

# 父系 HBeAg 阳性流产胚胎绒毛中 HBV-DNA 的表达

林淑仪<sup>1</sup> 李 芳<sup>2</sup> 陈励和<sup>3△</sup> 崔咏怡<sup>2</sup> 禤庆山<sup>2</sup>

(1 广州市妇女儿童医疗中心检验部 广东 广州 510120 2 广州市妇女儿童医疗中心妇产科部 广东 广州 510120 ;

3 广州市妇女儿童医疗中心图书馆 广东 广州 510120)

**摘要** 目的 探讨在父系 HBeAg 阳性的流产胚胎中,乙型肝炎病毒在绒毛中的表达。方法 募集仅父系感染乙型肝炎病毒组合,即母 HBsAg(-)且父 HBsAg(+)流产胚胎。按以下组合将入选对象分为 4 组 组 1 为父 HBeAg(+)母 HBsAb(+) 组 2 为父 HBeAg(+)母 HBsAb(-);组 3 为父 HBeAg(-)母 HBsAb(+); 组 4 为父 HBeAg(-)母 HBsAb(-),采用酶联免疫吸附实验(ELISA)对胎儿父、母亲血清进行乙肝抗原、抗体检测,并使用荧光定量 PCR 法对胚胎绒毛进行 HBV DNA 检测。结果 父系感染乙型肝炎病毒的 142 例胚胎中,仅在父系 HBeAg 阳性组别(1、2 组)84 例胚胎中发现 3 例绒毛 HBV-DNA 升高,阳性率为 3.57%。其中父 HBeAg(+)母 HBsAb(-)组合中 2 例,父 HBeAg(+)母 HBsAb(+)组合中 1 例。父系 HBeAg 均阳性,母系 HBsAb 阳性与阴性组间子代绒毛 HBV-DNA 升高率差异无显著性( $P>0.05$ )。结论 HBeAg 阳性父亲可能更容易导致乙肝父婴垂直传播。

**关键词** 乙肝病毒 胚胎 父婴传播

中图分类号 R512.62 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)11-2111-03

## Hepatitis B Virus Expression in Villi from Paternal HBeAg Positive Early Abortion Embryo

LIN Shu-yi<sup>1</sup>, LI Fang<sup>2</sup>, CHEN Li-he<sup>3△</sup>, CUI Yong-yi<sup>2</sup>, XUAN Qing-shan<sup>2</sup>

(1 Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Center, 510120, Guangzhou, China;

2 Department of Obstetrics & Gynecology, Guangzhou Women and Children's Medical Center, 510120, Guangzhou, China;

3 Library, Guangzhou Women and Children's Medical Center, 510120, Guangzhou, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate hepatitis B virus (HBV-DNA) expression in villi from paternal HBeAg positive early abortion embryo. **Methods:** Early abortion embryos, whose paternal serum HBsAg positive and maternal serum HBsAg negative, were collected. They were divided into G1 paternal HBeAg (+) and maternal HBsAb (+), G2 paternal HBeAg (+) and maternal HBsAb (-), G3 paternal HBeAg (-) and maternal HBsAb (+), and G4 maternal HBsAb (-) and paternal HBeAg (-). parents serum HBV antigen and antibody measurement was performed by ELISA, HBV-DNA expression in villi was measured by fluorimetric quantitative PCR. **Results:** Among 142 villi from paternal HBsAg positive early abortion embryo, 3 of 84 villi from paternal HBeAg positive early abortion embryo were detected for HBV-DNA expression. The positive rate was 3.57%. 2 cases in G2 paternal HBeAg (+) and maternal HBsAb (-), and 1 case in G1 paternal HBeAg (+) and maternal HBsAb (+). In groups whose paternal HBeAg were positive (G1 and G2), there was no significant difference for villi HBV-DNA expressing rate ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** Hepatitis B virus might more likely transmit vertically to early embryo villi in paternal HBeAg positive cases.

**Key words:** Hepatitis B virus; Villus; Transmit vertically

Chinese Library Classification(CLC): R512.62 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)11-2111-03

### 前言

乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 垂直传播是 HBV 的主要传播途径之一, 阻断 HBV 垂直传播对控制 HBV 流行及改善出生人口素质具有重要意义<sup>[1]</sup>。婴幼儿感染乙型肝炎病毒病因调查显示, 父婴传播导致感染方式高居第二位, 比例高达 32.76%<sup>[2-4]</sup>。HBeAg 是 HBV 复制的一项主要标志。本研究对父亲乙肝病毒 HBeAg 阳性的父婴传播机率进行初步探讨, 从胎盘绒毛角度对乙肝病毒父婴传播进行研究, 探讨在父系

HBeAg 阳性的流产胚胎中, 乙型肝炎病毒在绒毛中表达的情况。

### 1 材料和方法

#### 1.1 研究对象

2010-2011 年在妇女儿童医疗中心就诊募集到的 142 例患者, 并在知情同意的情况下, 收集父母双亲的血清及人工流产的胚胎绒毛。进行人工流产前, 用 ELISA 定性测定乙肝两对半, 测定男女双方乙肝病毒感染情况。募集仅父系感染乙型肝炎病毒进行人工流产的胚胎绒毛, 即母系 HBsAg (-) 且父系 HBsAg (+) 组合<sup>[5-7]</sup>。

#### 1.2 分组

将入选对象按父母双方乙肝病毒感染情况分为 4 组 组 1

作者简介 林淑仪(1962-) 女, 主管技师, 大专, 主要研究方向: 临床检验。手机: 13535152900

△通讯作者 陈励和 电话 020-81330664 E-mail: ok22ok@163.com

(收稿日期: 2011-12-10 接受日期: 2012-01-06)

为母 HBsAb(+)且父大三阳 HBeAg(+) 组 2 为母 HBsAb(-)且父大三阳 HBeAg(+);组 3 母 HBsAb(+)且父小三阳 HBeAg(-) 组 4 为母 HBsAb(-)且父小三阳 HBeAg(-)。

### 1.3 标本检测

采用科华生物公司 ELISA 试剂盒进行父母双亲血清乙肝抗原、抗体相关检测,采用达安基因公司荧光定量 PCR 法试剂

盒定量检测胚胎组织的 HBV-DNA 感染情况<sup>[8]</sup>。

### 1.4 统计分析

数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析处理。各组绒毛 HBV-DNA 感染率比较用  $\chi^2$  检验<sup>[9]</sup>。

## 2 结果

表 1 父系 HBeAg 阳性流产胚胎绒毛中 HBV-DNA 的表达

Table 1 Hepatitis B Virus Expression in Villi from Paternal HBeAg Positive Early Abortion Embryo

组别 Groups	条件 Factors	例数 Number	绒毛阳性例数 Number of Positive	阳性率(%) Positive rate
组 1 Group1	父 HBsAg(+)HBeAg(+) 母 HBsAb(+)	27 例	1	3.7%
组 2 Group2	父 HBsAg(+)HBeAg(+) 母 HBsAb(-)	57 例	2	3.5%
组 3 Group3	父 HBsAg(+)HBeAg(-) 母 HBsAb(+)	19 例	0	0%
组 4 Group4	父 HBsAg(+)HBeAg(-) 母 HBsAb(-)	39 例	0	0%

仅在 84 例父系 HBeAg(+)组合(1、2 组)发现 3 例绒毛 HBV-DNA 升高,阳性率为 3.57%,其中组 1 即父 HBeAg(+)母 HBsAb(+)组合中 1 例,为  $5.17 \times 10^6$  cps/ml;组 2 即父 HBeAg(+)母 HBsAb(-)组合中 2 例,分别为  $4.66 \times 10^6$  cps/ml 和  $2.72 \times 10^5$  cps/ml。

父系组 1 与组 2 子代绒毛 HBV-DNA 阳性率分别为 3.7% 和 3.5%(表 1),两组间比较差异无显著性( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

体内受孕环境复杂,母亲抵抗力和父系传染性不同,胚胎期病毒是否能垂直传播不明,医生指导感染乙型肝炎男性计划生育缺少个体化前提<sup>[10-13]</sup>。在受精和胚胎阶段,孕妇 HBsAb 阳性阻断 HBV 父-胚传播的程度和作用不明<sup>[14]</sup>。在父系 HBsAg 阳性时,影响乙型肝炎病毒在绒毛中表达的因素有争议。

本研究在仅父系感染乙型肝炎病毒 HbsAg 阳性配偶组合的早孕流产胚胎 142 例中,在其中的 84 例 HBeAg 阳性父亲中发现 3 例绒毛 HBV-DNA 升高,提示确实在妊娠早期就存在父系 HBV-DNA 垂直传播。研究显示一部分 HBV 的垂直传播可能是经受精卵携带病毒 DNA 途径实现的<sup>[15]</sup>。有研究提示 HBV-DNA 进入雄性生殖细胞后,可以整合到宿主基因组内,通过自然受精随精子进入卵母细胞,并在早期胚胎中复制与表达。提示 HBV 有可能通过雄性生殖细胞进行垂直传递<sup>[16]</sup>。与本研究的结果早期胚胎可能经受精卵途径感染相符。

本研究显示,仅在在父系 HBeAg(+)组合(大三阳)发现其子代绒毛 HBV-DNA 升高,阳性率为 3.57%,在 HBsAg(+)而 HBeAg(-)的 58 例父系中,胚胎并无可检测到的 HBV-DNA。此与其它研究结果提示大三阳父亲更容易发生父婴垂直传播<sup>[17]</sup>结论相符合。曾有研究用荧光免疫原位杂交(FISH)检测肝炎患者精子中 HBVDNA,只在慢性持续性乙型肝炎患者的精子中发现了随机整合在染色体中的 HBV-DNA<sup>[18]</sup>。虽然该研究

结论支持本研究的结果,但鉴于上述研究与本研究的样本量都不大,仍需要大样本的流行病学调查和研究以进一步明确这一影响因素对父婴垂直传播 HBV-DNA 的作用。

在本研究中,父系大三阳 HBeAg(+)组合中,组 1(母 HBsAb+)与组 2(母 HBsAb-)流产子代绒毛 HBV-DNA 阳性率分别为 3.7%和 3.5%,两组间比较差异无显著性( $P>0.05$ )。提示妊娠后这类父婴垂直传播可能不能通过母系的免疫状况进行阻断<sup>[19]</sup>。本研究中父胚垂直传播率低于国内其它有关乙型肝炎病毒父婴传播的调查资料,由于本研究取样时间为早期妊娠,其它研究多数集中在妊娠晚期和出生后婴幼儿采样,是否因此导致差异有待进一步研究乙型肝炎病毒在妊娠晚期和子代出生后乙型肝炎病毒父婴传播途径,同时需要今后扩大样本量进行流行病学研究缩小抽样误差<sup>[20]</sup>。

HBe Ag 是乙肝病毒传染性的重要标志,研究表明父系 HBeAg(+)是引起乙肝病毒的垂直传播的重要因素,提示计划妊娠前应加强对父系 HBeAg(+)人群的治疗和预防,以减少乙肝父婴垂直传播。

### 参考文献(References)

- [1] Zhang L, Zhang W, Shao C, et al. Establishment and characterization of a spontaneously immortalized trophoblast cell line (HPT-8) and its hepatitis B virus-expressing clone [J]. Hum Reprod, 2011, 26 (8): 2146-2156
- [2] Hu XL, Zhou XP, Qian YL, et al. The presence and expression of the hepatitis B virus in human oocytes and embryos [J]. Hum Reprod, 2011, 26(7):1860-1867
- [3] 杨娜,胡建文,王娉.乙肝表面抗原和 e 抗原阴性父亲乙型肝炎病毒父-婴传播关系的研究[J].海南医学,2011, 22(6):98-99  
Yang Na, Hu Jian-wen, Wang Ping. Study of the transmission from father to infant of hepatitis B surface antigen and hepatitis B virus e antigen-negative [J]. Hainan Medical Journal, 2011, 22(6):98-99
- [4] Ahmed MM, Huang TH, Xie QD. An improved experimental model

- for studying vertical transmission of hepatitis B virus via human spermatozoa[J]. J Virol Methods, 2008, 151(1):116-120
- [5] 太永日, 崔明玉. HBsAg 阳性父亲和其婴儿不同时间接触对乙型肝炎病毒父婴传播的影响[J]. 中国民族民间医药杂志, 2010, 19(20): 66-68
- Tai Yong-ri, Cui Ming-yu. Effects of the transmission from father to infant of hepatitis B virus at different times exposure between HBsAg-positive fathers and their infants[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2010, 19(20):66-68
- [6] Huang TH, Zhang QJ, Xie QD, et al. Presence and integration of HBV DNA in mouse oocytes [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11 (19): 2869-2873
- [7] 夏良斌, 敖良飞, 杨菁, 等. 不同方案阻断乙型肝炎病毒父婴垂直传播的初步研究[J]. 实用医学杂志, 2010, (4):583-585
- Xia Liang-bin, Ao Liang-fei, Yang Jing, et al. Different regimens for blocking paternal-infant vertical transmission of hepatitis B virus[J]. The Journal of Practical Medicine, 2010, (4):583-585
- [8] Ahmed MM, Huang TH, Xie QD. A sensitive and rapid assay for investigating vertical transmission of hepatitis B virus via male germ line using EGFP Vector as reporter [J]. J Biomed Biotechnol, 2008: 495436
- [9] 杨慧, 罗燕春. 乙型肝炎病毒父婴垂直传播的临床研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(11):1111-1112
- Yang Hui, Luo Yan-chun. Clinical research of the vertical transmission from father to infant of hepatitis B virus[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2010, 7(11):1111-1112
- [10] Ali BA, Huang TH, Xie QD. 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[J]. Mol Reprod Dev, 2005, 70(1):30-36
- [11] 王珊珊, 唐博恒, 刘金华, 等. 乙型肝炎病毒父婴传播的免疫预防研究[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(1):6-8
- Wang Shan-shan, Tang Bo-heng, Liu Jin-hua, et al. Immune Prevention of HBV Transmission from Father [J]. Military Medical Journal of South China, 2010, 24(1):6-8
- [12] 张俊明, 李国敏, 洪宝林, 等. 预防免疫阻断乙型肝炎父婴传播的临床研究[J]. 实用临床医药杂志, 2009, 13(12):134-135
- Zhang Jun-ming, Li Guo-min, Hong Bao-lin, et al. Clinical research of the prevention and immunization block of the transmission from father to infant of hepatitis B virus[J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2009, 13(12):134-135
- [13] Grosheide PM, Quartero HW, Schalm SW, et al. Early invasive prenatal diagnosis in HBsAg-positive women [J]. Prenat Diagn, 1994, 14 (7):553-558
- [14] Nie R, Jin L, Zhang H, et al. Presence of hepatitis B virus in oocytes and embryos: a risk of hepatitis B virus transmission during in vitro fertilization[J]. Fertil Steril, 2011, 95(5):1667-1671
- [15] Chirillo P, Pagano S, Natoli G, et al. The hepatitis B virus X gene induces p53-mediated programmed cell death[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94(15):8162-8167
- [16] Ali BA, Huang TH, Salem HH, et al. Expression of hepatitis B virus genes in early embryonic cells originated from hamster ova and human spermatozoa transfected with the complete viral genome [J]. Asian J Androl, 2006, 8(3):273-279
- [17] Wang SS, Tang BH, Liu JH, et al. Immune Prevention of HBV Transmission from Father to Infant [J]. Military Medical Journal of South China, 2010, 24(1):6-8
- [18] 李雅江, 李慧玲, 鄢剑. 乙型肝炎的父 - 婴传播途径检测分析[J]. 中国医学检验杂志, 2007, 8(5):342-343
- Li Ya-jiang, Li Hei-ling, Wu Jian. Detection of vertical transmission of hepatitis B from father to infant [J]. Chinese Journal of Medical Laboratory Technology, 2007, 8(5):342-343
- [19] 曾庆磊, 付素伟, 徐光华. 乙型肝炎病毒父婴传播与母婴传播的研究和阻断现状[J]. 医学信息, 2010, 23(2):536-537
- Ceng Qing-lei, Fu Su-wei, Xu Guang-hua. Study and blocking status of paternal vertical transmission of hepatitis B virus [J]. Medical Information, 2010, 23(2):536-537
- [20] 张荣莲, 陈起燕, 谢婧娴, 等. 乙型肝炎病毒父婴垂直传播的危险因素分析[J]. 中华妇产科杂志, 2009, 44(11):805-808
- Zhang Rong-lian, Chen Qi-yan, Xie Jing-xian, et al. Risk factors for paternal vertical transmission of hepatitis B virus[J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2009, 44(11):805-808