文章编号:1000-5404(2005)18-1865-03

论著

肾移植围手术期检测 CMV-PP65 抗原的意义

梁思敏,吴小候,苟 欣,刘 航 (重庆医科大学附属第一医院肾移植中心,重庆 400016)

提 要: 目的 探讨肾移植围手术期检测 CMV-PP65 抗原的意义。**方法** 采用免疫过氧化物酶法对 94 例肾移植受体(recipient, R)术前、术后 1 个月和供体(donor, D)CMV-PP65 抗原检测结果进行回顾性分析。**结果** D^+R^- 组 26 例,发生 CMV 感染 20 例(76.9%),CMV 病 6 例(23.1%);D^+R^+/D^-R^+ 组 50 例,发生 CMV 感染 37 例(74%),无 CMV 病发生;D^-R^- 组 18 例,无 1 例发生 CMV 感染或 CMV 病。D^+R^- 和 D^+R^+ 组供体 CMV-PP65 抗原阳性细胞数无显著性差异,术后 D^+R^- 组患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数明显高于 D^+R^+ 组。D^+R^- 组中发生 CMV 病与 CMV 感染者之间供体 CMV-PP65 抗原阳性细胞数无显著性差异,但 CMV 病患者的 CMV-PP65 抗原阳性细胞数明显高于 CMV 感染患者。**结论** CMV-PP65 抗原阴性受体接受 CMV-PP65 抗原阳性供体后发生 CMV 感染和 CMV 病的危险性显著增加,术前检测 CMV-PP65 抗原对减少患者术后发生 CMV 感染或 CMV 病有指导意义。术前受体 CMV-PP65 抗原阳性细胞数可能是影响术后患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数的一个因素,术后患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数高低在一定程度上影响 CMV 病的发生。

关键词: 巨细胞病毒;抗原;肾移植
中图法分类号: R446.62;R617;R699.2 **文献标识码**: A

Significance of detecting CMV-PP65 antigen in perioperation of renal transplantation

LIANG Si-min, WU Xiao-hou, GOU Xin, LIU Hang (Renal Transplantion Center, The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To detect the CMV-PP65 antigen in peripheral leukocytes of recipients and donors of renal transplantation and discuss its significance in occurrence of CMV infection or disease in kidney recipients. **Methods** Immune peroxide enzyme method was used to retrospectivly analyze the detecting results of CMV-PP65 antigen preoperatively and at 1 month after operation in the recipients (R) and donors (D) of 94 cases of renal transplantation. All recipients and donors were divided into 3 groups according to the detecting results of CMV antigen before operation: D^+R^- group, D^+R^+/D^-R^+ group and D^-R^- group. **Results** CMV infection and CMV disease occurred in D^+R group at 76.9% and 23.1% respectively. CMV infection occurred at 74% and no CMV disease in D^+R^+/D^-R^+ group. No CMV infection or CMV disease occurred in D^-R^- group. CMV-PP65 antigen-positive cells of donors in D^+R^- group were of no significant difference with that in D^+R^+ group [(32.6 ± 27.4)/50 000 leukocytes *vs* (39.8 ± 26.6)/50 000 leukocytes]. After operation, CMV-PP65 antigen-positive cells of recipients [(47.5 ± 20.3)/50 000 leukocytes] in D^+R^- group were higher than in D^+R^+ group [(36.6 ± 18.4)/50 000 leukocytes]. In D^+R^- group, CMV-PP65 antigen-positive cells of donors with CMV disease [(30.9 ± 23.4)/50 000 leukocytes] were of no significant difference with that with CMV infection [(33.1 ± 22.5)/50 000 leukocytes], but after operation, CMV-PP65 antigen-positive cells of recipients with CMV disease [(72.6 ± 5.7)/50 000 leukocytes] were higher than that with CMV infection [(40.1 ± 26.1)/50 000 leukocytes]. **Conclusion** The risk of CMV infection and CMV disease was significantly increased when positive CMV-PP65 antigen donors to negative CMV-PP65 antigen recipients. So renal transplantation from positive CMV-PP65 antigen donors to negative recipients should be avoided. The detection of CMV-PP65 antigen preoperatively was of perspective significance in decreasing the postoperative occurrence of CMV infection or CMV disease. Preoperative detection result of CMV-PP65 antigen in recipients might be one of the factors that affected the high or low CMV-PP65 antigen-positive cells of recipients after operation. The quantity of CMV-PP65 antigen-positive cells of recipients after operation might affect the occurrence of CMV disease.

Key words: cytomegalovirus; antigen; renal transplantation

作者简介:梁思敏(1968-),男,重庆市人,主治医师,主要从事泌尿外科肾移植方面的研究。电话:(023)66822870,E-mail:lsmgj@163.com
收稿日期:2005-05-25;**修回日期**:2005-08-12

巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染是肾移植术后患者最主要的并发症和死亡原因。本研究回顾性分析2001年6月至2003年6月我院施行的94例同种异体肾移植受体和供体外周血白细胞CMV-PP65抗原检测结果,并探讨术前受、供体CMV-PP65抗原结果对患者术后发生CMV感染或CMV病的影响,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患者94例,男65例,女29例,年龄18~65岁,平均31.7岁。病程5~26个月。

首次肾移植93例,第2次肾移植1例。根据供体和受体CMV-PP65抗原结果分3组,供体CMV-PP65抗原阳性而受体CMV-PP65抗原阴性(D^+R^-)组26例,供体CMV-PP65抗原阳性或阴性而受体CMV-PP65抗原阳性(D^+R^+/D^-R^+)组50例,供体和受体CMV-PP65抗原均阴性(D^-R^-)组18例。术后常规用甲基强的松龙0.5 g/d冲击治疗3 d,采用三联免疫抑制剂治疗(环孢素A+骁悉+强的松或环孢素A+硫唑嘌呤+强的松或FK506+骁悉+强的松)。发生急性排斥反应后,先采用甲基强的松龙0.5 g/d冲击治疗3 d,若无效则换用OKT35 mg/d治疗7~14 d,其中D^+R^-组1例,D^+R^+/D^-R^+组3例,D^-R^-组1例。术后所有患者均采用万乃洛韦(valaciclovir)1.8 g/d预防CMV感染。

1.2 诊断标准

1.2.1 CMV感染 CMV-PP65抗原阳性,无任何临床感染症状。

1.2.2 CMV病 CMV-PP65抗原阳性,临床表现发热、无痰性咳嗽、全身肌肉关节酸痛、呼吸困难、唇面发绀及低氧血症(SPO2<80%)。

1.3 CMV-PP65抗原检测

1.3.1 试剂 抗CMV即刻早期蛋白和早期蛋白的单克隆抗体(一抗)试剂盒均来源于丹麦DAKO公司。

1.3.2 检测方法 采用免疫过氧化物酶法测定,采外周静脉血4 ml,制备白细胞悬液。微量吸管吸取上述白细胞悬液50 μl(含WBC 5万个),加玻片上,干燥后丙酮固定。室温下置0.3% H_2O_2 中10 min;滴加1:20的正常猪血清封闭30 min(37 ℃);滴加1:20抗CMV即刻早期蛋白和早期蛋白的单克隆抗体(一抗),37 ℃孵育30 min。滴加二抗(兔抗鼠IgG),37 ℃孵育30 min。滴加新配制的DAB溶液(含DAB 5 mg+TBS 5 ml+3% H_2O_2 15 μl)显色1~3 min或光学显微镜下控制显色;苏木精液复染1~2 min。光学显微镜下计数阳性细胞个数。对照组设立:阳性对照:用已知CMV感染患者的细胞片作阳性对照;阴性对照:用TBS缓冲液代替一抗或不加一抗作阴性对照。

1.3.3 结果判断 CMV-PP65抗原阳性细胞数≥5个/5万WBC为阳性,CMV-PP65抗原阳性细胞数<5个/5万WBC为阴性。

1.4 统计学分析

采用SPSS 10.0统计学软件进行χ^2检验及Fisher's精确概率检验和校正t检验。

2 结果

2.1 3组间CMV感染及CMV病发病率

结果分为3个组,其中D^+R^-组26例,发生CMV感染20例(76.9%),CMV病6例(23.9%);D^+R^+/D^-R^+组50例,CMV感染37例(74.0%),无CMV病例与D^+R^-组比较有显著性差异($P<0.05$);D^-R^-组18例,无CMV感染或CMV病例与D^+R^-组比较有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 D^+R^-和D^+R^+组的CMV-PP65抗原阳性细胞数

D^+R^-和D^+R^+组供体CMV-PP65抗原阳性细胞数无显著性差异[分别为(32.6±27.4)个/5万WBC和(39.8±26.6)个/5万WBC)],术后D^+R^-但患者CMV-pp65抗原阳性细胞数明显高于D^+R^+组[(47.5±20.3) *vs* (36.6±18.4)个/5万WBC, $P<0.05$]。

2.3 D^+R^-组中发生CMV感染与CMV病的CMV-PP65抗原阳性细胞数

D^+R^-组中发生CMV病及感染者之间供体CMV-pp65抗原阳性细胞数无显著性差异[(30.9±23.4) *vs* (33.1±22.5)个/5万WBC],但CMV病患者的CMV-pp65抗原阳性细胞数明显高于CMV感染者[(72.6±5.7) *vs* (40.1±26.1)个/5万WBC, $P<0.05$]。

3 讨论

CMV是一种疱疹病毒,其播散需要通过细胞与细胞之间的接触,CMV可以在各种细胞中复制,并引发体内的一系列反应,如间质性肺炎、急性病毒感染综合征等,其中对患者危害最大的是间质性肺炎。CMV检测方法常用的有CMV-PP65抗原测定、CMV-PP67抗原测定及CMV-DNA检测等,其中检测CMV-PP65抗原诊断CMV感染的敏感性和特异性分别为83%~100%和93%~100%,检测CMV-PP67抗原诊断CMV感染为97%和63%[1]。CMV感染常见于肾移植术后,发病率为30%~80%,其中10%~30%可以发展成CMV病,其病死率可达90%。如何降低CMV感染和CMV病发病率是临床关注的问题。为此我们研究了术前供、受体血CMV-PP65抗原结果对患者术后发生CMV感染或病的影响,发现D^+R^-组和D^+R^+/D^-R^+组CMV感染发病率显著高于D^-R^-组;D^+R^-组CMV病发病率显著高于D^+R^+/D^-R^+组和D^-R^-组。本组资料中D^-R^-组无1例发生CMV感染,而CMV病患者均在D^+R^-组。因此,D^+R^-肾移植患者是感染高危患者,对CMV-PP65抗原阴性患者应尽可能避免移植CMV-PP65抗原阳性供体。据文献[2~5]报道,D^+R^-和D^+R^+/D^-R^+肾移植患者CMV感染发病率约68%;CMV病发病率,D^+R^-肾移植患者(56%)远高于D^+R^+/D^-R^+移植患者(20%)。其原因可能是CMV病毒通过CMV血清学阳性移植物感染受体,而CMV血清学阴性受体此时临床上发生CMV感染的危险性将增加50%。文献[2,6~8]报道,对CMV-PP65抗原阴性受体(R^-),在移植前抗病毒治疗,可以降低术后发生CMV感染和CMV病的风险。

我们分析了供体和受体术前CMV-PP65抗原检测结果对术后患者CMV-PP65抗原阳性细胞数高低的影响。D^+R^-和D^+R^+/D^-R^+组供体CMV-PP65抗原阳

性细胞数无显著差异，但 D^+R^- 组术后患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数显著高于 D^+R^+/D^-R^+ 组，提示肾移植患者术后 CMV-PP65 抗原阳性细胞数受供体的影响小，主要受患者术前 CMV-PP65 抗原检测结果的影响。术前 CMV-PP65 抗原阴性，患者术后 CMV-PP65 抗原阳性细胞数明显偏高。Sagedal 等[2]报道，D^+R^- 肾移植患者术后 CMV-PP65 抗原阳性细胞数明显高于 D^+R^+/D^-R^+ 肾移植患者。

CMV -PP65 抗原阳性细胞数定量检测，在一定程度上反映了体内的病毒数量，为了明确 CMV 病的发生与体内病毒数量有无相关性，我们对 D^+R^- 组中发生 CMV 病和 CMV 感染患者进行分析发现两组供体 CMV-PP65 抗原阳性细胞数无显著差异，术后 CMV 病患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数显著高于感染者。我们认为 CMV 病患者具有较高的 CMV-PP65 抗原阳性细胞数，术后肾移植患者 CMV-PP65 抗原阳性细胞数高低在一定程度上影响 CMV 病的发生。有作者认为，CMV-PP65 抗原阳性细胞数高或升高迅速，常提示 CMV 病，低 CMV-PP65 抗原阳性细胞数或其稳定者多为 CMV 感染[2]。

肾移植围手术期 CMV-PP65 抗原定量检测对肾移植受、供体配对、降低患者 CMV 感染的风险以及评估术后 CMV 感染和 CMV 病的发生有一定的指导价值，避免移植 CMV-PP65 抗原阳性供体给 CMV-PP65 抗原阴性受体，在一定程度上可以降低 CMV 感染和 CMV 病的发病率。

参考文献：

[1] Oldenburg N, Lam K M, Khan M A, *et al*. Evaluation of human cytomegalovirus gene expression in thoracic organ transplant recipients using nucleic acid sequence-based amplification[J]. Transplantation, 2000, 8(27): 1209 - 1215.
[2] Sagedal S, Nordar K P, Hartmann A, *et al*. A prospective study of the natural course of CMV infection and disease in renal allograft recipients [J]. Trasplantation, 2000, 70(8): 1166 - 1174.
[3] Kaufman D B, Leventhal J R, Gallon L G, *et al*. Risk factors and impact of cytomegalovirus disease in simultaneous pancreas-kidney transplantation[J]. Transplantation, 2001, 72(12): 1940 - 1945.
[4] Nichols W G, Corey L, Gooley T, *et al*. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection[J]. J Infect Dis, 2002, 185 (3): 273 - 282.
[5] Rubin R H, Ikonen T, Gummet J F, *et al*. The therapeutic prescription for the organ transplant recipient : the linkage of immunosuppression and antimicrobial strategies[J]. Transpt Infect Dis, 1999, 1(1): 29 - 39.
[6] Gabardi S, Magee C C, Baroletti S A, *et al*. Efficacy and safety of low-dose valganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients: a single-center, retrospective analysis[J]. Pharmacotherapy, 2004, 24(10): 1323 - 1330.
[7] Limaye A P, Raghu G, Koelle D M, *et al*. High incidence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection among lung transplant recipients receiving preemptive therapy[J]. J Infect Dis, 2002 , 185(3): 20 - 27.
[8] Sola R, Diaz J M, Guirado L, *et al*. Significance of cytomegalovirus infection in renal transplantation[J]. Transplant Proc, 2003, 35(5): 1753 - 1755.

（编辑 薛国文）

文章编号：1000-5404(2005)18-1867-01

个案与短篇

梅毒所致弥漫性神经视网膜炎1例

A case report of diffuse neuroretinitis caused by ocular syphilis

桂君民，阴正勤 （第三军医大学西南医院全军眼科中心，重庆 400038）

患者，男，47岁，因双眼视力下降1年余，左眼加重20 d来我院就诊。患者1年前无明确原因出现双眼视力下降，3个月前曾在外院就诊，诊断为“左眼葡萄膜炎”，给予口服强的松等药物治疗，但症状无好转，视力进一步下降。入院查体：全身状况良好。眼部检查：视力右眼0.7，左眼HM/眼前，不能矫正。裂隙灯检查双眼前节未见明显异常。右眼玻璃体混浊(+)，左眼玻璃体混浊(++)。右眼视乳头边界欠清，黄斑区硬性渗出，后极部网膜轻水肿，左眼视乳头边界不清，黄斑区水肿，网膜粗糙。眼压右眼10 mmHg，左眼13 mmHg。荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)检查双眼后极部及中周部广泛斑点状及斑块状高荧光，视网膜血管管壁荧光着染，视盘边界不清，后期渗漏呈弥漫高荧光。黄斑拱环结构不清，后期黄斑区可见斑块状高荧光(图1)。脉络膜荧光造影(indocyanine green angiography, ICGA)检查双眼后极部和中周部脉络膜斑点状弱荧光(图2)。梅毒螺旋体血球凝集试验(TPHA)检查阳性。HIV抗体检测阴性。追问病史患者承认有冶游史，确诊为梅毒性神经视网膜炎，给予青霉素4 MIU (2.4 g)静滴2次/d，连续14 d，苄星青霉素2.40 MIU (1.8 g)肌注1/周，连续3周，局部和全身应用激素治疗。1个月后复查视力右眼0.8，左眼0.2，眼底检查见双眼视乳头色淡红，边界欠清，视网膜血管未见明显异常，视网膜颜色晦暗，黄斑区未见明显水肿。复查FFA见后极部广泛色素脱失，黄斑区环状低荧光(图3)。视野检查：双眼中心30°视野严重缩小，左眼仅存中央视岛，但周边视野基本正常。

作者简介：桂君民(1966-)，男，江西省鹰潭市人，硕士，主治医师，主要从事玻璃体视网膜疾病方面的研究。电话：(023)68773097

收稿日期：2005-02-25；修回日期：2005-05-12

（下转1870页）