文章编号：1000-5404(2005)05-0425-04

论著

肾移植受者活动性 CMV 感染的发生状况

王平贤，龚桂芝，张艮甫，黄赤兵，范明齐，冯嘉瑜，肖　亚，方针强　（第三军医大学新桥医院泌尿外科，全军肾脏病中心，重庆 400037）

提　要：目的　明确肾移植患者术前 CMV 感染的发生率和术后活动性 CMV 感染的发生规律。**方法**　检测 27 例健康成人、以及我院 2002 年 3 月至 2003 年 6 月 138 例尿毒症患者肾移植前血清抗 CMV 抗体（抗 CMV-IgG、CMV-IgM）；观察肾移植后 CMV-pp65 抗原血症的动态变化。**结果**　27 例健康成人血清抗 CMV-IgM 均为阴性、抗 CMV-IgG 的阳性率为 70.4%、外周血 CMV-pp65(+)白细胞数为 0～4 个/5×10^4 WBC；尿毒症患者术前 CMV-IgG、CMV-IgM 阳性率分别为 93.5%、7.1%，肾移植后外周血 CMV-pp65(+)白细胞数为 0～2 280 个/5×10^4 WBC（其中＞5 者占 87.0%）、其高峰期在术后第 6～8 周。**结论**　肾移植受者术前 CMV 感染发生率明显高于健康人群，且至少有 7.1%存在着活动性 CMV 感染；肾移植患者术后 6 个月内，活动性 CMV 感染发生率高达 86.96%；术后第 6～8 周是活动性 CMV 感染最严重的时期。

关键词：肾移植；巨细胞病毒
中图法分类号：R373.9；R619.3；R699.2　　**文献标识码：**A

Active cytomegalovirus infection after renal transplantation

WANG Ping-xian, GONG Gui-zhi, ZHANG Gen-fu, HUANG Chi-bing, FAN Ming-qi, FENG Jia-yu, XIAO Ya, FANG Zhen-qiang (Department of Urology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective　To investigate the incidence of active cytomegalovirus (CMV) infection before renal transplantation, and the regularity of active CMV infection after renal transplantation. **Methods**　Serum antibodies of CMV-IgG and CMV-IgM were detected in 27 healthy subjects, employed as control group, and in 138 uremia patients before renal transplantation. The variation in number of pp65 positive cells in peripheral blood of patients after renal transplantation was determined. **Results**　Serum antibodies of CMV-IgM were all negative, and the rate of CMV-IgG positive was 70.4%, and the number of pp65 positive cells in peripheral blood was 0－4 cells in 5×10^4 WBCs. The positive rates of CMV-IgG and CMV-IgM were 93.5% and 7.1% respectively, and the number of pp65 positive cells in peripheral blood was 0－2 280 cells in 5×10^4 WBCs in patients after renal transplantation. The peak time of the number of pp65 positive cells in peripheral blood was in the period from 6 to 8 weeks after renal transplantation. **Conclusion**　The incidence of active CMV infection before renal transplantation is at least 7.1%, which is higher than that in control group. Incidence of active CMV infection is 87.0% in the first 6 months after renal transplantation. Active CMV infection is the most serious in the period from 6 to 8 weeks after renal transplantation.

Key words: Kidney transplantation; cytomegalovirus

移植后早期活动性巨细胞病毒（active cytomegalovirus, CMV）感染高达 60%～80%，其中 10%～35%为有症状的 CMV 病[1,2]，CMV 感染被认为不仅是肾移植术后近期死亡的重要原因，而且可能与急性排斥反应和慢性移植物肾病有关[3]，肾移植后能否及时、有效地防治 CMV 感染可能是影响移植效果的关键[4,5]。鉴于肾移植前活动性 CMV 感染的发生状况、移植后活动性 CMV 感染的发生规律目前尚未明了，本研究旨在通过检测血清抗 CMV 抗体，并应用检测 CMV-pp65 抗原血症的方法，观察肾移植患者术前 CMV 感染状况、术后 CMV-pp65 抗原血症的动态变化，以明确肾移植患者活动性 CMV 感染的发生规律，为临床防治肾移植患者 CMV 感染、改善移植效果提供依据。

1　资料与方法

1.1　研究对象

在我院 2002 年 3 月至 2003 年 6 月首次行肾移植的 157 例患者中，手术前、后均未使用过抗淋巴细胞球蛋白（ATG 或

作者简介：王平贤（1964－），男，湖南省双峰县人，副主任医师，副教授，主要从事器官移植方面的研究。电话：(023)68755141
通讯作者：龚桂芝，电话：68774624，E-mail：chqj1023@mail.tmmu.com.cn
收稿日期：2004-01-18；修回日期：2004-03-14

OKT3)、带肾存活6个月以上者,共有138例(移植组)。其中男91例、女47例,年龄16~62岁。

取27例健康志愿者组成"健康成人组"(包括军校学员、患者家属等)作相关对照。其中男14例、女13例,年龄21~39岁。

1.2 肾移植患者术后免疫抑制方案

肾移植后最初3~5 d使用甲基强的松龙针剂500 mg,1次/d,静脉注射;能进食后即开始口服霉酚酸酯(MMF),1.0~1.5 g/d;当血肌酐(Cr)≤250 μmol/L时,给予环孢素A(CsA)8 mg·kg^{-1}·d^{-1}或普乐可复(FK-506)0.15 mg·kg^{-1}·d^{-1},均分为2次口服,以后根据血药浓度逐渐减量;泼尼松(Pred)为10~15 mg/d。

1.3 检测方法

应用酶免疫斑点技术,检测移植组术前和健康成人组血清抗CMV抗体(抗CMV-IgG、CMV-IgM)。① TORCH-IgG试剂盒为美国GenBio公司产品(购自北京海奥万信生物技术有限公司);TORCH-IgM试剂盒为上海贝西公司产品。② 检测原理:将CMV的基因工程纯化抗原以点状固定在固相膜上,后者同被测标本中的特异性抗体结合后,再与标记有碱性磷酸酶的抗人IgG或IgM的二抗发生反应,碱性磷酸酶使底物显色,阳性结果为肉眼可见的蓝色斑点。

以荧光素标记的抗CMV-pp65单克隆抗体,检测健康成人组、移植组外周血CMV-pp65阳性白细胞计数。移植组术前、术后开始每2周、3个月后改为每4周1次,为期6个月。① CMV检测试剂盒为荷兰IQ公司产品(购自深圳晶美生物工程有限公司)。② 检测原理与处理:pp65为CMV复制过程中产生的一种结构蛋白,在CMV活动性感染时,外周血白细胞作为CMV的易感细胞,以主动或被动的方式从血液中获取了大量的pp65抗原,在白细胞涂片中,以荧光素标记的抗pp65单克隆抗体,可与白细胞内的pp65抗原结合,在荧光显微镜下CMV-pp65阳性细胞呈黄绿色。计算出每5×10^4个白细胞(WBC)中CMV-pp65阳性细胞的数量。对CMV病可疑患者,使用更昔洛韦250 mg,1次/d,连续2周。

1.4 统计学分析

采用SPSS 10.0软件进行χ^2检验。

2 结果

健康成人组、移植组(肾移植时)抗CMV抗体血清状况见表1。

表1 健康成人组、移植组(肾移植时)抗CMV抗体血清状况

Tab 1 CMV serology in healthy subjects and recipients before renal transplantation

Group	n	CMV-IgG (+)		CMV-IgM (+)	
		cases	%	cases	%
Healthy subjects	27	19	70.4	0	0
Renal transplantation recipients	138	129	93.5**	10	7.1*

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* healthy people group

移植组138例受者术前诊断活动性CMV感染两种检查方法[即检测CMV-IgM状态和外周血CMV-pp65(+)白细胞计数]的结果见表2。χ^2检验显示两种检查方法无显著性差异($P>0.05$)。

表2 138例肾移植受者术前诊断活动性CMV感染两种检查结果的比较

Tab 2 Active CMV infection diagnosed by CMV antibody and pp65 antigen in 138 patients

CMV-pp65(+)cells	(0~5)/(5×10^4) WBC	>5/(5×10^4) WBC	Total
CMV-IgG (+)	0	10	10
CMV-IgM (-)	121	7	128
Total cases	121	17	138

移植组138例患者,肾移植后6个月内外周血CMV-pp65(+)白细胞计数的动态变化见图1。7例CMV病可疑患者,使用更昔洛韦250 mg,1次/d,连续2周,症状均消失。

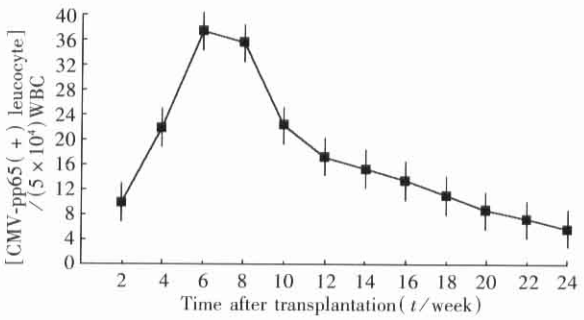


图1 肾移植后外周血CMV-pp65(+)白细胞动态变化

Fig 1 Variation of CMV-pp65(+) leucocyte number after transplantation

外周血CMV-pp65(+)白细胞计数>100/(5×10^4) WBC的患者在术后不同时期的分布见图2。

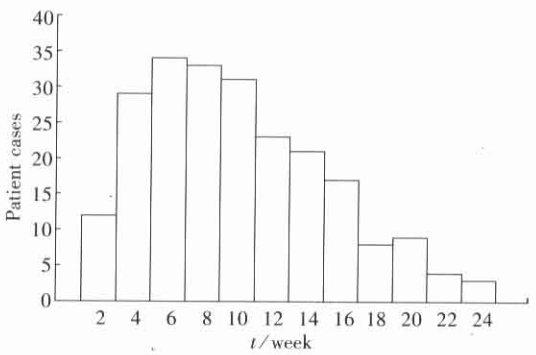


图2 pp65(+)细胞>100的患者在术后不同时期的分布

Fig 2 Distribution of patients with CMV-pp65(+) leucocytes more than 100 after transplantation

3 讨论

CMV为人类病毒感染中常见的病原体。该病毒可经呼吸道、消化道、输血和器官移植等多种途径传入体内,上皮细胞、血管内皮细胞和外周血中的白细胞等

极易受到感染。人群中CMV感染十分普遍，一般来说其发生率与年龄、种族、地区的经济和卫生状况等多方面的因素有关，在发达国家通常为60%左右、而发展中国家则高达90%左右[6,7]。

CMV是一种弱致病因子，对免疫力正常的个体不具有明显毒力，但一旦感染，CMV即被宿主终生携带，潜伏的病毒以基因或基因产物存在于细胞中，机体表现为持续血清学阳性[即抗CMV-IgG(+)]。当机体免疫功能下降、特别是细胞免疫力低下时，又可新感染CMV，或潜伏的病毒再次激活、复制，形成活动性CMV感染。在这种情况下，特别是在机体免疫功能严重低下时，CMV常与其它病原体构成二重或多重感染，死亡率高[3]。

尽管感染仍然是肾移植后主要的并发症之一，但由于免疫抑制剂的发展和临床移植水平的提高，肾移植近期效果已得到了显著的改善，但肾移植远期效果至今却未能得以相应的提高，移植肾的平均半寿期仍徘徊在7～10年，这主要是因为慢性移植物肾病导致了不少患者于肾移植数月、特别是1年或数年后，移植肾功能进行性减退，最终移植肾功能衰竭、恢复透析[8,9]。然而，近年来动物实验显示CMV感染又是导致慢性移植物肾病的重要原因[10]。

由于在肾移植术后早期患者应用了大剂量免疫抑制剂等原因，肾移植后早期活动性CMV感染高达60%～80%，且其中15%～35%为有症状的CMV病[1,2]，为此，CMV感染被认为不仅是肾移植受者术后近期死亡的重要原因，更重要的是它可能与远期慢性移植物失功有关，肾移植术后能否有效、及时地防治CMV感染可能是影响移植效果的关键[4,5]。

在正常情况下，只要能从机体血清中检测到抗CMV-IgM，或抗CMV-IgG由阴性转为阳性或双份血清显示抗CMV-IgG滴度升高4倍以上，即可诊为活动性CMV感染。然而，由于肾移植患者术后应用了大剂量的免疫抑制剂，其抗体反应弱而迟钝，在这个特殊的群体中，依靠血清学检查已不能做出正确的诊断。为了克服器官移植患者在CMV感染诊断上的困难，近年来以检测外周血白细胞中CMV-pp65抗原，判断体内有无活动性CMV感染(即CMV抗原血症检测)正逐渐应用于临床。

pp65是CMV基因UL83编码的由561个氨基酸构成的磷酸化蛋白，属CMV的结构蛋白。pp65在病毒DNA复制后大量扩增，并主要积聚在宿主细胞胞浆的致密颗粒和细胞外的病毒颗粒中，它的出现提示CMV已复制完毕、形成了完整的病毒，是活动性CMV感染的标志。CMV有着广泛的嗜细胞性，特别是血管内皮细胞、外周血中的白细胞等极易受到其侵袭，在活动性CMV感染时，外周血中的白细胞以主动或被动的方式从脱落于血循环中的内皮细胞等获取大量的病毒抗原，因此，只要能在外周血中检测到含有pp65抗原的白细胞，即可诊断为活动性CMV感染。不仅如此，pp65阳性白细胞的数目还可以反映受者体内病毒的负荷，能体现CMV感染的严重程度、抗病毒治疗效果以及感染的预后[11]。

本研究检测CMV-pp65抗原血症采用的是荷兰IQ公司生产的试剂盒，从本研究对27例健康成人标本检测来看，在大多数标本中均未发现有阳性白细胞，但在4个标本中发现到了(1～4)/(5×10^4)个WBC不等的阳性白细胞，而且在其试剂盒本身所带的阴性对照片中，也有类似现象，对此，该试剂的代理公司——深圳晶美生物技术有限公司向荷兰IQ公司进行了咨询，对方也未能提供满意的解释。鉴于在国外有关CMV-pp65抗原检测的研究中，有的研究者也是将CMV-pp65(+)白细胞计数$<5/(5\times10^4)$WBC定为阴性。为了严格控制诊断标准，基于上述理由，该研究将CMV-pp65(+)白细胞计数$<5/(5\times10^4)$WBC作为诊断活动性CMV感染的标准。

该研究对健康成人、肾移植患者术前采用检测CMV-IgM和CMV-pp65抗原血症两种方法判断是否有活动性CMV感染，而对术后却只应用CMV-pp65抗原血症判断是否有活动性CMV感染的原因在于：①为了比较两种方法的结果是否一致；②术后由于患者使用了大剂量的免疫抑制剂，检测CMV-IgM已没有意义，而只能检测CMV-pp65抗原血症。

本研究检查27例健康成人显示有19例为CMV-IgG(+)、CMV-IgM均为(-)、CMV-pp65(+)白细胞计数均$<5/(5\times10^4)$ WBC，可见健康人群中曾经有过CMV感染的发生率为70.4%(19/27)、健康成人无活动性CMV感染。而且从CMV-IgM和CMV-pp65抗原的结果来看，两者具有明显的一致性。

相比之下，肾移植患者术前不仅CMV感染发生率高达93.5%，而且无论从CMV-IgM和CMV-pp65抗原的检查结果来看，至少有7.1%存在着活动性CMV感染。这可能是因为肾移植前患者体质差(贫血、低蛋白血症等)，加之长期透析、反复输血等也会增多CMV感染的机会。以往国内外的研究都很少注意到这一现象。这也是本研究的一个新发现。

在肾移植后最初6个月内，有86.96%的患者CMV-pp65抗原血症为(+)(120/138)，可见肾移植后活动性CMV感染十分普遍。从外周血CMV-pp65(+)白细胞计数的动态变化来看，在术后第6～8周患者外周

血CMV-pp65(+)白细胞的平均数最高;而且CMV-pp65(+)白细胞数>100/(5×10^4)WBC的患者也大多出现在这个时期;可见术后第6~8周是肾移植后活动性CMV最严重的时期。出现这种情况可能是因为术后早期患者应用了大剂量的强效免疫抑制剂,加之机体一般情况较差,致使CMV在体内逐渐得以大量复制。以后随着免疫抑制剂用量的减少、机体一般状况的好转、贫血和低蛋白血症等得以纠正以及其它各项检查结果恢复正常,特别是机体对CMV产生或加强了特异性免疫力,从而使已有的CMV得以清除或/和使CMV复制得以有效抑制,最终使CMV-pp65(+)白细胞计数达到一个较低的水平。

值得一提的是,上述术后CMV感染演变的特点应该是基于我院免疫抑制剂的使用方案的,因为CMV感染的程度与免疫抑制的强度密切相关[12],免疫抑制剂的使用方案不同,术后CMV感染的发生规律也不相同。文献[13]报道在某些较严重的CMV感染甚至CMV病时,只需减少免疫抑制剂的用量、无需抗病毒治疗即可控制CMV感染。

本研究得出如下结论:尿毒症患者有93.5%曾感染过CMV,感染率明显高于健康人群;肾移植前至少有7.1%存在着活动性CMV感染;肾移植后6个月内,活动性CMV感染发生率高达86.96%;肾移植后第6~8周是活动性CMV感染最严重的时期。

参考文献:

[1] Yeung J S, Tong K L, Chan H W, *et al*. Clinical pattern, risk factors, and outcome of CMV infection in renal transplant recipients: local experience[J]. Transplant Proc, 1998, 30(7): 3144-3145.

[2] Poirier Toulemonde A S, Milpied N, Cantarovich D, *et al*. Clinical relevance of direct quantification of pp65 antigenemia using flow cytometry in solid organ and stem cell transplant recipients[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(9): 3143-3149.

[3] Lee W, Tsang W K, Tong K L, *et al*. Cytomegalovirus infection and graft rejection in renal transplantation: a single-center experience[J]. Transplant Proc, 2003, 35(1): 282-283.

[4] Inkinen K, Soots A, Krogerus L, *et al*. Cytomegalovirus increases collagen synthesis in chronic rejection in the rat[J]. Nephrol Dial Transplant, 2002, 17(5): 772-779.

[5] Pirsch J D. Cytomegalovirus infection and posttransplant lymphoproliferative disease in renal transplant recipients: results of the U. S. multicenter FK506 Kidney Transplant Study Group[J]. Transplantation, 1999, 68(8): 1203-1205.

[6] Van-der-Bij W, Speich R. Management of cytomegalovirus infection and disease after solid-organ transplantation[J]. Clin Infect Dis, 2001, 33 (Suppl 1): S32-S37.

[7] Paggs K S, Mackinnon S. Cytomegalovirus: the role of CMV post-haematopoietic stem cell transplantation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36 (4): 695-701.

[8] Paul L C. Chronic allograft nephropathy: an update[J]. Kidney Int, 1999, 56(3): 783-793.

[9] Vazquez M A. Chronic rejection of renal transplants: new clinical insights [J]. Am J Med Sci, 2000, 320(1): 43-58.

[10] Kloover J S, Soots A P, Krogerus L A, *et al*. Rat cytomegalovirus infection in kidney allograft recipients is associated with increased expression of intracellular adhesion molecule-1 vascular adhesion molecule-1, and their ligands leukocyte function antigen-1 and very late antigen-4 in the graft [J]. Transplantation, 2000, 69(12): 2641-2647.

[11] Yague V, Cour I, Kanaan A, *et al*. Cytomegalovirus: comparative study of diagnosticg techniques[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 1998, 16 (4): 163-168.

[12] Wright F H Jr, Banowsky L H. Cytomegalovirus infection and prophylaxis in renal transplantation: financial considerations[J]. Transplant Proc, 1998, 30(4): 1318-1319.

[13] Avivi I, Chakrabavti S, Milligan D W, *et al*. Incidence and outcome of adenovirus disease in transplant recipients after reduced-intensity conditioning with alemtuzumab[J]. Biol Blood Marrow Transplantat, 2004, 10 (3): 186-194.

(编辑 薛国文)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 x,卡方的符号是希腊字母 χ^2,自由度的符号是希腊文"υ",不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r",不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"-"或"+"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-} 等等,不要用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2} 表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如:^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角,例如:$^{99}Tc^m$、$^{191}Ir^m$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成"碘-131"、"磷-32"、"铱-191m"。

近几年分子生物学发展很快,并已渗透到许多学科,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式,要对符号的来源及其内涵有深刻的了解,使用时不致发生错误。例如:RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写,RNA 应大写。

本刊编辑部