

# HBsAg 阳性孕妇早期流产绒毛组织中 HBV 标志物检测及危险因素研究

彭婷婷<sup>1</sup> 王森<sup>2</sup> 陈凤<sup>2</sup> 喻宏<sup>2</sup> 杨敏<sup>2</sup> 黄华鑫<sup>2</sup> 崔璐<sup>2</sup> 蔡秋娥<sup>2</sup> 王强<sup>2</sup> 苟继周<sup>2</sup>  
孙炎<sup>2</sup> 陈楚明<sup>2</sup> 刘映霞<sup>2</sup>

<sup>1</sup>南华大学, 衡阳 421000; <sup>2</sup>深圳市第三人民医院 感染病国家重点专科 518112

彭婷婷和王森对本有同等贡献

通信作者: 刘映霞, Email: yingxialiu@hotmail.com, 电话: 0755-61234851; 陈楚明, Email: the\_snake@126.com, 电话: 0755-61238922

**【摘要】 目的** 通过检测乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 阳性孕妇早期流产的绒毛组织中与乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染相关的指标, 评估妊娠早期宫内感染的发生情况及可能的影响因素。**方法** 以 45 例 HBsAg 阳性孕妇早期流产的绒毛组织和血液标本为研究对象, 应用荧光定量 qRT-PCR 方法, 对 HBV DNA 进行测定, 并与血液中 HBV DNA 的检测结果进行比较分析; 应用免疫组化技术对绒毛组织中 Glial Cell Missing-1 (GCM1)、HBsAg、HBcAg 进行检测。**结果** qRT-PCR 检测结果显示, 45 份绒毛组织中有 14 份样本 HBV DNA 呈阳性, 阳性率为 31.11%; 血液检查结果中有 24 份样本呈阳性, 阳性率为 53.33%, 进一步统计分析的结果表明血液和绒毛组织的 HBV DNA 阳性率间无显著性差异 ( $\chi^2 = 4.555, P = 0.054$ )。其中, 有 12 份绒毛组织样本与血液样本阳性结果相符合, 且这部分孕妇外周血的 HBsAg、HBcAg、HBeAb 和 HBV DNA 水平均显著高于其他孕妇 ( $P$  值分别为 0.007、0.004、0.000、0.000)。多因素 logistic 回归分析表明血液 HBV DNA 大于  $10^6$  IU/ml 与绒毛组织 HBV DNA 阳性独立相关, 且这部分孕妇的 HBsAg、HBcAg、绒毛组织 HBV DNA 阳性率均显著高于其他孕妇 ( $P$  值均为 0.000)。免疫组化结果表明, 45 份绒毛组织的胞核均表达其特异性抗体 GCM1; 有 9 份绒毛组织的胞浆表达 HBsAg; 只有 1 份绒毛组织的胞核表达 HBcAg。**结论** HBsAg 阳性孕妇早期流产的绒毛组织中可检测到 HBV DNA、HBsAg 的表达, 提示胎儿, 尤其是高病毒载量母亲所怀的胎儿早期存在发生宫内感染的可能。

**【关键词】** 肝炎病毒; 乙型; 绒毛组织; qRT-PCR; 免疫组化; 宫内感染

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81570552, 81873573, 81800525) “十三五” 艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治重大专项 (2108ZX10711001)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.02.015

## Risk factor and hepatitis B virus makers during the first trimester in villi tissues of HBsAg-positive pregnant women

Peng Tingting<sup>1</sup>, Wang Miao<sup>2</sup>, Chen Feng<sup>2</sup>, Yu Hong<sup>2</sup>, Yang Min<sup>2</sup>, Huang Huaxin<sup>2</sup>, Cui Lu<sup>2</sup>, Cai Qiu'e<sup>2</sup>, Wang Qiang<sup>2</sup>, Gou Jizhou<sup>2</sup>, Sun Yan<sup>2</sup>, Chen Chuming<sup>2</sup>, Liu Yingxia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of South China, Hengyang 421000, China; <sup>2</sup>State Key Discipline of Infectious Diseases, Department of Infectious Diseases, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518112, China

Peng Tingting and Wang Miao contributed equally to the article

Corresponding author: Liu Yingxia, Email: yingxialiu@hotmail.com, Tel: 0086-755-61234851; Chen Chuming, Email: the\_snake@126.com, Tel: 0086-755-61238922

**【Abstract】 Objective** To determine whether intrauterine infection with hepatitis B virus (HBV) occurs in early pregnancy and to characterize associated virulence factors. **Methods** Villi tissues and blood samples of 45 HBV surface antigen (HBsAg)-positive pregnant women were collected during the first trimester and HBV DNA loads were quantified by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). The expression of GCM1, HBsAg and hepatitis B core antigen (HBcAg) in villi tissues were detected by immunohistochemical method. **Results** Data from qRT-PCR showed that HBV DNA was detected in 14 of 45 villi tissues (positive rate of 31.11%), and 24 of 45 blood samples (positive rate of

53.33%), further statistical analysis showed that the positive rates of HBV DNA between blood samples and villi tissues were not significantly different ( $X^2 = 4.555$ ,  $P = 0.054$ ). Among them, 12 samples were consistently positive between the villi and blood specimens, and HBsAg, HBeAg, HBeAb, HBV DNA from peripheral blood in these pregnant women were significantly higher than those of the other women ( $P$  value was 0.007, 0.004, 0.000, and 0.000 respectively). The multivariate logistic regression analysis showed that blood HBV DNA greater than 106 IU/ml was independently associated with HBV DNA positive in villi, and the HBsAg, HBeAg, villi tissues HBV DNA positive rates of these pregnant women were significantly higher than those of the other pregnant women (all  $P$  value were 0.000). Immunohistochemistry results showed that all 45 cases were positive for GCM1 expression in the cell nucleus. Nine cases also had HBsAg expression in the cytoplasm. Only one case was found to express HBV core antigen (HBcAg) in the nucleus. **Conclusions** HBV DNA and HBsAg can be detected from villi tissues harvested during the first trimester in HBsAg-positive pregnant women, and the results suggest an early occurrence of intrauterine infection of fetuses with high HBV levels.

**[Key words]** Hepatitis B virus; Villi tissues; qRT-PCR; Immunohistochemistry; Intrauterine infection

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81570552, 81873573, 81800525), National Science and Technology Major Project of Chia (2108ZX10711001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.02.015

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界性流行,根据世界卫生组织估计,全球大约有 20 亿人曾感染 HBV,其中 2.4 亿人为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者<sup>[1]</sup>,每年约有 65 万人死于 HBV 感染所致的肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)<sup>[2]</sup>。母婴传播是 HBV 传播的主要途径之一,在分娩时采用乙肝疫苗和乙型肝炎免疫球蛋白(hepatitis B immunoglobulin, HBIG)对新生儿进行联合免疫,可高效阻断母婴传播,但仍有一小部分新生儿发生了 HBV 感染。有研究表明,联合免疫失败的婴儿,主要是来自乙型肝炎 e 抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性且 HBV DNA 水平大于或等于  $2 \times 10^5$  IU/ml 的母亲<sup>[3]</sup>,而早期宫内传播可能是导致新生儿免疫失败的主要原因。在最新版的欧洲肝脏病研究学会乙型肝炎管理指南中,对于 HBV DNA 大于  $2 \times 10^5$  IU/ml 的孕妇,指南推荐于孕 24~28 周行母婴阻断。Pan 等<sup>[4]</sup>的研究也表明在孕 28 周接受 TDF 治疗的研究对象在阻断乙肝母婴传播方面收益显著;早期研究结果也证明 LDT 能有效降低 HBV 母婴传播<sup>[5]</sup>。然而在上述时间点开始进行抗病毒治疗是否能够完全阻断母婴传播,目前尚无结论。而且,在 24 周前,特别对于高病毒载量的孕妇,是否存在妊娠早期的宫内传播,目前亦尚无定论。因此,本研究拟通过荧光定量 qRT-PCR 方法和免疫组化技术,对 HBsAg 阳性孕妇早期流产的绒毛组织进行检测,以探讨胎儿在妊娠早期是否发生了宫内感染,为 HBsAg 阳性孕妇阻断用药的合理时机提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 选择 2015 年 11 月至 2017 年 8 月于本院妇产科行早期自然流产的 60 例孕妇为研究对象,其中 45 例为 HBsAg 阳性孕妇(包括 12 例 HBeAg 阳性孕妇和 33 例 HBeAg 阴性孕妇),15 例为健康孕妇;孕妇年龄在 19~40 岁,孕周 5~12 周,平均孕周为 7 周,经超声检查确定胚胎停育后,向患者交代病情并行刮宫术。本研究内容均已获得医院伦理委员会批准和参加者的书面知情同意。受理号:深圳第三人民医院伦审科研申报字(2017-005)号。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 标本的处理:**手术过程中留取绒毛组织标本,经生理盐水冲洗干净后,转移至盛有生理盐水的无菌标本采集管中,立即送至实验室。用 PBS 冲洗 3 次,最后用 4% 多聚甲醛覆盖绒毛组织,放至  $-80$  °C 冰箱中保存。同时,常规取手术前孕妇的肘静脉血 5 ml,经  $1\ 800 \times g$  离心 5 min,分离出血浆,贮存于  $-80$  °C 冰箱中,集中检测。

**1.2.2 荧光定量 qRT-PCR 方法:**采用 Qiagen 公司(德国)的 QIAamp DNA Mini Kit (51304)提取绒毛组织 DNA 及 PCR 荧光探针法检测血液样本中 HBV DNA 载量;采用 Abbott 公司(美国)的 HBsAg (84139FN00)和 HBeAg 试剂盒(8716 4L1 01)检测 HBsAg 和 HBeAg 的水平;采用北京全式金公司的 pEASY-T5 Zero Cloning Kit (CT501-02)进行载体构建,其中,普通 PCR 扩增引物为 HBV-S 基因编码区的 461 bp 片段,上游引物为 5'-GGCCCCAATACC

ACATCATCCAT-3', 下游引物为 5'-GGCCAAAATTC GCAGTCCCCAACC-3'; 定量 PCR 扩增引物参考 Liu 等<sup>[6]</sup>在文献中的报道, 扩增产物为 HBV-S 基因编码区的 144 bp 片段。按照公式  $(6.02 \times 10^{23} \times C \times 10^{-9}) / [(461 \text{ bp} + 3 \text{ 955 bp}) \times 660]$  计算质粒拷贝数 (其中 C 为质粒浓度, 单位为 ng/μl); 根据计算结果分别将质粒稀释成  $10^{10}$ 、 $10^8$ 、 $10^7$ 、 $10^6$ 、 $10^5$ 、 $10^4$ 、 $10^3$ 、 $10^2$  拷贝用于建立标准曲线; 所有实验操作过程严格按照说明书进行。

1.2.3 免疫组化方法: 采用免疫组化方法分别检测绒毛组织中特异表达的转录因子神经胶质细胞缺失蛋白-1(GCM1)、HBsAg、HBcAg 的表达, 并以病理科已确诊的乙肝癌患者的肝脏组织为阳性对照。所有肝脏标本经 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 连续切取 4 μm 厚的切片。结果以抗原特异表达位点出现棕黄或棕褐色者判定为阳性。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析, 患者的 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBV DNA 水平为不符合正态分布的计数资料, 统计分析采用  $\chi^2$  检验或非参数检验, 以中位数 (25%, 75% 四分位距) 表示。独立危险因素采用多因素 logistic 回归分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 绒毛组织和血液中 HBV DNA 的定量检测

2.1.1 HBV DNA 定量检测标准曲线图的建立: 通过荧光定量 qRT-PCR 方法测定了不同个体绒毛组织中的 HBV DNA 拷贝数, 标准曲线如图 1 所示。

2.1.2 绒毛组织和血液中 HBV DNA 的比较分析: 血液和绒毛组织 HBV DNA 的检测结果表明: 15 例健康孕妇的血液和绒毛组织中均未检测到 HBV DNA; 而在 45 例 HBsAg 阳性的孕妇中, 分别有 24 份血液和 14 份绒毛组织的 HBV DNA 检查结果呈阳性, 阳性率分别为 53.33% (24/45) 和 31.11%

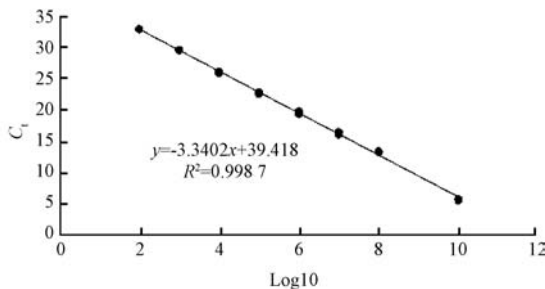


图 1 HBV DNA 定量检测标准曲线图

Fig.1 Standard curve of HBV DNA quantitative detection

(14/45), 其中, 12 份绒毛组织的 HBV DNA 检测结果与血液中的结果相符合; 统计分析结果表明血液和绒毛组织的 HBV DNA 阳性数间差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 4.555, P = 0.054$ )。

2.1.3 HBV DNA 阳性的流产孕妇中乙肝标志物的比较分析: 在绒毛组织和血液 HBV DNA 检测均呈阳性的 12 个孕妇中, 其中 66.67% 孕妇外周血为 HBeAg 阳性, 而在绒毛组织或血液 HBV DNA 阴性的 33 个孕妇中, 12.12% 孕妇外周血为 HBeAg 阳性, 二者阳性率间存在显著性差异 ( $\chi^2 = 15.287, P = 0.000$ )。进一步的分析结果如表 1 所示。

2.1.4 绒毛组织 HBV DNA 阳性的流产孕妇的独立风险因素回归分析: 血液 HBV DNA 大于  $10^6$  IU/ml 与绒毛组织 HBV DNA 阳性独立相关, 详见表 2。

2.1.5 血液 HBV DNA 大于  $10^6$  IU/ml 流产孕妇的乙肝标志物比较分析: 进一步分析血液 HBV DNA 大于  $10^6$  IU/ml 孕妇的 HBsAg、HBeAg、绒毛组织 HBV DNA 的感染情况, 结果如表 3 所示。

### 2.2 绒毛组织中抗原表达的检测

2.2.1 免疫组化检测绒毛组织中抗原表达的结果: 45 份绒毛组织细胞核均表达其特异性抗体 GCM1, 以 HBeAg 阳性、且 G2 级以上的 CHB 患者肝组织为阳性对照, 未检测到 GCM1 的表达; 共有 9 份绒毛组织胞浆中表达 HBsAg, 其中 5 份呈强阳性表达, 4 份

表 1 HBV DNA 阳性的流产孕妇中乙肝标志物的比较分析

Tab.1 The comparative analysis of HBV markers in HBV DNA-positive pregnant women

组别	例数	中位数 (25%, 75% 四分位距)			
绒毛组织和血液 HBV DNA 检测结果	45	HBsAg (IU/ml)	HBeAg (S/CO)	HBeAb (S/CO)	HBV DNA (IU/ml)
血液与绒毛组织均 HBV DNA (+)	12	33615.61 (4576.72, 54059.51)	1054.53 (0.43, 1488.92)	25.01 (0.36, 56.42)	1.65E+07 (152.51, 5.51E+07)
绒毛组织或血液 HBV DNA (-)	33	2229.11 (1153.80, 4240.00)	0.24 (0.23, 0.28)	0.02 (0.01, 0.03)	100.00 (100.00, 849.00)
Z 值	/	-2.66	-2.83	-3.45	-3.72
P 值	/	0.007	0.004	0.000	0.000

局灶弱阳性表达;只有 1 份绒毛组织的细胞核表达 HBcAg;阳性对照中均检测到 HBsAg 和 HBcAg 的表达;结果如图 2 所示。

**表 2** 绒毛组织 HBV DNA 阳性的流产孕妇的独立风险因素回归分析

**Tab.2** Independent risk factor regression analysis of pregnant women with HBV DNA-positive in villi tissues

因素	P 值
血液 HBV DNA > 10 <sup>6</sup> IU/ml	0.000
HBsAg > 4lgIU/ml	0.508
HBeAg 阳性	0.458

2.2.2 免疫组化中 HBsAg 阳性的孕妇与其他孕妇之间的乙肝标志物的比较分析;9 名孕妇中 HBeAg 阳性率为 22.22%,而免疫组化中 HBsAg 阴性的 36 名孕妇中 HBeAg 阳性率为 22.78%,二者阳性率间差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.114, P = 1.000$ ), (表 4)。

**表 3** 血液 HBV DNA 大于 10<sup>6</sup> IU/ml 流产孕妇的乙肝标志物比较分析

**Tab.3** The comparative analysis of HBV markers in blood HBV DNA greater than 10<sup>6</sup> IU/ml pregnant women

组别	例数	中位数(25%,75%四分位距)		
血液 HBV DNA 检测结果	45	HBsAg (IU/ml)	HBeAg (S/CO)	绒毛组织 HBV DNA 阳性率
HBV DNA > 10 <sup>6</sup> IU/ml	9	43520.99 (24086.66,57148.69)	1328.17 (448.14,1524.61)	100%
HBV DNA ≤ 10 <sup>6</sup> IU/ml	36	2229.13 (382.84,4560.97)	0.25(0.23,0.29)	13.89%
Z 值或 $\chi^2$ 值	/	Z = -4.455	Z = -3.618	$\chi^2 = 24.911$
P 值	/	0.000	0.000	0.000

**表 4** HBsAg 阳性的流产孕妇中乙肝标志物的比较分析

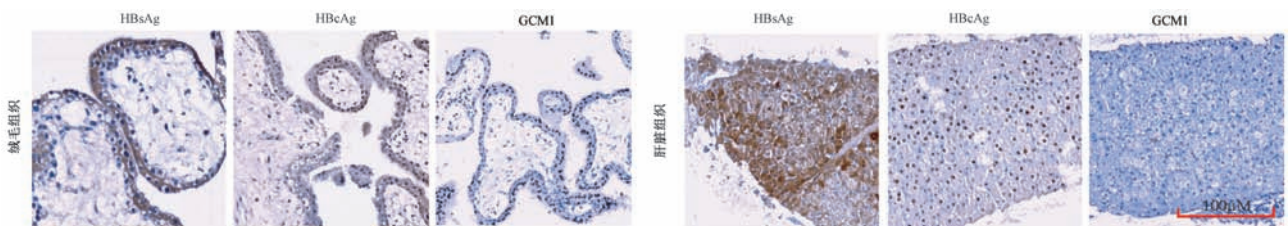
**Tab.4** The comparative analysis of HBV markers in HBsAg-positive pregnant women

组别	例数	中位数(25%,75%四分位距)			
绒毛组织 HBsAg 检测结果	45	HBsAg (IU/ml)	HBeAg (S/CO)	HBeAb (S/CO)	HBV DNA (IU/ml)
HBsAg (+)	9	6721.64 (1153.14,32871.99)	0.23 (0.22,178.47)	0.10 (0.01,5.54)	6230.00 (100.00,1.75E+7)
HBsAg (-)	36	2675.55 (588.09,7951.19)	0.26 (0.23,1.93)	0.04 (0.01,0.66)	107.50 (100.00,3922.51)
Z		-1.159	-0.955	-0.224	-0.419
P		0.259	0.347	0.842	0.706

### 3 讨论

目前,分娩期对新生儿进行联合免疫已可阻断绝大部分的母婴传播,然而,目前仍有少数新生儿在出生后免疫失败,这可能是由于胎儿在出生前发生了宫内感染所致,这些新生儿有极高的风险发展为 CHB。阻断宫内传播是实现母婴零传播的重要策略之一,目前各个指南推荐的用药时间为 24~28 周,但是否存在早期的宫内传播,尚无定论。

本研究结果显示 HBsAg 阳性的怀孕者中,有 31.11% 的绒毛组织 HBV DNA 呈阳性,与 Chen 等<sup>[7]</sup>报道的结果接近,他们的研究表明在感染 HBV 的孕妇中有 31% 的胎盘组织发生了宫内传播。本研究发现所有高病毒载量 (HBV DNA > 10<sup>6</sup> IU/ml) 孕妇的绒毛组织 HBV DNA 均呈阳性,表明母亲携带的病毒载量越高,胎儿发生宫内感染的可能性越高。母亲 HBV DNA 水平是影响 HBV 母婴传播



**图 2** 免疫组化方法检测绒毛组织中抗原的表达

**Fig.2** Immunohistochemistry detect the expression of antigen in villi tissues

最主要的因素之一, Ye 等<sup>[8]</sup>在对母亲 HBsAg 阳性的 138 名新生儿的研究结果显示, 母亲 HBV DNA 高水平的新生儿有 9% 免疫失败。另外, 我们还发现在胎儿绒毛组织 HBV DNA 检测阳性的孕妇的外周血中, HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 的水平均显著高于绒毛组织 HBV DNA 检测阴性者, 这表明 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 水平越高的孕妇发生宫内传播的风险越高。有观点认为孕妇的住院、分娩方式、年龄、妊娠周数与宫内 HBV 感染无相关性, 而 HBsAg 和 HBeAg 阳性或外周血高水平 HBV DNA 与新生儿发生宫内感染相关。然而, 宫内感染的机制至今仍未解释清楚; 部分相关的研究认为, HBV 宫内感染与妊娠早期不成熟胎盘或分娩期子宫收缩造成的胎盘泄漏高度相关, 胎盘在 HBV 宫内感染中发挥重要作用<sup>[9-12]</sup>。同时, 也有研究发现, HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 可以分布在所有胎盘细胞层中, HBV 感染率从胎盘母体面到胎盘胎儿面逐渐降低<sup>[7]</sup>, 表明 HBV 感染胎盘组织可能是通过细胞层层传播的方式进行, 其发现或许可以用来解释本研究采集的绒毛组织中为什么存在 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA, 但它们的存在是否影响胎儿后期的发育, 或者说与孕妇流产是否相关还有待研究证实。

此外, 在本研究中, 有部分血液 HBV DNA 阳性孕妇的绒毛组织检测阴性, 其原因可能是母亲病毒载量处于较低水平, 或者是 HBV 传播中需要的一些受体, 如 FcγR III 由于个体遗传差异而无法在胎盘的细胞层上表达<sup>[13]</sup>。本研究采用免疫组化的方法可以在部分绒毛组织中定位检测到 HBsAg 和 HBeAg 的表达, 但免疫组化结果显示被排除的假阳性样本中有部分是母体蜕膜组织呈 HBsAg 阳性, 从侧面反映出有可能存在母体组织的污染, 造成 qRT-PCR 检测的阳性率偏高。应用 qRT-PCR 方法和免疫组化技术, 可检测绒毛组织中与感染 HBV 相关指标的表达, 但 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 是如何从母体进入胎儿绒毛组织中值得进一步去探讨。

妊娠期乙型肝炎研究是完成母婴零传播工程项目的一个重要机遇。通过研究妊娠期胎儿发生感染的途径、机制和风险因素, 有助于母亲选择恰当的怀孕时机和合适的抗病毒治疗方式, 从而减少 CHB 的流行。

**作者贡献声明** 彭婷婷、王森: 采集数据、实施研究; 陈凤: 统计分析; 喻宏、苟继周、孙炎: 指导实验; 杨敏、黄华鑫、崔璐、蔡秋娥、王强: 实验操作技术指导; 陈楚明、刘映霞: 设计指导、经费支持

#### 参考文献

- [1] Lampertico P, Agarwal K, Berg T, et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2017, 67(2): 370-398. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
- [2] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 cause of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. Lancet, 2012, 380(9859): 2095-2128. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
- [3] Zou H, Chen Y, Duan Z, et al. Virologic factors associated with failure to passive-active immunoprophylaxis in infants born to HBsAg-positive mothers[J]. J Viral Hepat, 2012, 19(2): e18-25. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01492.x.
- [4] Pan CQ, Duan Z, Dai E, et al. Tenofovir to prevent hepatitis B transmission in mothers with high viral load[J]. N Engl J Med, 2016, 374(24): 2324-2334. DOI: 10.1056/NEJMoa1508660.
- [5] Liu Y, Wang M, Yao S, et al. Efficacy and safety of telbivudine in different trimesters of pregnancy with high viremia for interrupting perinatal transmission of HBV[J]. Hepatol Res, 2016, 46(3): E181-E188. DOI: 10.1111/hepr.12525.
- [6] Liu Y, Hussain M, Wong S, et al. A Genotype-Independent Real-Time PCR Assay for Quantification of Hepatitis B Virus DNA[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(2): 553-558. DOI: 10.1128/JCM.00709-06.
- [7] Chen Y, Wang L, Xu Y, et al. Role of maternal viremia and placental infection in hepatitis B virus intrauterine transmission[J]. Microbes Infect, 2013, 15(5): 409-415. DOI: 10.1016/j.micinf.2013.02.008.
- [8] Ye F, Jin Y, Kong Y, et al. The presence of HBV mRNA in the fertilized in vitro embryo of HBV patients confirms vertical transmission of HBV via the ovum[J]. Epidemiol Infect, 2013, 141(5): 926-930. DOI: 10.1017/S0950268812001690.
- [9] Lin HH, Lee TY, Chen DS, et al. Transplacental leakage of HBeAg-positive maternal blood as the most likely route in causing intrauterine infection with hepatitis B virus[J]. J Pediatr, 1987, 111(6Pt1): 877-881.
- [10] Lucifora G, Calabro S, Carroccio G, et al. Immunocytochemical HBsAg evidence in placentas of asymptomatic carrier mothers[J]. Am J Obstet Gynecol, 1988, 159(4): 839-842.
- [11] Bhat P, Anderson DA. Hepatitis B virus translocates across a trophoblastic barrier[J]. J Virol, 2007, 81(13): 7200-7207. DOI: 10.1128/JVI.02371-06.
- [12] Elefsiniotis IS, Tsoumakas K, Papadakis M, et al. Importance of maternal and cord blood viremia in pregnant women with chronic hepatitis B virus infection[J]. Eur J Intern Med, 2011, 22(2): 182-186. DOI: 10.1016/j.ejim.2010.12.005.
- [13] Xu DZ, Yan YP, Zou S, et al. Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(4): 981-987. DOI: 10.1067/mob.2001.117968.

(收稿日期: 2018-07-16)

(本文编辑: 唐浏英)