

肾移植受者 BK 病毒感染及其危险因素的单中心研究

费爽, 黄正楷, 周万里, 陈浩, 陶俊, 韩志坚, 谭若芸*, 顾民*

(南京医科大学第一附属医院泌尿外科, 江苏 南京 210029)

[摘要] **目的:** 探究肾移植受者术后 BK 病毒感染发生率并分析肾移植术后 BKV 感染的相关危险因素。 **方法:** 回顾性分析 2014 年 12 月—2015 年 12 月在南京医科大学第一附属医院接受同种异体肾移植术的 157 例受者资料, 根据受者血清和尿液中 BKV-DNA 拷贝数量的不同将研究对象分为正常组、BK 病毒血症组、BK 病毒尿症组, 统计各组对象的年龄、性别、肾脏原发病、透析类型、免疫抑制方案、移植肾功能延迟恢复(delayed graft function, DGF)、HLA 错配、群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)、急性排斥反应、免疫诱导方案、术后 3 个月内皮质类固醇用量和术后肺部感染等相关资料, 利用 Logistic 回归模型分析 BKV 感染的相关危险因素。 **结果:** 157 例肾移植受者中, BK 病毒血症发生率为 11.46%(18 例), BK 病毒尿症发生率为 35.03%(55 例)。另外, 确诊 1 例 BK 病毒相关性肾病(BK virus associated nephropathy, BKVAN), 发生率为 0.63%。单因素分析结果示免疫抑制方案 ($P=0.031$) 和术后 3 个月内皮质类固醇用量 ($P=0.037$) 与 BK 病毒尿症的发生相关, 而多因素分析结果亦显示免疫抑制方案 ($P=0.041$, OR=2.146) 及术后皮质类固醇用量总量 ($P=0.042$, OR=1.739) 与 BK 病毒尿症的发生具有相关性。 **结论:** 本中心研究结果显示 BK 病毒尿症较 BK 病毒血症发生率高, 但确诊为 BKVAN 仅为 1 例。术后应用以他克莫司为主的免疫抑制剂方案和术后 3 个月内皮质类固醇用量是肾移植术后受者 BK 病毒尿症发生的相关危险因素。

[关键词] 肾移植; BK 病毒; BK 病毒相关性肾病; 危险因素**[中图分类号]** R692**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2017)05-0588-05**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170514

A single-center epidemiological study of BK virus infection incidence and analysis of risk factors in renal transplantation recipients

Fei Shuang, Huang Zhengkai, Zhou Wanli, Chen Hao, Tao Jun, Han Zhijian, Tan Ruoyun*, Gu Min*

(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the incidence of BK virus (BKV) infection in renal transplanted recipients and analyze the risk factors of BKV infection. **Methods:** By measuring BKV DNA loads in urine and blood samples of the patients, 157 renal transplanted recipients who had received renal transplantation in our hospital from Dec. 2014 to Dec. 2015 were divided into 3 groups: BK viruria group, BK viremia group and normal group. Data of each group was then recorded, including age, gender, kidney primary disease, type of dialysis, preoperative immune induction therapy, delayed recovery of graft function(DGF), HLA mismatch, acute rejection, dosage of postoperative corticosteroid, postoperative immunosuppressive regimen, postoperative pulmonary infection, et al. The risk factors of postoperative BKV infection were analyzed by logistic regression. **Results:** It was found that the incidence of BKV viruria was 35.03% (55 cases), that of BKV viremia was 11.46% (18 cases), and that of BKVAN was 0.63% (1 case). Univariate analysis by Logistic regression analysis found that postoperative immunosuppressive regimen ($P=0.031$) and postoperative hormone dose ($P=0.037$) were significantly related to BKV viruria. Multivariate analysis by Logistic regression analysis found that postoperative immunosuppressive regimen ($P=0.041$, OR=2.146) and postoperative hormone dose ($P=0.042$, OR=1.739) were significantly related to BKV viruria. **Conclusion:** Incidence of BKV viruria was higher than that of BKV viremia. There was only one recipient diagnosed BKVAN. Postoperative immunosuppressive regimen and postoperative hormone dose may be the risk factors of BKV viruria.

[Key words] renal transplantation; BK virus; BK virus associated nephropathy; risk factors

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(05):588-592]

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570676, 81100532, 81470981); 江苏省“333”工程项目(BRA2015469); 江苏省“科教兴卫”工程医学重点人才培养资助项目(RC2011055); 江苏省“333 高层次人才培养工程”项目(2011, 2013); 江苏省“六大人才高峰”资助项目(2010WSN-56, 2011-WS-033); 江苏省卫生厅面上项目(H2009907)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: tanruoyun112@vip.sina.com; Lancetgu@aliyun.com

肾移植受者由于术后常规使用免疫抑制剂,免疫力低下,容易伴发各种感染。其中 BK 病毒(BK virus, BKV)感染会导致 BK 病毒尿症或者 BK 病毒血症,若未及时预防及治疗,可进一步发展为 BK 病毒相关性肾病(BK virus associated nephropathy, BKVAN),甚至会导致移植肾功能早期丧失^[1-5]。BKVAN 是肾移植术后严重的并发症之一,并且这种感染较少发生在其他实体器官移植。若能早期识别此类高危人群并相应调整免疫抑制强度可预防并提早治疗,从而提高移植人/肾存活率。但国内外对此尚未达成共识,目前仍是研究热点之一。所以本文回顾性研究肾移植术后 BKV 感染发生率;并进一步分析 BKV 相关危险因素,以期协助 BKV 相关感染的临床预防及治疗。

1 对象和方法

1.1 对象

2014 年 12 月—2015 年 12 月于本院泌尿外科行同种异体肾移植术的受者,共 157 例。所有研究对象均签署知情同意书,并获得南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准。淋巴毒细胞毒抗体实验(complement dependent cytotoxicity, CDC)均为阴性。受者的免疫抑制方案为环孢素(cyclosporine A, CSA)或他克莫司(tacrolimus, FK506)+霉酚酸酯(mycophenolate mofetil, MMF)+皮质类固醇。

1.2 方法

1.2.1 BKV-DNA 定量检测

实时荧光定量聚合酶链反应检测肾移植受者尿液或者血液中 BKV-DNA 载量是目前主要诊断 BKV 感染的方法^[6]。方法概括:留取受者空腹晨尿 20 mL,3 000 g 离心 15 min 后,倒去上清,吸取沉渣液 200 μ L。同时采外周血 2 mL,以 2 000 g 离心 5 min,吸取血浆 200 μ L。应用 BKV 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法,北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司)检测 BKV-DNA 载量。本研究将血液 BKV-DNA 载量 $>1\times 10^4$ 拷贝数/mL 定义为 BK 病毒血症,尿液 BKV-DNA 载量 $>1\times 10^7$ 拷贝数/mL 定义为 BK 病毒尿症。

1.2.2 HE 染色及免疫组织化学染色

标本经甲醛固定、石蜡包埋后切片,其中一部分行常规 HE 染色,另一部分做 SV-40 大 T 抗原的免疫组化。石蜡包埋后连续切片,常规脱蜡、水化后,柠檬酸缓冲液(0.01 mol/L, pH6.0)抗原修复。一抗经稀释 1 000 倍后,40 $^{\circ}$ C 孵育过夜, PBS 洗 3 次。二抗稀

释 1 500 倍后,室温下孵育 30 min, PBS 洗 3 次, DAB 显色,显微镜下观察,合适时终止。苏木素复染 1 min,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.2.3 BKVAN 诊断标准及分期

移植肾活检是诊断 BKVAN 的金标准,尤其是对血肌酐无明显诱因升高并且 BK 病毒血症阴性的受者^[7]。使用 SV40 大 T 抗原的交叉抗体进行免疫组织化学(免疫组化)染色或利用特异性的 BKV DNA 探针进行原位杂交,检测到 BKV,即可确诊 BKVAN。根据免疫组化结果。可将 BKVAN 分为 3 期:A 期皮髓质交界处细胞核内免疫组化或者原位杂交阳性,无或轻微的间质性炎症、肾小管萎缩和间质纤维化;B 期较 A 期炎症反应明显加重,肾小管基底膜剥落和间质水肿,轻度至中度肾小管萎缩和间质纤维化;按照炎症和损伤程度又分为 B1 期(病变范围 $<25\%$)、B2 期(病变范围 $26\%\sim 50\%$)、B3 期(病变范围 $>50\%$);C 期病理表现为不可逆的肾小管萎缩和间质纤维化,病变程度 $>50\%$,伴严重的移植肾功能衰竭^[8]。

1.3 统计学方法

应用 SPSS13.0 软件分析数据。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。用 Logistic 回归分析进行单因素分析。为校正单因素分析各因素的混杂偏倚,采用 Logistic 回归分析进行多因素分析确定危险因素。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基本资料

本研究中共有 157 例受者,平均年龄为(38.79 \pm 9.72)岁,其中男 108 例,平均年龄为(38.83 \pm 9.89)岁;女 49 例,平均年龄为(39.28 \pm 9.45)岁;移植时间平均为(21 \pm 30)个月,其中男(21 \pm 28)个月,女(23 \pm 35)个月(表 1)。

2.2 术后 BK 病毒尿症及 BK 病毒血症的发生情况

通过对 157 例受者的 BKV 检测分析,结果显示 BK 病毒尿症者为 55 例,发生率为 35.03%;BK 病毒血症者为 18 例,发生率为 11.46%;其中 1 例经移植肾活检证实为 BKVAN。

2.3 肾移植受者 BKV 感染危险因素分析

2.3.1 3 组受者相关危险因素单因素分析

单因素分析提示, BK 病毒尿症发生与正常组受者术后 3 个月内皮质类固醇用量、免疫抑制方案有相关性($P<0.05$, 表 2);而与年龄、性别、肾脏原发

表 1 157 例肾移植受者病例资料

Table 1 General information of 157 renal transplanted recipients

因素	BK 病毒尿症组	BK 病毒血症组	正常组
例数	55	18	95
年龄(岁)	39.05±9.59	37.17±10.02	39.08±9.67
性别			
男	36	11	69
女	19	7	26
平均移植时间(月)	17	13	24
移植次数			
1	55	18	94
2	0	0	1
术后 3 个月皮质类固醇用量(mg)	2 517.04±786.55	1 840.68±1 364.45	2 623.61±900.17
免疫抑制方案			
FK506+MMF	33	13	73
CSA+MMF	22	5	22
急性排斥反应			
有	13	3	36
无	42	15	59
原发病			
慢性肾小球肾炎	53	17	82
高血压肾病	1	1	0
糖尿病肾病	0	0	1
多囊肾	1	0	1
DGF			
有	3	1	4
无	52	17	91
术后肺部感染			
有	18	7	33
无	37	11	62
透析类型			
血液透析	44	14	72
腹膜透析	11	4	23
群体反应性抗体			
阳性	24	9	49
阴性	31	9	46
HLA 错配			
0~3	7	1	11
4~6	48	17	84
免疫诱导方案			
抗胸腺细胞球蛋白	1	0	3
巴利昔单抗	54	18	92

病、透析类型、移植肾功能延迟性恢复、人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)错配、群体反应性抗体(PRA)、免疫诱导方案、急性排斥反应、术后肺部感染则无相关性($P>0.05$)。而 BK 病毒血症的发生与上述因素均无相关性($P>0.05$, 表 3)。

表 2 BK 病毒尿症相关单因素危险分析

Table 2 Single factor Logistic regression for BK viruria

因素	P 值	OR 值(95%可信区间)
年龄	0.959	0.999(0.965~1.034)
性别	0.356	0.714(0.349~1.461)
术后皮质类固醇用量	0.037	0.567(0.333~0.965)
免疫抑制方案	0.031	0.452(0.220~0.929)
急性排斥反应	0.075	0.507(0.240~1.071)
原发病	0.873	0.937(0.420~2.088)
DGF	0.710	1.338(0.288~6.216)
术后肺部感染	0.862	0.939(0.464~1.903)
HLA 错配	0.758	0.978(0.849~1.126)
透析类型	0.363	0.710(0.340~1.483)
群体反应抗体	0.232	0.659(0.332~1.307)
免疫诱导方案	0.628	0.568(0.058~5.597)

表 3 BK 病毒血症相关单因素危险分析

Table 3 Single factor Logistic regression for BK viremia

因素	P 值	OR 值(95%可信区间)
年龄	0.442	0.979(0.929~1.033)
性别	0.328	0.592(0.207~1.691)
术后皮质类固醇用量	0.199	0.999(0.999~1.000)
免疫抑制方案	0.674	0.784(0.252~2.441)
急性排斥反应	0.094	0.328(0.089~1.211)
原发病	0.999	0.000
DGF	0.800	1.338(0.141~12.718)
术后肺部感染	0.736	1.196(0.424~3.374)
HLA 错配	0.983	1.002(0.808~1.243)
透析类型	0.688	0.801(0.271~2.367)
群体反应抗体	0.659	0.796(0.288~2.197)
免疫诱导方案	0.999	0.000

2.3.2 BK 病毒尿症相关危险因素的 Logistic 回归模型多因素分析

进一步进行多因素分析显示, BK 病毒尿症的发生与免疫抑制方案($P=0.041$, $OR=2.146$)、术后皮质类固醇用量总量($P=0.042$, $OR=1.739$)密切相关(表 4)。

2.4 BKVAN 受者的临床及病理表现

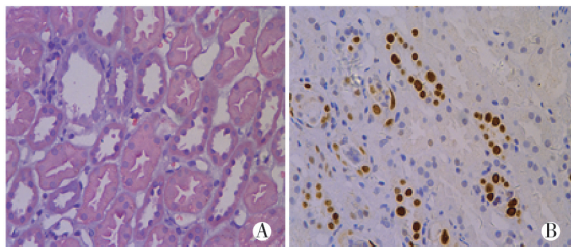
所有 BKV-DNA 载量超过 1×10^8 拷贝数/mL 的受者接受移植肾组织学检查, 只有 1 例受者证实为 BKVAN, 该受者病理分期为 B 期。其尿液和血液样

表 4 BK 病毒尿症多因素相关性分析

Table 4 Multi-factor Logistic regression for BK viraemia

因素	偏回归系数	P 值	OR 值(95%可信区间)
术后皮质类固醇用量	0.553	0.042	1.739(1.020~2.966)
免疫抑制方案	0.763	0.041	2.146(1.031~4.465)

本中 BKV DNA 均为阳性, 占有检测者 0.63%。病理学检查结果如图 1 所示。该受者电镜下观察可见灶性肾小管上皮细胞肿胀、颗粒样变性、空泡样变性, 点状小管上皮细胞坏死、脱落, 可见小管炎(+), 肾小管细胞肿胀变形, 从上皮层被挤入管腔内, 肾小管炎症表现(可见多核巨细胞浸润), 肾小管萎缩, 间质大量炎性细胞浸润(大量浆细胞、淋巴细胞、单核细胞), 间质纤维化, 肾小管上皮细胞核内无定形, 嗜碱性毛玻璃样病毒包涵体(图 1A)。免疫组织化学染色: 肾小管上皮细胞核着色。阳性着色呈局灶分布, 集中在远端肾小管和集合管(图 1B)。



A: 肾小管上皮细胞核增大, 核内见均质改变的包涵体(免疫组化, $\times 400$); B: SV40 抗原免疫组化染色部分肾小管上皮细胞核阳性(棕色)。

图 1 BKVAN 受者病理表现(免疫组化, $\times 400$)

Figure 1 Histological of BKVAN recipients

3 讨论

肾移植术后 BKV 感染后会侵袭移植肾, 造成肾小管间质性损伤, 可发生 BKVAN, 若未及时诊断及治疗, 会发展至移植肾失功甚至移植肾丢失^[9-13]。人们认识到 BKVAN 已成为影响肾移植受者远期存活和移植肾功能的重要因素之一。因此肾移植术后 BKV 早期监测以及 BKV 感染的防治极其重要。所以本中心对肾移植受者进行常规定期 BKV 监测, 了解本中心 BKV 感染发生率以及相关危险因素。

本中心关于肾移植受者 BKV 感染的流行病学研究发现: 病毒尿症、病毒血症、病毒相关性肾病的发生率分别为 35.03%、11.46%、0.63%, 与国外研究结果相似^[3]。

肾移植受者 BKV 感染发生的相关危险因素与

受者自身状态、BKV 本身的生物学特性有关^[3]。本中心研究结果显示免疫抑制方案和术后皮质类固醇用量总量与 BK 病毒尿症的发生相关。本研究结果显示以他克莫司为基础的免疫抑制方案是 BKV 感染的危险因素; 术后早期皮质类固醇用量总量越大, 受者术后 BK 病毒尿症发生的可能性越大。因而临床上对 BKV 感染高危的受者使用以环孢素为基础的免疫抑制方案, 或当受者出现 BK 病毒尿症时, 降低普乐可复用量或者将免疫抑制方案调整为以环孢素为基础的免疫抑制方案。术后早期尽可能减少皮质类固醇用量可以有效预防和治疗 BK 病毒尿症。本中心研究结果与国内外研究报道相似, 同时与目前 BKV 感染的治疗原则相一致^[14]。

同时, 本研究结果中并未发现与 BK 病毒血症的发生相关的危险因素。国外研究报道显示: 大量皮质类固醇治疗是导致 BKV 感染的主要因素; 他克莫司与霉酚酸酯联合应用与 BK 病毒血症的发生发展呈正相关, 他克莫司是 BKV 感染的独立危险因素, 环孢素则可以抑制 BKV 感染的进程^[13]。本研究结果的不同可能与 BK 病毒血症组样本量太小、钙调磷酸抑制剂与霉酚酸酯药物浓度比国外较低以及种族差异有关。BK 病毒血症发生的相关危险因素有待扩大样本量进一步分析。

BKVAN 在肾移植术后 1 年的发生率约为 8%, 若未予积极预防与治疗措施, BKVAN 受者在 5 年内移植肾失功的发生率高达 50%^[3]。Drachenberg 等^[15]提出 BKVAN 可分为 4 期: 早期—非炎症期; 结构破坏期—炎症期; 纤维化期; 晚期—硬化期。血浆 BKV—DNA 阳性是肾移植术后发生 BKVAN 独立的危险因素^[16]。本研究中仅确诊 1 例 BKVAN 受者, 该受者血浆 BKV-DNA 以及尿液 BKV-DNA 均阳性, 同时该受者使用免疫抑制方案为他克莫司+霉酚酸酯+皮质类固醇, 术后 3 个月内皮质类固醇用量 >3 g。临床上本中心将他克莫司为基础的免疫抑制方案调整为环孢素为基础的免疫抑制方案, 目前受者 BKV-DNA 定量降低同时肌酐逐渐下降。

综上所述, BKVAN 是肾移植术后的常见并发症之一, 如何降低其发生率, 始终是围绕医学界的一个重要问题。BKV 感染在一般人群中普遍存在, 但没有特效抗病毒药物, 因此肾移植术后早期定期监测 BKV、早期诊断、早期尽量减少皮质类固醇用量以及选择合适的免疫抑制方案对预防 BKV 感染具有重要意义。当受者术后出现 BKV 感染时应尽早降低他克莫司用量或者将免疫抑制方案调整为以环孢

素为基础的免疫抑制方案。但准确评估肾移植受者移植后活动性 BKV 感染率, 筛选激活 BKV 和导致 BKV 感染相关性肾病的致病因素, 仍需要进一步大样本的长期研究。

[参考文献]

- [1] 杨晓勇,任亮,王玮,等.肾移植受者 BK 病毒感染的单中心回顾性研究[J].首都医科大学学报,2015,(03):459-464
- [2] 明英姿,魏伟,刘洪,等.肾移植与 BK 病毒感染[J].器官移植,2016,7(6):427-432
- [3] Harza M, Tacu D, Mitroi G, et al. Polyomavirus BK-associated nephropathy after kidney transplantation: a single-center retrospective analysis[J]. Romanian Journal of Morphology and Embryology =Revue roumaine de morphologie et embryologie, 2014, 55(1):123-128
- [4] Johnston O, Jaswal D, Gill JS, et al. Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: a systematic review[J]. Transplantation, 2010, 89(9):1057-1070
- [5] Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation interdisciplinary analyses and recommendations[J]. Transplantation, 2005, 79(10):1277-1286
- [6] Nankivell BJ, Renthawa J, Jeoffreys N, et al. Clinical utility of urinary cytology to detect BK viral nephropathy [J]. Transplantation, 2015, 99(8):1715-1722
- [7] Ruangkanhanasetr P, Pumchandh N, Satirapoj B, et al. Biopsy-proven Bk virus nephropathy without detectable Bk viremia in a one-year post-kidney transplant recipient [J]. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 2015, 46(4):657-661
- [8] Drachenberg CB, Hirsch HH, Papadimitriou JC, et al. Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: a prospective evaluation [J]. Transplantation, 2007, 84(3):323-330
- [9] Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated Nephropathy[J]. American Journal of Transplantation, 2010, 10(12):2615-2623
- [10] Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, et al. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients[J]. American Journal of Transplantation, 2005, 5(8):1926-1933
- [11] Alexander RT, Langlois V, Tellier R, et al. The prevalence of BK viremia and urinary viral shedding in a pediatric renal transplant population: a single-center retrospective analysis[J]. Pediatric Transplantation, 2006, 10(5):586-592
- [12] Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2003, 3(10):611-623
- [13] Girmanova E, Brabcova I, Bandur S, et al. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 120 Czech renal transplant recipients[J]. Journal of Medical Virology, 2011, 83(8):1395-1400
- [14] Prince O, Savic S, Dickenmann M, et al. Risk factors for polyoma virus nephropathy[J]. Nephrology, Dialysis, Transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association, 2009, 24(3):1024-1033
- [15] Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology[J]. American Journal of Transplantation, 2001, 1(4):373-381
- [16] Pham PT, Schaeferman J, Pham PC. BK virus infection following kidney transplantation: an overview of risk factors, screening strategies, and therapeutic interventions [J]. Curt Opin Organ Transplant, 2014, 19(4):401-412

[收稿日期] 2017-02-13

热烈祝贺《南京医科大学(自然科学版)》编辑部
荣获第四届江苏省科技期刊“金马奖”优秀团队奖!