

• 论 著 •

不同 HBV 感染模式产妇乳汁中 HBV-DNA 载量及肝功能分析*

董 剑, 张阳根[△], 陶 敏

(中国人民解放军第 175 医院检验科, 福建漳州 363000)

摘要:目的 研究乙型肝炎阳性产妇感染模式, 以及血清中乙型肝炎病毒(HBV)-DNA 载量与乳汁中 HBV-DNA 载量的关系, 乳汁中 HBV-DNA 载量与产妇肝功能的关系, 评价母乳喂养的安全性。方法 对 267 例 HBV 携带产妇, 用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg), 用荧光定量 PCR 技术检测血清中和乳汁中 HBV-DNA 载量, 采用速率法检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)。结果 109 例 HBsAg 和 HBeAg 双阳性的产妇, 其乳汁 HBV-DNA 阳性率为 76.1%, 158 例 HBsAg 阳性而 HBeAg 阴性产妇乳汁 HBV-DNA 阳性率为 3.2%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察产妇其血清中携带不同载量的 HBV-DNA, 分别为 HBV-DNA < 500 、 $500 \sim 1.0 \times 10^5$ 、 $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL 3 组, 其两两比较乳汁中 HBV-DNA 载量差异有统计学意义($P < 0.05$), 且血清中 HBV-DNA 载量与乳汁中 HBV-DNA 载量呈正相关关系; 乳汁中 HBV-DNA 阳性与乳汁中 HBV-DNA 阴性产妇血清 ALT 进行比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HBsAg 和 HBeAg 双阳性和血清中 HBV-DNA $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL 的产妇不宜母乳喂养, 同时乳汁中 HBV-DNA 载量较高的产妇应同时密切监测肝功能, 以防发生肝损伤。

关键词:乙型肝炎; 乳汁; 乙型肝炎表面抗原; 乙型肝炎 e 抗原; 丙氨酸氨基转移酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)19-2669-03

Analysis of HBV-DNA load and liver function in maternal with different HBV infection patterns*

DONG Jian, ZHANG Yanggen[△], TAO Min

(Department of Clinical Laboratory, No. 175 Hospital of People's Liberation Army, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: Objective To study the relationship between the infection patterns of hepatitis B positive maternal and the hepatitis B virus (HBV)-DNA load in serum and the HBV-DNA load in breast milk, the relationship between HBV-DNA load in the breast milk and maternal liver function, and evaluate the safety of breast feeding. Methods HBsAg and HBeAg were detected by ELISA in 267 cases of hepatitis B positive maternal, HBV-DNA load in serum and breast milk was detected by fluorescent quantitative PCR, and alanine aminotransferase (ALT) was detected by rate method. Results The positive rate of breast milk HBV-DNA in 109 cases of HBsAg and HBeAg double positive was 76.1%, the positive rate of breast milk HBV-DNA in 158 cases of HBsAg positive and HBeAg negative women was 3.2%, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 3 groups of women were observed to carry different loads of HBV-DNA in their serum, HBV-DNA < 500 , $500 \sim 1.0 \times 10^5$, $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL, respectively; the difference of HBV-DNA load in breast milk was statistically significant ($P < 0.05$), and there was a positive correlation between HBV-DNA load in serum and HBV-DNA load in breast milk; there were significant differences in serum ALT between HBV-DNA positive breast milk maternal and HBV-DNA negative maternal ($P < 0.05$). Conclusion HBsAg and HBeAg double positive maternal and the maternal whose HBV-DNA load $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL in serum are not appropriated to breast-feeding. Women with high HBV-DNA load in breast milk should monitor liver function at the same time, so as to prevent liver injury.

Key words: hepatitis B; breast milk; HBsAg; HBeAg; alanine aminotransferase

我国是乙型肝炎高发地区, 人群乙型肝炎病毒(HBV)携带率为 10%~20%, 超过 1.2 亿^[1]。张萍等^[2]对 32 187 例产妇进行 4 种传染病(乙型肝炎、艾滋病、梅毒、丙型肝炎)情况的调查, 结果显示, 32 187 例产妇中 HBV 感染阳性率最高。乙型肝炎的传播途径主要为血液传播和母婴传播, 因此 HBV 携带产妇母乳喂养是否会引起婴儿 HBV 感染已越来越受到关注。目前, HBV 携带产妇能否进行母乳喂养仍然存在争议。为了解乙型肝炎携带产妇乳汁中的 HBV-DNA 载量情况以及产妇的肝脏受损情况, 以期提供合适的婴儿喂养方式, 本文对福建省漳州市 2013—2015 年就诊于本院的 267 例 HBV 携带产妇进行了分析研究。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日本院分娩的 HBV 携带产妇 267 例为研究对象, 年龄 20~39

岁, 平均年龄 27 岁, 无其他并发症。

1.2 标本采集

1.2.1 外周血 所有产妇均在分娩前空腹状态下抽取静脉血 3~5 mL, 置于真空采血管中, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 4~8 °C 放置 12 h 待测。

1.2.2 乳汁 产妇分娩后 1~5 d 内乳房局部消毒, 用一次性无菌容器采集乳汁 3~5 mL, 静置后 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上层脂肪层, 取中间层乳汁 4~8 °C 放置 12 h 待测。

1.3 研究方法

1.3.1 乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)检测 收集产妇血清标本检测 HBsAg 和 HBeAg, 检测方法采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法, 试剂来自珠海丽珠生物有限公司, 酶标仪采用 BIO-RAD680。

1.3.2 HBV-DNA 检测 采用美国 ABI7500 基因扩增仪和中

* 基金项目:南京军区面上 A 类项目(12MA068)。

作者简介:董剑,女,主管技师,主要从事临床分子诊断学研究。

[△]通信作者, E-mail: ZhangYang@163.com。

山达安公司生产的乙型肝炎荧光定量 PCR 试剂盒,分别检测血清和乳汁,所有步骤严格按照试剂说明书操作,HBV-DNA 阳性结果为 ≥ 500 copies/mL, HBV-DNA 阴性结果为 < 500 copies/mL。

1.3.3 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 检测 采用速率法检测 ALT,使用西门子 A2400 全自动生化分析仪和上海复兴长征的 ALT 定量检测试剂盒。

1.4 统计学处理 应用 SPSS15.0 软件对数据进行处理,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验进行比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 产妇血清免疫学指标与乳汁 HBV-DNA 载量关系 109 例 HBsAg 和 HBeAg 双阳性的产妇,其乳汁 HBV-DNA 阳性率为 76.1%, 158 例 HBsAg 阳性而 HBeAg 阴性产妇乳汁 HBV-DNA 阳性率为 3.2%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组产妇血清中免疫学指标与乳汁中 HBV-DNA 载量关系

组别	n	乳汁 HBV-DNA 阳性例数(n)	乳汁 HBV-DNA 阳性率(%)
A 组(HBsAg、HBeAg 双阳性)	109	83	76.1
B 组(HBsAg 阳性、HBeAg 阴性)	158	5	3.2
χ^2			155.49
P			<0.005

2.2 产妇血清中 HBV-DNA 载量和乳汁中 HBV-DNA 载量的关系 根据产妇血清中 HBV-DNA 载量的不同分为 3 组;1 组:HBV-DNA < 500 copies/mL;2 组:HBV-DNA $500 \sim 1.0 \times 10^5$ copies/mL;3 组:HBV-DNA $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL。分析表明 3 组间乳汁中 HBV-DNA 载量差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 产妇血清和乳汁中 HBV-DNA 载量的关系[n(%)]

组别	n	乳汁 HBV-DNA 阳性例数(%)	乳汁 HBV-DNA 阴性例数(%)
1 组	98	0(0.0)	98(100.0)
2 组	101	8(7.9)	93(92.1)
3 组	68	19(27.9)	49(72.1)

注:3 组之间比较, $\chi^2 = 35.32, P < 0.05$; 1 组与 2 组比较, $\chi^2 = 8.09, P < 0.05$; 2 组与 3 组比较, $\chi^2 = 12.13, P < 0.05$; 1 组与 3 组比较, $\chi^2 = 30.92, P < 0.05$ 。

表 3 乳汁中不同 HBV-DNA 载量和血清 ALT 的关系

组别	n	ALT 阳性 (n)	ALT 阴性 (n)	ALT 阳性率 (%)
乳汁 HBV-DNA 阳性组	88	31	57	35.2
乳汁 HBV-DNA 阴性组	179	0	179	0.0
χ^2				71.34
P				<0.005

2.3 产妇乳汁中 HBV-DNA 载量和血清 ALT 的关系 将 267 例 HBV 携带产妇分为两组,乳汁中 HBV-DNA < 500 cop-

ies/mL 为阴性组;乳汁中 HBV-DNA ≥ 500 copies/mL 为阳性组。将 ALT > 50.0 U/L 设为阳性结果, ALT ≤ 50.0 U/L 设为阴性结果。实验结果显示,乳汁 HBV-DNA 阴性组血清中 ALT 也为阴性,乳汁中 HBV-DNA 阴性组与阳性组血清中 ALT 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨 论

新生儿感染乙型肝炎的方式主要为母婴传播。母婴传播主要包括垂直传播和水平传播,垂直传播即在怀孕期间宫内引起的传播,占母婴传播的 10%;水平传播主要是指在围生期和出生后密切的生活接触中引起的传播,占 90%。产妇病毒携带者传播给胎儿的途径有 3 种可能:(1)经胎盘传播;(2)分娩时由母血传播或胎儿吞咽被病毒污染的羊水而受感染;(3)产后与母亲生活上的密切接触,如通过唾液、乳汁、汗液、大小便等^[3]。新生儿接种乙型肝炎疫苗后,抗 HBsAg 阳性率于 1、3、6、12 个月分别为 22.5%、85.0%、90.0%、96.7%,抗体的出现需一定时间,所以不能认为一经接种乙型肝炎疫苗就能使新生儿产生免疫力^[4]。

HBeAg 是 HBV 核心基因的一部分,在 HBV 复制中由前 C 基因与 C 基因一起产生一个 P25 前体多肽链,再经转膜作用及自身消化剪去头尾两段,最终形成 HBeAg^[5]。HBeAg 是病毒复制活跃的一种指标,当它出现在血液中时,提示病毒正在复制,且有很强的传染性。HBsAg 和 HBeAg 阳性的患者被认为是具有很强传染性的标志,因 HBeAg 是隐藏于 HBV 核心的一种可溶性蛋白,当它出现于血液中时,提示 HBV 正在复制,具有很强的传染性^[6]。

HBV-DNA 是判断 HBV 有无复制的“金标准”。HBV 虽为嗜肝病毒,但也侵犯其他细胞,如在淋巴细胞、精细胞中也发现有 HBV-DNA 的整合^[7]。有研究报道,从慢性乙型肝炎患者外周血单个核细胞(PBMC)中检出 HBV-DNA,提示 HBV 不仅可感染 PBMC,且能在其中复制增殖^[8]。由于母乳中含有大量的淋巴细胞,因此,HBV 病毒可以通过乳汁传染给婴儿。婴儿所吃乳汁中是否含有 HBV 成为是否感染乙型肝炎的重要因素。

本文 267 例 HBV 携带产妇,血清 HBeAg 阳性产妇乳汁中 HBV-DNA 阳性率为 76.1%,远远高于 HBeAg 阴性者,其阳性率为 3.2%,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。产妇乳汁中 HBV-DNA 载量随血清中 HBV-DNA 载量升高而升高。乳汁中 HBV-DNA 载量越高的产妇,肝脏受损情况也越严重。HBV 感染可能是引起产妇自身免疫功能损害的机制之一,同时,自身抗体阳性和肝功能受损及病毒活跃复制相关^[9]。对于 HBV 携带产妇,有必要定期检测肝功能以及病毒复制情况。HBeAg 阳性且血清中 HBV-DNA 载量 $> 1.0 \times 10^5$ copies/mL 的产妇,乳汁中 HBV-DNA 的阳性率也较高,不建议进行母乳喂养。研究表明,HBV 感染孕妇不经干预,其所产 HBsAg 阴性新生儿,在 6 个月后,有 40.0%~60.0% 可发展为 HBsAg 阳性^[10]。HBeAg 阴性且血清中 HBV-DNA 载量 < 500 copies/mL 的产妇乳汁中携带 HBV 病毒的可能性较小;血清中 HBV-DNA 载量为 $500 \sim 1.0 \times 10^5$ copies/mL 的产妇, HBeAg 无论是阴性还是阳性,不能排除乳汁中携带 HBV 病毒的可能性,应结合 HBV 的感染模式和血清中 HBV-DNA 载量,积极检测乳汁中 HBV-DNA 载量,谨慎选择喂养方式。

参考文献

[1] 曾艳梅,张思泉,娄国强,等.替比夫定阻断乙型肝炎病毒宫内感染的临床研究[J].中国临床药理学与治疗学,2010,15(4):443-445. (下转第 2673 页)

软骨润滑作用及承重等能力大大减弱,反过来促进疾病进展^[13]。IL-1 β 主要来源于单核细胞、成纤维细胞、软骨细胞等,主要功能包括促进成纤维细胞因子、趋化因子、MMP 的释放增加。作为一个关键的促炎因子,IL-1 β 是炎症反应和骨关节炎的重要介质^[14]。IL-1 β 和 TNF- α 诱导软骨基质降解和炎症反应,与骨关节炎的发生、发展密切相关。另外,这些炎症因子还参与核因子 κ B(NF- κ B)通路的激活,进而引起炎症反应,增强 MMP-3 表达,抑制软骨基质成分的合成,促进软骨细胞终末分化,引起软骨基质稳态失衡^[15-16]。MMP-3 是细胞外基质降解的一种重要酶,骨关节液中含有高表达的 MMP-3,通过关节液中 MMP-3 的测定有助于监测骨关节炎的病情发展,指导临床治疗^[17]。本研究结果表明,逐痰通络汤能显著降低关节液中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-3 的水平,负向调控炎症反应,从而延缓骨关节炎的软骨退变。

总之,逐痰通络汤通过抑制 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-3 表达来抑制骨关节炎的软骨退变。本研究初步探讨了逐痰通络汤延缓骨关节炎软骨退变的可能机制,指出逐痰通络汤具有治疗骨关节炎和抑制炎症的作用。

参考文献

[1] Bannuru RR, Schmid CH, Kent DM, et al. Comparative effectiveness of pharmacologic interventions for knee osteoarthritis: a systematic review and network meta-analysis [J]. *Ann Intern Med*, 2015, 162(1): 46-54.

[2] Murphy L, Helmick CG. The impact of osteoarthritis in the United States: a population-health perspective [J]. *Am J Nurs*, 2012, 112(3 Suppl 1): S13-19.

[3] Roos EM, Arden NK. Strategies for the prevention of knee osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(1): 92-101.

[4] 陆洋, 尹良军. 骨关节炎的临床特征及其治疗进展 [J]. *医学信息*, 2015, 28(7): 335-336.

[5] 洪海平, 徐国权, 朱首豪, 等. “石氏中医药”综合疗法治疗膝骨关节炎的临床疗效分析 [J]. *云南中医学院学报*, 2015, 38(1): 75-77.

[6] Huang MH, Ding HJ, Yang CC, et al. The early evaluation of induced osteoarthritis in rats with Technetium-99m pertechnetate scans [J]. *Nucl Med Comm*, 1996, 17

(6): 529-535.

[7] Bentley G. Papain-induced degenerative arthritis of the hip in rabbits [J]. *J Bone Joint Surg*, 1971, 53(2): 324-337.

[8] Kitoh Y, Katsuramaki T, Tanaka H, et al. Effect of SL-1010 (sodium hyaluronate with high molecular weight) on experimental osteoarthritis induced by intra-articularly applied papain in rabbits [J]. *Fol Pharm Jpn*, 1992, 100(1): 67-76.

[9] 燕炼钢, 韩为, 程红亮. 中医治疗膝骨关节炎研究进展 [J]. *中医药研究进展*, 2009, 2(21): 174.

[10] Hoy DG, Smith E, Cross M, et al. The global burden of musculoskeletal conditions for 2010: an overview of methods [J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(6): 982-999.

[11] Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 1697-1707.

[12] Dougados M. Dougados Synovial fluid cell analysis [J]. *Baillieres Clin Rheumatol*, 1996, 10(3): 519-534.

[13] 魏丽杰, 王文雅. 炎症引起的软骨细胞外基质的变化对骨关节炎病理进展的作用 [J]. *河北联合大学学报(医学版)*, 2014, 11(2): 170-171.

[14] Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(1): 33-42.

[15] Wojdasiewicz P, Poniatowski A, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 561459.

[16] Lianxu C, Hongti J, Changlong Y. NF-kappa B p65-specific siRNA inhibits expression of genes of COX-2, NOS-2 and MMP-9 in rat IL-1beta-induced and TNF-alpha-induced chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(4): 367-376.

[17] 管兴发, 董金波, 王维山, 等. 骨关节炎患者血清及关节液中 TNF- α 与 MMP-3 水平及临床意义 [J]. *青岛医药卫生*, 2008, 40(1): 9-13.

(收稿日期: 2017-03-18 修回日期: 2017-05-07)

(上接第 2670 页)

[2] 张萍, 李宋萌, 程莉, 等. 32 187 例孕产妇 4 种传染病感染情况调查 [J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(1): 93-94.

[3] 周明君, 贺瑜. 产妇产乳汁及血清 HBV DNA 相关性分析与母乳喂养探讨 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 21(2): 82-83.

[4] 临床产科编委会. 肝脏疾病与妊娠 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1994: 329.

[5] 罗志舜, 郑逊. HBeAg 阳性产妇产乳喂养与乙型肝炎病毒母婴传播的相关性研究 [J]. *福建医药杂志*, 2010, 32(5): 45-47.

[6] 邓燕玲. 乙型肝炎前 S1 抗原与乙型肝炎五项阳性相关性的研究 [J]. *安徽医药*, 2013, 17(6): 1009-1010.

[7] Feinman SV, Berris B, Guha A, et al. DNA:DNA hybriza-

tion method for the diagnosis of HBV [J]. *J Virol Meth*, 1984, 8(3): 199-206.

[8] Qingliang S, Xiaxia Z, Yaoli D. Role of peripheral blood mononuclear cell transportation from mother to baby in HBV intrauterine infection [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2013, 288(6): 1257-1261.

[9] 唐公恩. HBV 感染孕妇肝特异性自身抗体的存在情况及其自身意义 [J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(30): 4905-4907.

[10] 尹玉竹, 周瑾, 张培珍, 等. 影响阻断乙型肝炎病毒母婴传播的危险因素分析 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2013, 21(2): 105-110.

(收稿日期: 2017-03-28 修回日期: 2017-05-17)