

外周血雌激素受体、NLR 与 HBV 感染孕妇病毒载量的关系

朱伟华, 韦德华, 王丽娜

濮阳市人民医院妇产科, 河南 濮阳 457000

摘要: 目的 探讨外周血雌激素受体(estrogen receptor, ER)、中性粒细胞与淋巴细胞绝对值比值(neutrophils lymphocytes ratio, NLR)与 HBV 感染孕妇病毒载量的关系。方法 选取 2017 年 1 月—2019 年 7 月濮阳市人民医院 HBV 感染中晚期孕妇 118 例作为研究对象,根据慢性乙肝活动情况分为肝功能异常组 76 例、肝功能正常组 42 例。检测对比两组孕妇 HBV-DNA 载量、外周血 ER α 、ER β 、NLR 水平及肝功能指标水平,分析外周血 ER α 、ER β 、NLR 及肝功能指标与孕妇病毒载量关联性。结果 肝功能异常组孕妇外周血 ER α 、ER β 低于肝功能正常组, NLR、HBV-DNA 载量、ALT、AST 高于肝功能正常组($P < 0.05$); HBV 感染孕妇孕晚期外周血 ER α 、ER β 与 HBV-DNA 载量、ALT、AST 呈负相关, NLR 与 HBV-DNA 载量、ALT、AST 呈正相关($P < 0.05$); 多元线性回归亦证实: ER α 、ER β 和 HBV 感染孕妇病毒载量为负向关联影响关系, NLR、ALT 和 HBV 感染孕妇病毒载量为正向关联影响关系。结论 外周血 ER α 、ER β 、NLR 与 HBV 感染孕妇 HBV-DNA、肝功能具有密切相关性,有助于为临床评估中晚期孕妇 HBV 感染情况提供重要参考。

关键词: 孕妇; 乙型肝炎病毒; 雌激素受体; 中性粒细胞与淋巴细胞绝对值比值; 病毒载量; 肝功能

中图分类号: R512.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2021)01-0074-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.01.018

我国是 HBV 感染大国, HBV 携带者达 1.2 亿以上, 占总人口的 10%~20%, 而育龄妇女慢性 HBV 感染率达 8.27%, 已成为影响母婴健康的重要影响因素^[1-3]。近年来研究显示, 雌激素在 HBV 感染的进展中起着重要的作用, 其主要通过与雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合增强体液免疫, 起到控制病情进展的作用, 可能是 HBV 感染者肝细胞肝癌发生的保护性因素^[4]。此外, 中性粒细胞与淋巴细胞绝对值比值(neutrophils lymphocytes ratio, NLR)为目前反映机体炎症状态的重要指标, 已有研究证实其在病毒性肝脏疾病的进展及预后评估方面具有重要价值^[5-6]。基于此, 本研究综合分析外周血 ER、NLR 与 HBV 感染孕妇 HBV-DNA 载量、慢性乙肝活动的关系, 旨在为临床治疗 HBV 感染孕妇提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取濮阳市人民医院 2017 年 1 月—2019 年 7 月期间接收的 118 例 HBV 感染孕妇为研究对象, 均在该院进行完整产前检查, 根据慢性乙肝活动情况分肝功能异常组(76 例)和肝功能正常组(42 例)。本研究经该院伦理委员会审批通过。

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(2018062362)

作者简介: 朱伟华(1979-), 女, 河南濮阳人, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 围产医学。

通信作者: 韦德华, E-mail: zhaohhan5@163.com。

1.2 选例标准 纳入: ①符合 HBV 感染诊断标准^[7]; ②HBsAg 阳性持续时间>6 个月; ③孕周为中晚期; ④孕早期产前检查肝功能正常; ⑤无妊娠期糖尿病、高血压等并发症; ⑥年龄 ≤ 35 岁; ⑦孕妇及家属知晓本研究, 已签署同意书。排除: ①恶性肿瘤患者; ②血液系统疾病患者; ③近 6 个月内进行抗病毒治疗者; ④未能定期进行产前检查者; ⑤合并其他肝炎病毒感染及肝脏疾病者; ⑥长期应用免疫抑制剂或激素者; ⑦因产妇生理状态而致肝功能异常者。

1.3 方法 所有 HBV 感染孕妇入组时均采集空腹状态下外周静脉血 5 ml, 进行肝功能指标、HBV-DNA 载量、外周血 ER α 、ER β 及 NLR 检测: ①肝功能指标: 包括天门冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT), 取外周静脉血标本, 离心处理(离心半径 8 cm, 转速 3 000 r/min, 时间 10 min)后取血清, 采用 MAGLUMI1000 化学发光仪(深圳市新产业生物医学工程有限公司生产), 以化学发光法测定血清 ALT、AST 水平。②HBV-DNA 载量: 取血清标本采用 7300 型实时荧光定量 PCR 系统(美国应用生物系统公司)进行基因扩增, 测定 HBV-DNA 载量。③外周血 ER α 、ER β 及 NLR: 取外周静脉血标本, 于 2 h 内采用 Ficoll 密度梯度离心法分离提取外周血单个核细胞, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定外周血 ER α 、ER β 水平; 采用 Sysmex XE-5000 五分类全自动血细胞分析仪与配套

试剂检测其中性粒细胞值及淋巴细胞值,计算 NLR。以上操作均由专业人员严格按照规范进行。

1.4 统计学分析 数据处理采用 SPSS 22.0 软件进行分析,计数资料采用例数(%),采用 χ^2 检验,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较为两独立样本 t 检验。外周血 ER α 、ER β 、NLR 与 HBV-DNA 载量相关性以及与肝功能指标的相关性分析采用 Pearson 相关检验。关联影响因素的综合分析为多元线性回归(最优子集法),检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 肝功能正常组与异常组孕妇一般情况比较 两组一般资料(体质量、年龄、孕次、孕周)差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料比较

项目	肝功能异常组 (<i>n</i> = 76)	肝功能正常组 (<i>n</i> = 42)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	26.51 \pm 3.19	27.08 \pm 3.02	0.947	0.346
体质量(kg, $\bar{x}\pm s$)	55.29 \pm 3.61	56.18 \pm 3.50	1.296	0.198
孕次(次, $\bar{x}\pm s$)	1.68 \pm 0.33	1.72 \pm 0.35	0.617	0.539
孕周(周, $\bar{x}\pm s$)	27.35 \pm 1.26	26.96 \pm 1.45	1.525	0.130
经产情况(<i>n</i> ,%)				
初产妇	34(44.74)	20(47.62)	0.091	0.763
经产妇	42(55.26)	22(52.38)		
户籍所在地(<i>n</i> ,%)				
农村	39(51.32)	23(54.76)	0.129	0.720
城市	37(48.68)	19(45.24)		

2.2 两组孕妇外周血 ER α 、ER β 水平比较 肝功能异常组孕期外周血 ER α 、ER β 低于肝功能正常组,NLR 高于肝功能正常组($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组外周血 ER α 、ER β 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	ER α ($\times 10^5$)	ER β ($\times 10^5$)	NLR
肝功能异常组	76	47.25 \pm 5.58	22.04 \pm 6.84	4.87 \pm 0.81
肝功能正常组	42	52.83 \pm 6.39	46.37 \pm 14.11	4.04 \pm 0.72
<i>t</i> 值		4.936	10.513	5.539
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.2 两组孕妇 HBV-DNA 载量、肝功能指标 肝功能异常组孕期 HBV-DNA 载量、ALT、AST 高于肝功能正常组($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组孕期 HBV-DNA 载量、肝功能指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HBV-DNA 载量($\times 10^5$ IU/mL)	ALT(U/L)	AST(U/L)
肝功能异常组	76	7.02 \pm 1.83	30.01 \pm 9.36	34.32 \pm 11.27
肝功能正常组	42	2.48 \pm 1.05	18.40 \pm 6.07	21.09 \pm 7.01
<i>t</i> 值		17.121	8.149	7.849
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.3 外周血 ER α 、ER β 、NLR 与 HBV-DNA 载量相关性 Pearson 相关性分析,HBV 感染孕妇孕期外周血

ER α 、ER β 与 HBV-DNA 载量呈负相关,NLR 与 HBV-DNA 载量呈正相关($P<0.05$),见表 4。

表 4 外周血 ER α 、ER β 、NLR 与 HBV-DNA 载量相关性

指标		ER α	ER β	NLR
HBV-DNA 载量	<i>r</i> 值	-0.429	-0.712	0.502
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 外周血 ER α 、ER β 、NLR 与肝功能指标相关性 Pearson 相关性分析,HBV 感染孕妇孕期外周血 ER α 、ER β 与 ALT、AST 呈负相关,NLR 与 ALT、AST 呈正相关($P<0.05$),见表 5。

表 5 外周血 ER α 、ER β 、NLR 与肝功能指标关联性

指标		ALT	AST
ER α	<i>r</i> 值	-0.545	-0.422
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001
ER β	<i>r</i> 值	-0.517	-0.580
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001
NLR	<i>r</i> 值	0.426	0.542
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

2.5 外周血雌激素受体、NLR 与 HBV 感染孕妇病毒载量多元线性回归分析 进一步行多元线性回归,回归样本为本研究 118 例 HBV 感染孕妇。以 HBV-DNA 载量为应变变量,ER α 、ER β 、NLR、ALT 为自变量(未纳入 AST,因其和 ALT 有较强的共线作用)。结果 4 个自变量均被纳入($P<0.05$),相关指数 $R^2=0.614$ 。由回归结果看,ER α 、ER β 和 HBV 感染孕妇病毒载量为负向关联影响关系,NLR、ALT 和 HBV 感染孕妇病毒载量为正向关联影响关系,见表 6。

表 6 外周血雌激素受体、NLR 与 HBV 感染孕妇病毒载量的多元线性回归结果

指标	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	95% <i>CI</i>
常数	0.0139	0.0056	2.482	0.015	0.003~0.025
ER α	-0.210	0.065	-3.231	0.002	-0.339~-0.081
ER β	-0.541	0.120	-4.508	0.000	-0.779~-0.303
NLR	0.224	0.095	2.358	0.020	0.036~0.412
ALT	0.334	0.121	2.783	0.006	0.096~0.572

3 讨论

目前,临床关于 HBV 感染孕妇母婴阻断方面的研究较多,针对孕期肝炎活动的研究较少。国内最新研究指出,慢性乙型肝炎孕妇中,妊娠期肝功能异常发生率为 6%^[8]。国外学者 Kushner 等^[9]2017 年开展的一项调查纳入 388 例慢性乙型肝炎孕妇,发现孕期及产后分别有 14%和 16%孕产妇发生肝功能异常。因此,HBV 感染孕妇妊娠期加强肝功能监测,必要时开展针对性治疗,对改善围产期结局及预后具有重要意义。

相关研究指出,HBV 感染孕妇妊娠期发生肝功能异常的机制可能与生理需求、免疫激活有关,二者均可加重肝脏负担及功能损伤^[10-11]。近年来,雌激素在

HBV 感染孕妇中的作用越来越受临床重视,杨士田等^[12]文献报道显示,ER 的基因多态性与 HBV 相关的肝癌的发生和发展进程相关。ER 属于类固醇激素受体超家族,普遍存在于多种免疫细胞表面,包括 ER α 、ER β 两个亚型,分别定位于染色体 6p24 和染色体 14p22-24,可介导不同靶组织的雌激素生理效应,影响雌激素生理功能的发挥,在机体的生殖发育系统、代谢系统等多个系统中发挥作用^[13]。当机体发生 HBV 感染后,雌激素与 ER 结合,通过增强体液免疫对 HBV 的复制及蛋白表达进行调控,发挥控制病情的作用^[14]。此外,ER 不仅能调控机体 Th1/Th2 的平衡,还可调控 Th17 细胞及 Treg 细胞,起到纠正机体免疫功能平衡的作用^[15-16]。本研究结果中,肝功能异常的 HBV 感染孕妇外周血 ER α 、ER β 低于肝功能正常孕妇,进一步经 Pearson 相关性分析发现,HBV 感染孕妇孕期外周血 ER α 、ER β 与 HBV-DNA 载量、ALT、AST 呈负相关,充分表明肝功能异常的 HBV 感染孕妇外周血 ER α 、ER β 表达异常降低,与孕妇 HBV-DNA 载量增加及肝功能异常密切相关。

近年来,NLR 作为一种新发现的炎症反应指标,是自白细胞分类中计算获取的一种亚临床炎症指标,在炎症反应、恶性间皮瘤的发生发展过程中,均发挥重要促进作用^[17-18]。王晓明等^[19]研究指出,NLR 在慢性乙肝患者外周血中的表达显著升高,在肝硬化诊断及评估中具有重要应用价值。本研究结果发现,肝功能异常组孕期外周血 NLR 显著高于肝功能正常组,且 NLR 与 HBV-DNA 载量、ALT、AST 呈正相关,充分表明 HBV 感染孕妇外周血 NLR 水平与 HBV-DNA、肝功能具有密切相关性,分析其原因可能在于:中性粒细胞作为人体免疫系统的天然免疫细胞,其含量增加可引起细胞因子、黏附因子、脂类炎症介质、氧自由基等炎症介质分泌增加,可加重肝损伤,而淋巴细胞具有调节机体免疫及防御功能的作用,其含量降低导致机体对 HBV 防御功能降低,从而引起 HBV-DNA 载量增加,促进肝功能损伤^[20-21]。本研究进一步经多元线性回归分析发现,外周血 ER α 、ER β 、NLR 以及 ALT,均和 HBV-DNA 载量有显著的关联影响关系,可能均为 HBV 感染孕妇孕期慢性乙肝活动的重要影响因素,可作为评估 HBV 感染孕妇孕期慢性乙肝活动的重要指标,但其具体评估价值尚未明确,有待日后进一步深入探究。

参考文献

[1] 里进,李一荣.高灵敏度 HBV DNA 临床检测应用现状及发展趋势[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(5):422-427.

- [2] Peiffer KH, Sommer L, Susser S, et al. Correlation of hepatitis B virus genomic variants with HBsAg titers and HBV-DNA levels in a large European study cohort of patients with chronic hepatitis B [J]. J Hepatol, 2017, 66(1): S248.
- [3] 姜泽升,文智慧,孙剑.2015—2017 年湖南省宁乡市孕产妇预防艾滋病、梅毒和乙肝母婴传播项目实验室检测结果分析[J].实用预防医学,2020,27(1):122-124.
- [4] 周宁,张月荣,魏世芳,等.雌激素受体 α -29 位基因多态性与 HBV 相关原发性肝癌易感性的关系[J].临床肝胆病杂志,2015,31(2):240-243.
- [5] 贾维建,陈锦泉,朱春然.早期中性粒细胞与淋巴细胞比值的变化在预测脑出血预后评估中的价值[J].中华生物医学工程杂志,2019,25(2):243-247.
- [6] 王少虎,曹毅,张浩洋,等.中性粒细胞与淋巴细胞比值和预后营养指数对乙肝相关性肝癌切除的预后意义[J].中华普通外科杂志,2017,32(5):433-437.
- [7] American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee opinion No.655: hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus infections in obstetrician-gynecologists [J]. Obstet Gynecol, 2016, 127(2): e70-e74.
- [8] Chang HY, Aziz N, Poongkunran M, et al. Serum alanine aminotransferase and hepatitis B DNA flares in pregnant and postpartum women with chronic hepatitis B [J]. J Clin Gastroenterol, 2018, 52(3): 255-261.
- [9] Kushner T, Shaw PA, Kalra A, et al. Incidence, determinants, and outcomes of pregnancy-associated hepatitis B flares: a regional hospital-based cohort study [J]. Liver Int, 2017, 38(5): 813-820.
- [10] 阮晨鸣,周健,单震丽,等. HBV 感染高病毒载量孕妇产期及产后肝炎活动情况[J].现代妇产科进展,2018,27(6):61-64.
- [11] 张淑萍,李宝来,王欣.产妇合并不同 HBV 感染模式产后血清、唾液及乳汁 HBV-DNA 载量测定的意义及相关性分析[J].中国妇幼保健,2019,34(9):1974-1977.
- [12] 杨士田,韩聚强,王亚东,等.雌激素及其受体与乙型肝炎病毒相关肝癌[J].中华肝脏病杂志,2019,27(3):232-235.
- [13] 褚婧,潘斌,黄鹏玉,等.人良性前列腺增生组织性激素相关受体 ER α 、ER β 、GPR30、AR 的表达及其与前列腺增生的关系[J].山东医药,2019,59(22):20-23.
- [14] Luo XL, Tan WT, Zhou Y, et al. Expression of estrogen receptors α and β in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and clinical significance [J]. J Third Mil Med Univ, 2014, 36(6): 564-567.
- [15] 郭凯,王永传,严周英,等.雌激素受体亚型 ER- α 和 ER- β 在前列腺癌组织中表达的研究[J].中国男科学杂志,2019,33(3):14-18.
- [16] 赵金芳. DSS 慢性肠炎中 ER β 具有抗炎作用及其机制探讨[D].武汉:华中科技大学,2016.
- [17] Ringel-Scaia VM, McDaniel DK, Allen IC. The goldilocks conundrum: NLR inflammasome modulation of gastrointestinal inflammation during inflammatory bowel disease [J]. Crit Rev Immunol, 2017, 36(4): 283-314.
- [18] Duchesne JC, Tatum D, Jones G, et al. Multi-institutional analysis of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with severe hemorrhage: a new mortality predictor value [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2017, 83(5): 888-893.
- [19] 王晓明,郭平,殷剑,等.中性粒细胞/淋巴细胞比值在原发性胆汁性肝硬化中的诊断意义分析[J].安徽医药,2018,22(9):1729-1732.
- [20] Zhao Z, Liu J, Wang J, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) are associated with chronic hepatitis B virus (HBV) infection [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 17(51): 1-8.
- [21] Ozyurek BA, Ozdemirel TS, Ozden SB, et al. Prognostic value of the neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in lung cancer cases [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(5): 1417-1421.

收稿日期:2020-05-18