

肾移植受者 BK 病毒感染情况分析

孔祥瑞¹ 李修彬¹ 孙玉洁¹ 张天宇² 肖漓¹ 石炳毅¹

¹解放军总医院第八医学中心器官移植研究室 北京市器官移植与免疫调节重点实验室, 北京 100091; ²解放军总医院第八医学中心国家卫生健康委肾脏移植质控中心, 北京 100091

通信作者: 肖漓, Email: xiaolilab309@163.com

【摘要】 目的 比较同时期亲属活体供肾移植(LD)受者与尸体供肾移植(DD)受者 BK 病毒的感染情况。方法 纳入 2015 年 1 月至 2019 年 8 月期间解放军总医院第八医学中心器官移植研究所实施的实体器官肾移植受者 911 例, 采用实时荧光定量 PCR 对肾移植受者尿液和外周血中的 BK 病毒 DNA 水平进行监测, 根据供体来源不同分为 LD 组 255 例和 DD 组 656 例; 比较 LD 组与 DD 组的 BK 病毒感染情况, 探讨不同来源的供体对肾移植受者 BK 病毒感染的影响。结果 所有研究对象 BK 病毒感染尿液检出率为 13.06% (119/911), 血液检出率为 2.96% (27/911); 肾移植术后 BK 病毒尿液检出率高于血液检出率 ($P < 0.000 1$); LD 组中 BK 病毒感染尿液检出率为 9.02% (23/255), 明显低于同期 DD 组的 14.63% (96/656), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.097, P = 0.012$); LD 组 BK 病毒感染血液检出率为 0.78% (2/255), 明显低于 DD 组的 3.81% (25/656), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.849, P = 0.007$)。结论 不同来源的实体器官肾移植受者 BK 病毒感染率差异较大, DD 来源的肾移植受者 BK 病毒感染的发生率较高。

【关键词】 肾移植; BK 病毒; 感染

基金项目: 北京市科技计划项目 (Z171100001017185)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200817-02404

Analysis of BK virus infection in kidney transplant recipients

Kong Xiangru¹, Li Xiubin¹, Sun Yujie¹, Zhang Tianyu², Xiao Li¹, Shi Bingyi¹

¹Beijing Key Laboratory of Immunology Regulatory and Organ Transplantation, Department of Organ Transplantation Institute, the 8th Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100091, China; ²The 8th Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Kidney Transplant Quality Control Center of National Health Commission, Beijing 100091, China

Corresponding author: Xiao Li, Email: xiaolilab309@163.com

【Abstract】 Objective To compare the infection of BK virus in the recipients of living donor(LD) kidney transplant and deceased donor(DD) kidney transplant. **Methods** A total of 911 recipients who underwent kidney transplantation in the Organ Transplantation Research Institute of the 8th Medical Center of the People's Liberation Army General Hospital from January 2015 to August 2019 were enrolled in this study. The DNA copies of BK virus in urine and peripheral blood of kidney transplant recipients were detected by real-time quantitative PCR. The patients were divided into LD group ($n=255$) and DD group ($n=656$). BK virus infection in recipients with DD kidney transplant were compared with that in recipients of LD kidney transplant. **Results** The BK virus positive rate in the urine of all subjects was 13.06% (119/911), and that in blood was 2.96% (27/911). The positive rate of BK virus in urine after kidney transplantation was significantly higher than that in blood ($P < 0.000 1$). The positive rate in urine was 9.02% (23 / 255) in LD group, which was significantly lower than that of 14.63% (96 / 656) in DD group in the same period ($\chi^2 = 5.097, P = 0.012$); The positive rate of BK virus infection in relatives group was 0.78% (2 / 255), which was significantly lower than that of 3.81% (25 / 656) in DD group ($\chi^2 = 5.849, P = 0.007$). **Conclusions** There was a significant difference in the infection rate of BK virus between the LD and DD group. The incidence of BK virus infection in kidney transplant recipients from DD was higher than that of from LD kidney transplant recipients.

【Key words】 Kidney transplantation; BK virus; Infection

Fund Program: Beijing Municipal Science and Technology Project (Z171100001017185)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200817-02404

随着器官移植技术的发展成熟和新型免疫抑制剂的不断出现,如何减少肾移植术后并发症的出现,有效延长移植肾的生存时间,成为移植工作者亟需解决的难题。BK病毒是一种无包膜的双链环状DNA病毒,属多瘤病毒家族成员,由BK病毒感染导致移植物功能受损,进展为BK病毒相关肾病(BK virus-associated nephropathy, BKVN)^[1]。研究显示,肾移植受者移植后第一年BKVN发生率在1%~10%,BKVN是导致移植物失功的重要原因之一,BK病毒血症可以预测BKVN的发生^[2]。尽管BK病毒感染是影响移植患者预后的重要因素,由于没有有效的抗病毒治疗可用于治疗BK病毒感染,因此最好的策略依赖于BKVN预防^[3]。这可以通过持续有效的监测尿液和血液样本中的BK病毒DNA载量来实现,然后在检测到明显的病毒复制时减少免疫抑制治疗^[4]。本研究对解放军总医院第八医学中心器官移植研究所911例肾移植患者的BK病毒DNA载量的监测情况进行了回顾性队列研究,为临床评估移植患者预后,防范BK病毒感染提供相关依据。

对象与方法

1. 病例来源:选取2015年1月至2019年8月期间解放军总医院第八医学中心器官移植研究所实施的实体器官肾移植受者911例作为研究对象,在术前及术后7、15、30、90、180、360 d,采用实时荧光定量PCR对肾移植受者尿液和外周血中的BK病毒DNA水平进行监测并记录检测结果,术后一年后每半年检测一次,对部分出现不明原因血清肌酐持续升高或体内BK病毒DNA载量较高的受者行移植肾穿刺活检病理检查。术前供、受体ABO血型均相同,所有肾移植受者群体反应性抗体(PRA)<10%,免疫诱导方案常规采用兔抗人胸腺免疫球蛋白(ATG)/抗人T细胞免疫球蛋白(ATG-Fresenius, ATG-F)或白细胞介素(IL)-25单克隆抗体,免疫抑制方案采用以钙调磷酸酶抑制剂(环孢素A/他克莫司)+抗代谢药物+皮质激素为基础的三联免疫抑制方案。本研究符合《赫尔辛基宣言》原则及相关伦理要求。

2. 仪器和试剂:采用德国QIAGEN公司Rotor-Gene Q实时荧光定量PCR仪扩增DNA并分析拷贝数,试剂采用BK病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法),购自北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司。

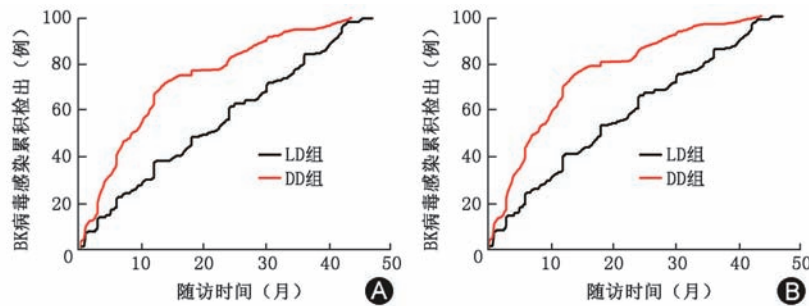
3. BK病毒DNA检测:按照试剂盒说明书要求收集研究对象外周血和尿液样本,对样本中BK病毒DNA载量进行实时荧光定量PCR检测,BK病毒DNA结果阳性判定标准为尿液或血液样本中BK病毒DNA载量 $>2 \times 10^3$ 拷贝数/ml(此为血、尿BK病毒阳性的最低阈值)。

4. 统计学方法:采用GraphPad Prism 5软件进行统计学处理,观察正态分布情况和方差齐性,符合正态分布的定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用例(%)表示;计量资料的两组数据比较采用 t 检验或非参数检验;定性资料使用 χ^2 检验;应用log-rank检验分析BK病毒感染的累积风险。双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结果

1. BK病毒感染情况:911例受者中男683例,女228例,年龄(41.9 \pm 18.6)岁。根据供体来源的不同分为亲属活体供肾移植受者组(简称LD组)和尸体供肾移植受者组(简称DD组)。LD组共计255例,其中男201例、女54例,年龄(38.0 \pm 10.7)岁;DD组656例,其中男482例、女174例,年龄(43.9 \pm 11.5)岁。所有研究对象BK病毒感染尿液检出率为13.06%(119/911),明显高于血液检出率2.96%(27/911),差异有统计学意义($P<0.0001$);LD组BK病毒感染尿液检出率为9.02%(23/255),明显低于同期DD组的14.63%(96/656),差异有统计学意义($\chi^2=5.097, P=0.012$);LD组BK病毒感染血液检出率为0.78%(2/255),明显低于DD组的3.81%(25/656),差异有统计学意义($\chi^2=5.849, P=0.007$)。

2. BK病毒感染发生率与肾移植术后时间的关系:如图1所示,LD组最长的观察时间为术后的1407 d,尿液中首次检测出BK病毒DNA为术后14 d,血液中首次检测出BK病毒DNA为术后438 d;



注:LD组为亲属活体供肾移植受者组;DD组为尸体供肾移植受者组

图1 不同来源供体的肾移植受者术后尿液(A)及外周血(B)BK病毒检出情况

DD组最长的观察时间为术后1308 d,尿液中首次检测出BK病毒DNA为术后11 d,血液中首次检测出BK病毒DNA为术后15 d,感染发生时间主要集中在术后1年;两组比较,DD组肾移植术后出现BK病毒血症的时间明显早于LD组($r=2.358, P<0.001$),DD组肾移植术后出现BK病毒尿症的时间明显早于LD组($r=2.440, P<0.001$)。

讨 论

BK病毒颗粒通过胞吞作用进入宿主细胞内,在健康人群中呈潜伏感染状态,初次感染一般无明显的临床症状^[5]。BK病毒的复制主要是对免疫功能受损或者抑制的患者造成伤害,肾移植受者使用免疫抑制剂后,免疫功能受到抑制,潜伏在尿路上皮和肾小管上皮的BK病毒开始激活、复制,引起肾小管上皮细胞坏死,病毒颗粒从尿路排泄进入尿液,在尿液中检测到BK病毒DNA即为BK病毒尿症,随后病毒大量复制后破坏肾小管毛细血管进入血液循环,此时在外周血中可检出BK病毒DNA即为BK病毒血症^[6];BK病毒在血液中持续高载量的表达,进而破坏移植肾组织,严重者导致BKVN,甚至出现移植物功能丢失^[7]。有文献报道,肾移植术后BK病毒感染率 $<30%$ ^[8],这与本研究结果一致。有研究显示,肾移植术后由于BK病毒感染进展呈BKVN而导致的移植肾功能丢失的发生率达到 $50%$ ^[3],现阶段临床上针对BKVN尚无特异性的治疗手段,因此常规监测肾移植受者血液和尿液中BK病毒DNA是预防BKVN的重要手段,早期发现并尽早干预对移植肾预后有着积极的作用。采用实时荧光定量PCR技术检测尿液和血液中BK病毒的载量,对BK病毒尿症、BK病毒血症具有一定的预测价值^[4,9]。

BK病毒尿症是BK病毒激活的标志,提示病毒

处于活动性感染状态。肾移植患者BK病毒活动性感染常见于免疫抑制最强烈的术后3个月内^[10],这与本研究结果一致。Hirsch等^[11]认为,BK病毒感染导致的肾炎持续存在与受者移植肾不可逆性失功能有关。随着免疫抑制剂的使用,移植植物短期存活率有了明显的提高,然而可以造成移植肾失功能的病毒感染问题也随之而来,病毒感染最终

可导致移植物的丢失。肾移植术后免疫抑制剂的使用是目前公认的能够增加BK病毒感染风险的因素^[12],有研究显示,随着免疫抑制剂使用量的减低,BK病毒的复制也会显著降低。正确适量的减少免疫抑制剂强度使得BKVN预后较好,反之,则可加快BKVN的进展^[13]。

近年来人们对器官捐献的认可度不断提高,相关制度日益完善,我国公民逝世后器官捐献发展迅速,但是因DD的供体质量及患者术前准备有许多不确定因素,围手术期难度也随之增加,围手术期免疫诱导和免疫抑制的力度更强^[14]。已有国内外文献研究显示,免疫诱导方案和术后免疫抑制药物使用的种类和剂量,可能是直接增加肾移植受者术后体内BK病毒的复制和BKVN的患病风险的高危险因素^[15-16],这表明LD移植在造成BK病毒感染的高危险因素方面是要少于DD的,因此亲属活体供肾移植仍然是治疗终末期肾病的重要手段。有文献报道,LD的移植物长期存活率明显优于DD移植^[17]。本研究通过对大样本量的肾移植受者的信息分析,结果显示,LD组术后BK病毒感染发病率要明显低于DD组,在预防BK病毒感染方面,LD供肾要明显优于DD。分析出现这种情况的原因主要有以下几个方面:(1)LD供肾来源更容易获得相合度更高更理想的结果,可降低术后出现排斥反应的几率,因此在免疫抑制剂的使用上强度要低于DD供肾;高强度免疫抑制剂的使用加大了术后受者BK病毒感染的风险;(2)DD供肾的不可控因素较多,相比之下LD供肾的肾移植手术,更有条件在术前对供受者进行全面的评估,可以尽早地进行必要的免疫干预;(3)LD供肾的缺血再灌注时间与DD相比要明显缩短,高白细胞抗原错配占比更少,可减少术后不良事件的发生。

综上,肾移植术后BK病毒感染对移植物和受者的存活率影响较大,但目前缺乏有效的治疗手

段,不同来源的供体术后 BK 病毒感染风险不同,提示根据供体来源的不同,在术前进行积极有效的免疫干预和预防措施很有必要,肾移植术后定期规律的 BK 病毒 DNA 监测,做到早发现早干预,正确、适量使用免疫抑制剂,降低 BK 病毒感染的风险,从而有效提高移植肾在受者体内的长期存活率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Premathilake MI, Jayamaha JS, Lanerolle RD. Prevalence of BK virus among renal transplant recipients in a tertiary care hospital in Sri Lanka[J]. *Ceylon Med J*, 2018, 63(3): 124-128. DOI: 10.4038/cmj.v63i3.8716.
- [2] Pinto GG, Poloni J, Paskulin DD, et al. Quantitative detection of BK virus in kidney transplant recipients: a prospective validation study[J]. *J Bras Nefrol*, 2018, 40(1): 59-65. DOI: 10.1590/1678-4685-JBN-3776.
- [3] Pezeshgi A, Ghods A, Keivani H, et al. Incidence of BK virus nephropathy (BKVN) in renal transplant recipients[J]. *Int J Organ Transplant Med*, 2012, 3(3): 115-118.
- [4] Bateman AC, Greninger AL, Atienza EE, et al. Quantification of BK virus standards by quantitative real-time PCR and droplet digital PCR is confounded by multiple virus populations in the WHO BKV international standard[J]. *Clin Chem*, 2017, 63(3): 761-769. DOI: 10.1373 / clinchem. 2016. 265512.
- [5] Wang Y, Strassl R, Helanterä I, et al. Multiplex analysis of Human Polyomavirus diversity in kidney transplant recipients with BK virus replication[J]. *J Clin Virol*, 2019, 120: 6-11. DOI: 10.1016/j.jcv.2019.08.012.
- [6] Ji J, Feng S, Jiang Y, et al. Prevalence and risk factors of bk viremia and clinical impact of BK virus surveillance on outcomes in kidney transplant recipients: a single-center cross-sectional study[J]. *Exp Clin Transplant*, 2019, 17(6): 727-731. DOI: 10.6002/ect.2018.0262.
- [7] Hwang KA, Ahn JH, Nam JH. Development and validation of multiplex real-time PCR assays for rapid detection of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and polyomavirus BK in whole blood from transplant candidates[J]. *J Microbiol*, 2018, 56(8): 593-599. DOI: 10.1007/s12275-018-8273-2.
- [8] 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. DOI: 10.3969 / j. issn. 1674-7445. 2016.06.003.
- [9] Her T, Schutzbank TE. Evaluation of the Luminex ARIES® system for the detection and quantification of BK virus (BKV) DNA in plasma samples from kidney transplant recipients[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2019, 94(2): 129-134. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.12.004.
- [10] Manzano Sánchez D, Jimeno García L, Manzano Sánchez D, et al. Renal function impairment in kidney transplantation: importance of early BK virus detection[J]. *Transplant Proc*, 2019, 51(2): 350-352. DOI: 10.1016 / j. transproceed. 2018.12.016.
- [11] Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study[J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(1): 136-145. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04320.x.
- [12] 中华医学会器官移植学分会. 器官移植受者 BK 病毒感染和 BK 病毒性肾病临床诊疗规范(2019 版)[J]. *器官移植*, 2019, 10(3): 237-242. DOI: 10.3969 / j. issn. 1674-7445. 2019.03.003.
- [13] 范宇, 钱叶勇, 石炳毅, 等. 肾移植术后移植受者 BK 病毒的感染进程[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2018, 39(8): 587-591. DOI: 10.3760/ema.j.issn.1000-6702.2018.08.007.
- [14] Ortí G, Iacoboni G, Barba P, et al. Donor lymphocyte infusion for BK virus hemorrhagic cystitis and nephropathy: a case report[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, 54(5): 772-774. DOI: 10.1038/s41409-018-0402-3.
- [15] Hirsch HH, Yakhontova K, Lu M, et al. BK polyomavirus replication in renal tubular epithelial cells is inhibited by sirolimus, but activated by tacrolimus through a pathway involving FKBP-12[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(3): 821-832. DOI: 10.1111/ajt.13541.
- [16] 黄刚, 王长希, 罗小菁, 等. 肾移植受者 BK 病毒相关性肾病的危险因素分析[J]. *中华医学杂志*, 2015, 95(38): 3124-3127. DOI: 10.3760/ema.j.issn.0376-2491.2015.38.012.
- [17] Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, et al. OPTN/SRTR 2013 annual data report: kidney[J]. *Am J Transplant*, 2015, 15 Suppl 2 : 1-34. DOI: 10.1111/ajt.13195.

(收稿日期: 2020-08-17)

(本文编辑: 周阳)