

乙型肝炎病毒胎盘垂直传播机制的研究进展

孙成福 兰孟东

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个世界性公共卫生问题。据统计,全球已有20多亿人经历了乙型肝炎病毒感染,有3.5亿为慢性HBV携带者。我国为乙型肝炎高发区,表面抗原(HBsAg)携带者高达1.2亿,其中50%以上为母婴垂直传播所致,新生儿感染HBV后,85%发展为慢性携带者,相当一部分患者在成人可进展为肝硬化及肝癌^[1]。但HBV从母亲到婴儿的高风险传播机制尚不清楚。现将乙型肝炎病毒在胎盘内垂直传播的研究进展综述如下。

一、HBV感染孕妇胎盘组织的病理变化

晏路标等^[2]在光学显微镜下检查感染HBV孕妇的胎盘,发现均有坏死水肿、较多中性粒细胞和淋巴细胞浸润、绒毛水肿、干绒毛硬化、绒毛间质纤维化和纤维素沉积。而正常对照组孕妇的胎盘极少有水肿和坏死、间质致密、结构完整、绒毛分枝细而密。

王爱莉等^[3]发现胎盘被HBV感染后的一般超微结构改变为:合体细胞呈不同程度增生、变性坏死。胞核不规则、核膜皱缩、局部核膜溶解、染色质边聚;粗面内质网肥大扩张;线粒体肿胀,嵴消失;毛细血管基膜增厚,大量纤维蛋白样物质在基膜沉积;还可见特殊的超微结构改变,如多种形态的病毒颗粒:成熟病毒样颗粒、病毒抗原样颗粒、实心病毒抗原样颗粒、管状病毒样颗粒等,均存在于合体细胞内。以上电镜下所观察到的HBV感染的胎盘组织形态改变同肝组织学所见几乎完全相同。推测孕妇血液中HBV使胎盘滋养叶细胞感染,病毒复制后释放入胎儿血液,随之胎儿被感染。

二、HBV感染孕妇的病毒及免疫状态

1. 胎盘组织中HBV的复制:闫永平等^[4]通过免疫组织化学和原位杂交方法对101例HBsAg阳性孕妇足月分娩的胎盘研究发现,胎盘HBV总感染率为44.6%,胎盘蜕膜HBV感染率为43.6%,胎盘屏障中细胞感染率为40.6%,其中绒毛滋养层细胞40.6%,绒毛间质细胞36.6%,绒毛毛细血管内皮细胞18.8%。由此可见在胎盘屏障中,HBV感染率由直接接触母血的绒毛滋养层细胞至绒毛间质细胞及胎儿面的绒毛毛细血管内皮细胞有逐渐降低的趋势,随着HBV在胎盘屏障中的感染由母体靠近胎儿面蜕膜细胞、绒毛滋养层细胞、绒毛间质细胞、绒毛毛细血管内皮细胞的相对危险度(OR值)分别为4.34、5.21、6.00和18.46,宫内感染发生的OR值也随之增大。该研究表明:胎盘屏障,尤其是绒毛毛细血管

基金项目:首都医学发展科研基金-乙型肝炎病毒母婴传播阻断的研究(项目编号:2002-2016)

作者单位:100011 北京地坛医院病理科(孙成福、兰孟东);安徽理工大学(孙成福)

通讯作者:兰孟东, Email: drlanmd@163.com

内皮细胞 HBV 感染与否,可能是宫内感染发生的关键因素之一。

2. HBV 的基因突变: HBsAg 有一个抗原决定簇 - α -决定簇,由第 124 ~ 147 位的 23 个氨基酸残基组成,高度保守,维护 HBsAg 的抗原性,但其 S 区基因常有突变。最常见的为编码第 145 位氨基酸残基的密码子由 GGA 变成 AGA,其编码的甘氨酸(Gly)由精氨酸(Arg)取代。Fujii 等^[5]在日本发现一例感染 HBV 的婴儿,该婴儿此前进行了全程乙肝疫苗预防接种并产生了保护滴度表面抗体。比较该婴儿和母体内 HBV 编码 α -决定簇的基因序列,发现第 145 位碱基由 G 变成 A,分析可能基因变异导致所表达的 HBsAg " α " 决定簇的空间结构发生改变,降低了其抗原性及免疫原性,与表面抗体(HBsAb)结合力降低,使变异株逃脱免疫监视,而这些变异株在母体内所占比例较小,但经垂直传播到达婴儿体内,逐渐取代原型株而成为优势菌株。

HBeAg 位于第 2 个开放阅读框的 1841 ~ 1900 核苷酸区域,编码由 29 个氨基酸残基组成的前-C 蛋白,1896 位核苷酸常由鸟嘌呤(G)突变为腺嘌呤(A),密码子由 TGG 变成 TAG,从而形成终止密码,阻止了 HBeAg 的翻译。减少病毒蛋白的产生,逃避免疫监视,增强病毒的复制力。Sterneck 等^[6]研究了 1 例无症状 HBV 感染的母亲(HBsAg 和 HBeAb 阳性,HBeAg 阴性)及其所分娩的婴儿(8 周龄时 HBcAg 与 HBsAb-IgM 阳性,HBeAg 阴性,9 周龄时出现肝功能衰竭)。应用 PCR 法分别测定母体和婴儿血清和肝组织的 HBV 全基因组,同源序列达 99.8%,并且前-C 区 1896 位 G 变成 A、启动子区 1762 和 1764 位及 S 起始密码子亦发生突变。

3. Fc 受体以介导免疫复合物的形式进入胎盘:有学者在胎盘各层细胞上检测到了 HBsAg-HBsAb 免疫复合物和 Fc 受体,提出了乙型肝炎病毒可能通过免疫复合物的形式由 Fc 受体介导进入滋养层细胞感染胎儿。刘蓬勃等^[7]用免疫荧光染色法对胎盘组织各层细胞进行 Fc γ R 的检测,发现 Fc γ R III 存在于滋养层细胞表面并且主要分布于滋养层细胞和绒毛间质细胞。徐德忠等^[8]检测了 7 例 HBsAg 阳性和 2 例血清 HBV 病毒标志物均阴性的胎盘组织的 Fc γ R 受体,发现所有胎盘标本的滋养层细胞和绒毛间质细胞均存在 Fc γ R III。表明 Fc γ R III 是胎盘细胞表面的固有受体,不受 HBV 感染的影响。程勇前等^[9]以抗-CD16 单克隆抗体应用免疫组织化学法对胎盘绒毛组织的石蜡切片进行染色,在绒毛滋养层细胞层发现阳性信号,从而证实胎盘绒毛组织中存在 Fc γ R III,并且仅分布于滋养层细胞。在此基础上又进行了体外滋养层细胞的培养,在培养的滋养层细胞中同样显示抗-CD16 阳性,说明体外分离培养的滋养层细胞同样存在 Fc γ R III 受体,且未丢失。以上研究均证明了 Fc γ R III 是滋养层细胞表面的固有受体。

4. 胎盘巨噬细胞与 HBV 的关系:胎盘中的巨噬细胞又称 Hofbauer cell (HC),巨噬细胞合成、贮存和分泌两种相关糖蛋白: α 1-抗胰凝乳蛋白酶(A1Ac)和溶菌酶(LSZ),可看作是单核细胞谱系的标志,而 HC 仅表达 α 1-抗胰凝乳蛋白酶(A1Ac),因而是分化不完全成熟的巨噬细胞,它在母体胎盘血中富集,通过其

表面特异性分子(DC-SIGN)捕获并吞噬病毒,通过细胞内的溶酶体分解病毒,是胎儿防御病毒感染的第一道防线;另一方面病毒进入 HC 或与其表面特异性分子结合后不会被杀死,可在细胞内复制。通过迁移和抗原递呈作用使病毒进入胎儿血液循环而进一步攻击靶细胞^[2]。

5. HBV 感染孕妇母子的免疫状态:近年来,HLA 复合体在 HBV 清除过程中的作用日益受到重视。刘海英等^[10]检测 78 例 HBsAg 阳性孕妇(研究组)和 40 例正常孕妇(对照组)外周静脉血中 HLA-DR3、HLA-DR13 基因表型分布及频率。结果发现研究组孕妇 HLA-DR3 基因频率为 19.2%,显著高于对照组的 5.0% ($P < 0.05$);HLA-DR13 基因频率为 2.6%,显著低于对照组孕妇的 17.5% ($P < 0.05$);另外研究组孕妇中,HBV 高复制状态者的 HLA-DR3 基因频率为 30.0%,显著高于低复制状态者的 7.9% ($P < 0.05$)。将研究组孕妇分娩的新生儿,根据脐血清 HBsAg、HBV DNA 的检测结果分为宫内感染组和宫内未感染组,宫内感染组孕妇 HLA-DR3 的基因频率为 50.0%,显著高于宫内未感染组的 14.7% ($P < 0.05$)。宫内感染组新生儿 HLA-DR3 基因频率为 30.0%,明显高于宫内未感染组的 7.4%,但差异无显著性 ($P > 0.05$)。表明孕妇 HBsAg 携带与 HLA-DR3 和 HLA-DR13 表达有明显相关性,其体内病毒高复制状态与 HLA-DR3 表达呈显著正相关;可能与 HLA-DR3 抗原结合槽不利于其与 HBV 外源性抗原结合,TCR 识别抗原能力下降,使 CD4⁺T 细胞活化、增殖能力降低,不利于 HBV 清除,易导致宫内感染。

王素萍等^[11]以 HBsAg 阳性孕妇分娩的新生儿为研究对象,随机选择发生及未发生 HBV 宫内感染的新生儿各 20 例,发现 DR3、DR51 在宫内感染组的频率较高,分别为 45% 和 40%,非宫内感染组分别为 20% 和 15%,OR 值分别为 3.27 (0.67 ~ 17.08)、3.78 (0.69 ~ 23.02)。DR53 在非宫内感染组的频率为 60%,在宫内感染组为 35%,OR 值为 0.36 (0.08 ~ 1.54)但无显著性差异。因此,DR3 和 DR51 有可能是 HBV 宫内感染的易感型,DR53 可能具有保护作用。

刘海英等^[12]研究 HBV 与 HLA-DR 区域基因的母婴垂直传播与导致新生儿接种乙肝疫苗失败的相关性,以及 HLA-DR 基因控制机体对乙肝疫苗应答的机理。将 60 例 HBsAg 阳性产妇分娩并接种乙肝疫苗的新生儿,分为免疫失败组与免疫成功组,结果发现免疫失败组 HLA-DR3 基因频率高于免疫成功组,新生儿免疫失败与 HLA-DR3 基因呈强关联,与 HLA-DR15 基因也具有关联性。说明接种乙肝疫苗失败与 HLA-DR 有关,HLA-DR3 可能为免疫失败的易感因素,HLA-DR15 则可能为保护基因。

6. HBV 感染孕妇外周血病毒载量:朱启镨等^[13]将 987 例携带 HBsAg 的孕妇随机分为试验组和对照组,试验组为孕末期肌注高效价免疫球蛋白(HBIG)并研究胎儿宫内感染情况。结果显示试验组和对照组 HBsAg 单阳性母亲所生胎儿的宫内感染率分别为 2.2% 和 7.2%;HBsAg/HBeAg 双阳性母亲所生胎儿的宫内感染率分别为 12.4% 和 25.9%;HBV DNA 阳性母亲所生胎儿的宫内感染率则为

10.13%和23.2%。孕妇肌注 HBIG 组胎儿宫内感染率显著低于对照组($P < 0.05$)。母血 HBV DNA 阳性或 HBsAg/HBeAg 双阳性,是发生宫内感染的高危因素。

周丽华等^[14]将 300 例 HBsAg 阳性孕妇分为两组,研究组 180 例[HBsAg 携带者 58 例、HBeAb(+)57 例、HBeAg(+)65 例]于孕 28 周、32 周、36 周肌注 HBIG 200 IU,对照组 120 例[HBsAg 携带者 40 例、HBeAb(+)43 例、HBeAg(+)37 例]不用药,结果两组新生儿脐血 HBsAg 阳性率分别为 12.8% 和 29.2%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组乙型肝炎 HBeAg(+)孕妇所生新生儿脐血 HBeAg 阳性率分别为 6.2% 和 10.8%,差异无统计学意义。这标明 HBIG 能够阻断 HBeAb(+)者和乙型肝炎病毒携带孕妇的母婴传播,但不能阻断 HBeAg(+)孕妇的母婴传播。

三、阻断方式对母婴垂直传播的影响

陈香雅等^[15]将 79 例 HBsAg 阳性孕妇分为试验组和对照组,试验组(44 例)肌注 HBIG 200 IU/次,共 3 次,对照组 35 例未加干预,以新生儿脐血 HBV DNA 阳性作为宫内感染的证据。结果显示试验组宫内感染率低于对照组(6.8% vs 22.9%, $P < 0.05$),其中试验组和对照组 HBeAg 阴性孕妇的宫内感染率分别为 3.8% 和 10.0%; HBsAg/HBeAg 双阳性孕妇为 11.1% 和 40.0%; HBV DNA 阳性孕妇则分别为 21.4% 和 66.7%; 凡孕妇 HBV DNA 阴性者,两组的宫内感染率均为 0%。该研究提示试验组宫内感染率显著低于对照组($P < 0.05$);尤其值得注意的是孕妇血清 HBV DNA 是评估宫内感染风险有意义的指标,可以将 HBV DNA 阳性作为孕期应用 HBIG 的指征,而 HBV DNA 阴性孕妇则没有必要使用。

项桂菊等^[16]将 HBV 感染的孕妇随机分为 4 组,分别为拉米夫定组、HBIG 组、拉米夫定和 HBIG 联合治疗组、未治疗为对照组,分别用 ELISA、定量 PCR 检测孕 28 周及分娩前孕妇 HBV 血清标志物和 HBV DNA 含量,以及新生儿、12 个月婴儿血清 HBV 标志物、HBV DNA 含量。结果拉米夫定组、HBIG 组、拉米夫定和 HBIG 治疗联合治疗组与对照组相比,均可显著降低孕妇血 HBV DNA 水平($P < 0.01$),降低新生儿宫内感染率($P < 0.001$)。表明应用拉米夫定、HBIG 能抑制病毒复制,降低血清中 HBV DNA 含量,阻断母婴垂直传播。

四、展望

综上所述,尽管对乙型肝炎的胎盘垂直传播进行了广泛研究,至今尚未揭示其确切机制。因此有必要从分子生物学、病理学、免疫学、妇产科等多学科联合进行更深入细致的研究与探讨,才有可能阐明乙型肝炎病毒宫内感染的机制,从而为预防乙型肝炎提供可靠的科学依据。

参 考 文 献

- 1 张先艳, 张小娟, 薛艳霞. 乙肝病毒母婴垂直传播的阻断措施. 延安大学学报, 2005, 3: 31.
- 2 晏路标, 肖昕, 熊爱华. 胎盘 Hofbauer 细胞在乙型肝炎病毒垂直传播中的作用. 实用儿科临床杂志, 2006, 21: 351-357.

- 3 王爱莉,王淑英,初兆荣,等. 乙肝病毒母婴垂直传播胎盘超微结构变化. 中华围产医学杂志, 2001,4:7-9.
- 4 闫永平,徐德忠,王文亮,等. 胎盘乙型肝炎病毒感染与宫内传播的关系. 中华妇产科杂志,1999,34:16-20.
- 5 Fujii H, Moriyama K, Sakamoto N, et al. Gly145 to Arg substitution in HBs antigen of immune escape mutant of hepatitis B virus. Biochem Biophys Res Commu,1992,184:1152-1157.
- 6 Sterneck M, Kalinina T, Otto S, et al. Neonatal fulminant hepatitis B: structural and functional analysis of complete hepatitis B virus genomes from mother and infant. Infect Dis,1998,177:1378-1381.
- 7 刘蓬勃,徐德忠,王欲等. Fc 受体在胎盘细胞的分布. 第四军医大学学报,2001,22:459-461.
- 8 徐德忠,闫永平,王素萍,等. 胎盘组织在乙型肝炎病毒宫内传播中的作用及其机制研究. 中华医学杂志,2001,81:176-177.
- 9 程勇前,聂青和,周永兴,等. 人胎盘滋养层细胞的分离培养及 IgG FcRⅢ在滋养层细胞的表达. 医学研究生学报,2002,15:105-111.
- 10 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,2003,38:599-603.
- 11 王素萍,孔宪毅,薛淑莲,等. HLA-DR 抗原与 HBV 宫内感染的关系研究. 中国公共卫生,2003,19:772-774.
- 12 刘海英,孔北华,徐群,等. 新生儿乙肝疫苗接种阻断 HBV 母婴传播与 HLA-DR 区域基因相关性的研究. 山东大学学报,2003,41:378-381.
- 13 朱启镛,于广军,吕晴,等. 阻断乙型肝炎病毒宫内传播的随机对照研究. 中华儿科杂志,2002,40:478-480.
- 14 周丽华,沈旭娜. 乙肝免疫球蛋白阻断 HBV 母婴垂直传播的临床观察. 现代中西医结合杂志,2007,16:1778-1779.
- 15 陈香雅,骆志英,宣樟标,等. 乙肝高价免疫球蛋白阻断乙肝母婴传播的研究. 浙江预防医学,2003,15:10-11.
- 16 项桂菊,孙健伟,江水清,等. 拉米夫定联合主被动免疫干预乙型肝炎病毒母婴垂直传播的疗效评价. 中国实用医药杂志,2007,2:14-15.

(收稿日期:2008-06-30)

(本文编辑:温少芳)

孙成福,兰孟东. 乙型肝炎病毒胎盘垂直传播机制的研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2009,3(2):202-206.