亲血清 HBVM 全阴性或仅 HBsAb 阳性及 HBV-DNA 均为阴性)HBV 感染状况进行调查分析。采用 ELISA 检测 HBVM, FQ-PCR 法检测血清 HBV DNA 载量水平。结果 (1)父亲血 HBV-DNA 载量水平与新生儿脐带血 HBV DNA 阳性存在剂量反应关系趋势($\chi^2=64.117, P=0.000$)。父亲血 HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 组新生儿的 HBV 父婴垂直传播水平显著高于 $< 1.0 \times 10^7$ copies/ml 组($\chi^2=71.539, P=0.000$); (2) HBeAg 阳性组与 HBeAg 阴性组父亲其新生儿的 HBV-DNA 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=6.892, P=0.009$)。结论 父亲血清 HBV-DNA 载量水平与是否发生 HBV 父婴垂直传播密切相关, 随血清 HBV-DNA 载量增加而上升, 并存在影响传播的浓度界面; 父亲血清 HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 及 HBeAg 阳性是 HBV 父婴垂直传播的危险因素。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸; 传播, 父婴垂直

A correlation analysis between the rate of vertical transmission of HBV and HBsAg-positive father to infant and the rate of neonatal cord blood HBV-DNA ZHANG Rong-lian¹, LUO Ying², XIE Jing-xian³, CHEN Qi-yan¹, CHENG Ling¹, GUO Sheng-bin¹, HUANG Xin-xin¹. 1 Fujian Provincial Maternal and Child Health Hospital, Fuzhou 350001, China; 2 Fujian Provincial Health Department Training Center; 3 Department of Obstetrics and Gynecology, Fujian Medical University
Corresponding author: ZHANG Rong-lian, Email: wpxzrl@163.com

【Abstract】 Objective To study the influence of HBV-DNA with different load levels of HBsAg-positive among fathers on the rate of neonatal cord blood HBV-DNA. Methods Using HBsAg and HBV-DNA as screening indicators for pregnant women and their husbands from an obstetric clinic. 161 pregnant women whose HBsAg and HBV-DNA were negative, but HBsAg was positive among their husbands and their newborns, were selected. Blood samples from those pregnant women, their husbands and their newborns were collected to detect the related indicators. Using ELISA to detect hepatitis B virus markers (HBVM), and FQ-PCR to detect the levels of HBV-DNA load. According to neonatal cord blood HBV-DNA detection guideline, newborns with cord blood HBV-DNA positive were selected as cases, others as controls. Results (1) Result of the study showed that there was a dose-response relationship between paternal serum HBV-DNA load levels and neonatal cord blood HBV-DNA positive rates in newborns (trend $\chi^2=64.117, P=0.000$). The rate of vertical transmission of HBV from HBsAg-positive father to infant in the paternal serum HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml group was significantly higher than HBV-DNA $< 1.0 \times 10^7$ copies/ml group ($\chi^2=71.539, P=0.000$). (2) There was a positive rank correlation between semen positive HBeAg and vertical transmission of HBV from HBsAg-positive father to infant ($\chi^2=6.892, P=0.009$). Conclusion There was a dose-response relationship between paternal serum HBV-DNA load levels and neonatal cord blood HBV-DNA positive in newborns. Paternal serum HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml and with HBeAg positive status were risk factors of vertical transmission of HBV from HBsAg-positive father to infant.

【Key words】 Hepatitis B virus; Hepatitis B virus-DNA; Vertical transmission

HBV 垂直传播是指生殖细胞受病毒感染, 在受

精时由精子或卵细胞作为载体, 将病毒基因带到胚胎进而使子代患病的一种传播方式。按性别划分, 垂直传播分为母婴传播和父婴传播。携带状态的概率与受染的年龄相关, 成年人感染后发展成为慢性携带者的比例为 5% 左右, 而 < 1 岁的婴儿则有

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.02.010

作者单位: 350001 福州, 福建省妇幼保健院(张荣莲、陈起燕、成玲、郭胜斌、黄欣欣); 福建省卫生厅培训中心(罗颖); 福建医科大学妇产科(谢婧娴)

通信作者: 张荣莲, Email: wpxzrl@163.com

70%~90%成为人群中新一轮的HBV储存库和传染源^[1]。垂直传播成为人群中慢性HBV感染和HBV储存库的主要途径之一^[2-5]。以往有关HBV父婴垂直传播水平的研究较少,有关报道结果差异较大。为从分子生物学角度探讨HBV的传播形式,本研究对161例HBsAg阳性父亲HBV-DNA载量与其新生儿HBV-DNA载量进行分析,结果报道如下。

对象与方法

1. 对象:2007年9月至2008年12月对产前检查询问病史中了解孕妇HBsAg阴性、丈夫HBsAg阳性,并决定住福建省妇幼保健院分娩的孕妇,在知情同意下采集夫妇双方肘静脉血行HBV标志物(HBVM)及HBV-DNA检测,经检测孕妇为HBVM全阴性或仅HBsAb阳性及HBV-DNA阴性、丈夫血HBsAg阳性的家庭作为研究目标人群。

2. 方法:研究期间共有住院分娩产妇16145名。根据初诊孕妇常规做“乙型肝炎(乙肝)两对半”检测(乙肝标志物五项),发现孕妇“乙肝两对半”全阴性或仅HBsAb阳性者,逐个询问其丈夫是否查过“乙肝两对半”,如了解到配偶已于婚检或体检、献血时检查,为“大三阳”(HBsAg、HBeAg、HBcAb均阳性),或“小三阳”(HBsAg、HBeAb、HBcAb均阳性)或二项(HBsAg、HBcAb阳性),经夫妇双方同意参加本项研究,则建议其配偶采血复查“乙肝两对半”,并检测HBV-DNA。经检查丈夫血HBsAg阳性的家庭作为研究家庭,之后逐个调查收集资料。

目标家庭孕妇于分娩时再次采集肘静脉血检测HBVM和HBV-DNA,以确定孕妇有无HBV感染,最大限度排除母婴传播的可能,收集入选研究家庭新生儿出生时脐带血检测HBV-DNA。本研究共收集HBsAg阳性父亲161例及新生儿161例。

HBVM检测采用ELISA,试剂盒由中山生物工程有限公司提供,具体操作及结果判断均由检验科专业人员严格按试剂盒说明书进行。血清HBV-DNA检测采用FQ-PCR法,试剂盒由深圳匹基生物工程股份有限公司提供,具体操作及结果判断均由PCR室专业人员严格按试剂盒说明书进行。

3. 分组标准:采用FQ-PCR检测新生儿脐带血,HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^3$ copies/ml为病例组,脐带血HBV-DNA $< 1.0 \times 10^3$ copies/ml为对照组。

4. 统计学分析:采用SPSS 16.0医学统计软件。计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验和Fisher's精确概率法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 人口学特征:161例父亲中年龄最大32.4岁,最小26.1岁,平均年龄(29.27 \pm 3.17)岁;文化程度分布:小学及小学以下9例、初中14例、中专或高中41例、大专及以上97例;职业分布:农民4例、个体19例、外出务工人员24例、工人53例、干部61例;居住地:城区98例、郊区49例、农村14例。

2. 新生儿情况:161例新生儿中男婴103例,女婴58例,均为足月妊娠分娩,新生儿平均体重(3.33 \pm 0.40)kg,无畸形及死胎。36例脐带血HBV-DNA检测呈阳性的新生儿划分为病例组,余125例新生儿为对照组。病例组与对照组新生儿分娩方式、孕周、体重、身长、性别、1分钟Apgar评分、新生儿病理性黄疸及合并其他内外科疾病(如贫血、腹泻、呕吐、低血糖、颅内出血)等情况进行比较,均无显著性差别(P 值均 > 0.05),结果表明HBV父婴垂直传播的发生与胎儿的妊娠结局无相关性(表1)。

表1 病例组与对照组新生儿情况

项目	对照组 (n=125)	病例组 (n=36)	统计量	P值
分娩方式				
顺产	79	26	$\chi^2=1.003$	0.317
剖腹产	46	10		
孕周*	39.11 \pm 1.23	38.97 \pm 1.48	$t=0.574$	0.567
出生体重(kg)*	3.34 \pm 0.37	3.33 \pm 0.37	$t=0.130$	0.897
出生身长(cm)*	49.62 \pm 1.55	49.81 \pm 1.51	$t=-0.660$	0.512
性别(男/女)	78/47	25/11	$\chi^2=0.602$	0.438
1分钟Apgar评分*	9.81 \pm 0.47	9.78 \pm 0.49	$t=0.338$	0.736
新生儿病理性黄疸	14	7	$\chi^2=1.027$	0.311
合并其他内外科疾病	4	1	$\chi^2=0.017$	0.898

注:* $\bar{x} \pm s$

3. 父亲血清HBeAg与新生儿脐带血HBV-DNA阳性率的相关性分析:以父亲HBeAg是否阳性分为两组,探讨血清HBeAg与新生儿脐带血HBV-DNA阳性率的关系。结果显示:HBeAg阳性组与HBeAg阴性组父亲之间其新生儿的HBV-DNA阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$),表明HBeAg阳性父亲组的新生儿HBV-DNA阳性率比HBeAg阴性父亲组高(表2)。

4. 父亲血清HBV-DNA载量与新生儿脐带血HBV-DNA阳性率的相关性分析:将父亲血清HBV-DNA载量由低到高分7个组进行研究,结果显示:随着父亲血清HBV-DNA载量的升高,新生儿脐带血HBV-DNA阳性率也逐渐升高,即随着父亲血清HBV-DNA载量越高,HBV父婴垂直传播率越高,两者呈剂量反应关系(趋势 $\chi^2=64.117, P=0.000$)。见表3。

表 2 父亲血清 HBeAg 与新生儿 HBV-DNA 阳性率的相关关系

父亲血清 HBeAg	新生儿脐带血 HBV-DNA		
	阴性	阳性	阳性率 (%)
阴性 (n=89)	76	13	14.6
阳性 (n=72)	49	23	31.9
合计 (n=161)	125	36	22.4

表 3 父亲血 HBV-DNA 载量与 HBV 父婴垂直传播水平的关系

HBV-DNA 含量 (copies/ml)	对照组	病例组	新生儿脐带血 HBV-DNA 阳性率 (%)
<10 ⁷	40	0	0
10 ⁷ ~	16	0	0
10 ⁸ ~	18	0	0
10 ⁹ ~	25	4	13.79
10 ¹⁰ ~	19	7	26.92
10 ¹¹ ~	7	14	66.67
≥10 ¹²	0	11	100.00

为了进一步分析父亲血清中 HBV-DNA 的何种载量水平是新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的危险因素,本研究根据父亲血清 HBV-DNA 载量水平分层分析的研究结果进一步进行检验。由于本研究部分组样本例数少,按行×列表 χ^2 检验的原则,把新生儿脐带血 HBV-DNA 阳性率相近的组进行叠加,则父亲血清 HBV-DNA 水平分为 $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 和 $< 1.0 \times 10^7$ copies/ml 两个组进行 χ^2 检验 ($P < 0.01$),见表 4。

表 4 父亲血清 HBV-DNA 不同水平的 HBV 父婴垂直传播水平比较

HBV-DNA 含量 (copies/ml)	对照组	病例组	新生儿脐带血 HBV-DNA 阳性率 (%)
<10 ⁷	118	11	8.5
≥10 ⁷	7	25	78.1

注: $\chi^2=71.539, P=0.000$

讨 论

1. 新生儿的妊娠结局:由于 HBsAg 阳性男性其 HBV-DNA 在精子染色体上的整合是随机、非特异性的,这种随机、非特异性的整合可能导致遗传物质不稳定性。目前关于 HBsAg 阳性男性其胎儿的妊娠结局研究鲜见。所以本研究对病例组及对照组新生儿的出生资料进行收集,对这些资料进行统计发现病例组及对照组的新生儿在早产发生率、出生体重、身长、1 分钟 Apgar 评分、新生儿病理性黄疸、合并其他内外科疾病等情况均无显著性差别,且两组均无胎儿畸形、死胎发生。本研究提示 HBsAg 阳性

父亲其新生儿是否发生 HBV 父婴垂直传播对胎儿的生长发育及出生结局无明显影响(表 1)。与其他研究发现 HBV 感染者精子染色体畸变率比健康对照者显著性增高,增加不育、流产、死胎、围生儿病死率及胎儿畸形的风险不同^[6-8]。

2. HBV 父婴垂直传播水平:以往相关研究结果提示^[9-13],HBsAg 阳性父亲其新生儿群体中有着较高的 HBV 感染率,是 HBV 感染的高危人群,但是关于其传播率各研究报道相差悬殊,没有得出较一致结论^[14-17]。其原因一方面可能是因为以往研究所采用的诊断标准不统一,另一方面可能是所选研究对象的差异。本研究结果显示 HBV 父婴垂直传播率为 22.4%(36/161),其中父亲 HBeAg 阳性组为 32.0%(23/72),父亲 HBeAg 阴性组为 14.6%(13/89)。

3. 父亲血清 HBV-DNA 载量水平与 HBV 父婴垂直传播水平的相关性分析:本研究 161 份父亲血清 HBV-DNA 检测有 122 份呈阳性,其 HBV-DNA 阳性率为 75.8%,HBV-DNA 载量在 $2.39 \times 10^3 \sim 6.32 \times 10^8$ copies/ml 之间,平均载量为 3.85×10^7 copies/ml。为了更加准确地分析父亲血清 HBV-DNA 不同载量水平对新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的影响,将父亲血清 HBV-DNA 载量水平由低到高分 7 个组作为观察指标进行单因素研究,结果发现随着父亲血清 HBV-DNA 载量水平升高,新生儿脐带血 HBV-DNA 阳性率也逐渐升高(表 3)。即父亲血清 HBV-DNA 不同载量水平对新生儿发生 HBV 父婴垂直传播相关,随着父亲血清 HBV-DNA 载量水平的升高,其新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的危险性也增高,与高颖和李峰^[18]报道的结果相同。

为了进一步分析父亲血清中 HBV-DNA 的何种载量水平是新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的危险因素,本研究根据父亲血清 HBV-DNA 载量水平分层分析结果进一步进行检验。结果显示父亲血清 HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 时,新生儿脐带血 HBV-DNA 阳性率显著增加,父亲血清 HBV-DNA 值在 $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 组与 $< 1.0 \times 10^7$ copies/ml 组之间时 HBV 父婴垂直传播率相差 70.0% ($P < 0.01$),提示父亲血清 HBV-DNA 载量水平存在影响 HBV 父婴垂直传播的浓度界面,即当父亲血清 HBV-DNA 值降至 1.0×10^7 copies/ml 以下时,可减少 70.0% 的 HBV 父婴垂直传播的危险。因此本研究认为 HBV-DNA $\geq 1.0 \times 10^7$ copies/ml 是新生儿发生 HBV 父婴垂直传播的高危因素。

本研究结果提示,阻断 HBV 父婴垂直传播的关

键是对 HBV-DNA 高载量水平的 HBV 男性携带者, 在孕前积极进行系统有效的抗病毒治疗, 父亲血清 HBV-DNA 载量水平 $< 1.0 \times 10^7$ copies/ml 时再怀孕, 可显著降低 HBV 父婴垂直传播水平。但由于本研究样本量较少, 关于父亲血液中 HBV-DNA 载量水平要下降到哪个载量水平才能降低新生儿发生 HBV 父婴垂直传播, 尚有待于进一步研究证实。

参 考 文 献

[1] Zhao LS. To eliminated hepatitis B virus vertical transmission: the resolved and unresolved. *World Chin J Digestol*, 2007, 15 (15):1677-1681. (in Chinese)
赵连三. HBV 感染垂直传播阻断研究的现状与问题. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(15):1677-1681.

[2] Salkic NN, Zludic M, Muminhodzic K, et al. Intrafamilial transmission of hepatitis B in Tuzla region of Bosnia and Herzegovina. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 19(2):113-118.

[3] Hitoshi T, Tanaka Y, Kagimoto S, et al. Molecular evidence of father-to-child transmission of hepatitis B virus. *J Med Virol*, 2007, 79(7):922-926.

[4] Chen TY, Liu M, Chen YR, et al. Advances in research on intrauterine HBV infection. *World Chin J Digestol*, 2007, 15 (19):2138-2143. (in Chinese)
陈天艳, 刘敏, 陈云茹, 等. HBV 宫内传播的研究进展. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(19):2138-2143.

[5] Mohammad Reza Hasanjani Roushan, Minoo Mohraz, Ali Akbar Velayati. Possible transmission of hepatitis B virus between spouses and their children in Babol, Northern Iran. *Tropical Doctor*, 2007, 37(4):245-247.

[6] Livezey KW, Negorev D, Simon D. Increased chromosomal alterations and micronuclei formation in human hepatoma HepG2 cells transfected with the hepatitis B virus HBX gene. *Mutat Res*, 2002, 505:63-74.

[7] Huang JM, Huang TH, Qiu HY, et al. Effects of hepatitis B virus infection on human sperm chromosomes. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(4):736-740.

[8] Vicari E, Arcoria D, Di Mauro C, et al. Sperm output in patients with primary infertility and hepatitis B or C virus; negative influence of HBV infection during concomitant varicocele. *Minerva Med*, 2006, 97(1):65-77.

[9] Ali BA, Huang TH, Xie QD, et al. Detection and expression of hepatitis B virus X gene in one and two-cell embryos from golden hamster oocytes in vitro fertilized with human spermatozoa carrying HBV-DNA. *Mol Repord Dev*, 2005, 70

(1):30-36.

[10] Zhang LY, Fang Z, Zheng Z, et al. Preliminary study on the route of transmission of HB virus between fathers and babies. *Chin J Infect Dis*, 1994, 12(4):199-201. (in Chinese)
张丽云, 方之, 郑兆, 等. 乙型肝炎病毒父婴传播途径的初步研究. *中华传染病学杂志*, 1994, 12(4):199-201.

[11] Wang SS, Jiang PL, Peng GF, et al. Transmission of HB virus between fathers and sons and the allocation outside liver. *Chin J Hepatol*, 1999, 7(4):203-206. (in Chinese)
王珊珊, 姜普林, 彭桂福, 等. 乙型肝炎病毒的父儿传播与肝外定位. *中华肝脏病杂志*, 1999, 7(4):203-206.

[12] Komatsu H, Inui A, Sogo T, et al. Source of transmission in children with chronic hepatitis B infection after the implementation of a strategy for prevention in those at high risk. *Hepatol Res*, 2009:1-8.

[13] Takegoshi K, Zhang W. Hepatitis B virus infections in families in which the mothers are negative but the fathers are positive for HBsAg. *Hepatol Res*, 2006, 36(2):75-77.

[14] Wang SS, Peng GF, Li MM, et al. Identification of hepatitis B virus vertical transmission from father to fetus by direct sequencing. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2003, 34 (1):106-113.

[15] Wang SS, Li WL, Peng GF, et al. Preliminary study on the route of transmission of HB virus between fathers and babies. *Chin J Public Health*, 2003, 19(3):282-284. (in Chinese)
王珊珊, 李文玲, 彭桂福, 等. 乙型肝炎病毒父婴传播途径的初步研究. *中国公共卫生*, 2003, 19(3):282-284.

[16] Zhou QY. Clinical observation of the vertical transmission of HB virus between fathers and babies. *Zhejiang Clin Med J*, 2007, 9 (1):101-102. (in Chinese)
周群扬. 乙型肝炎病毒父婴垂直传播的临床观察. *浙江临床医学*, 2007, 9(1):101-102.

[17] Lian Y, Lu XM, Cui Y. Clinical observation and prophylactic immunization of the vertical transmission of HB virus between fathers and babies. *Maternal and Child Health Care of China*, 2007, 22(29):4122-4123. (in Chinese)
练云, 陆晓梅, 崔琰. 乙型肝炎病毒父婴垂直传播及预防免疫的临床研究. *中国妇幼保健*, 2007, 22(29):4122-4123.

[18] Gao Y, Li F. Molecular biology study on the transmission of HB virus between fathers and babies. *Guide of China Medicine*, 2008, 6(1):1-2. (in Chinese)
高颖, 李峰. HBV 父婴传播的分子生物学研究. *中国医药指南*, 2008, 6(1):1-2.

(收稿日期: 2009-06-16)

(本文编辑: 张林东)