

原著

血尿を呈した小児患者における BK ウイルス検出の意義

石井 翔¹⁾ 張 慶 哲¹⁾ 福岡かほる¹⁾ 山中 崇之¹⁾
村井 健美¹⁾ 磯貝美穂子¹⁾ 相澤 悠太¹⁾ 堀越 裕歩¹⁾

要旨 ヒトポリオーマウイルスに属する BK ウイルスは、小児期にほとんどが無症候性または軽症の自然感染をする。造血幹細胞移植後などの免疫抑制下で再活性化し、出血性膀胱炎や尿管狭窄を起こすが、本邦での尿中 BK ウイルスを検出した小児報告例は少ない。2013 年 4 月から 2016 年 6 月に東京都立小児総合医療センターで、血尿を呈し尿中 BK ウイルスのリアルタイム PCR を施行した症例において、BK ウイルス陽性群と陰性群の臨床像の比較を行った。施行したのは 17 例で年齢中央値は 9 歳であった。17 例中 7 例で BK ウイルスが検出され、いずれも血液腫瘍疾患・固形腫瘍・原発性免疫不全症などの基礎疾患を有していた。BK ウイルス陽性のうち 4 例 (57%) が造血幹細胞移植後であり、移植後症例はいずれも免疫抑制薬を投与中であった。BK ウイルス陽性例と陰性例の比較では、臨床像の特徴に有意な差は認められなかったが、陽性例で年齢が高く、CRP が低い傾向が認められた ($p < 0.1$)。出血性膀胱炎に対しては支持療法を行ったが、血小板輸血に至った 3 例は、いずれも造血幹細胞移植後であった。免疫不全児の血尿では、BK ウイルスが鑑別として重要である。

はじめに

BK ウイルスはポリオーマウイルス属のエンペロープをもたない 2 本鎖 DNA ウイルスである¹⁾。1971 年に腎移植後患者の尿から初めて分離され、患者のイニシャルにちなんで名付けられた。BK ウイルスは膀胱、尿管、腎臓の細胞に感染を起こし、腎臓移植後の腎障害^{2, 3)}、造血幹細胞移植後の出血性膀胱炎、尿管狭窄をきたす^{4, 5)}。まれな感染臓器疾患として、脳炎、網膜炎、肺炎、腎炎の報告がある^{1, 6)}。

BK ウイルスは小児期に自然感染し、初感染では無症候性が多く、有症状では発熱や非特異的な

上気道症状をきたす¹⁾。自然感染のピークは 2~5 歳であり、BK ウイルス抗体価は 3 歳までで約 50%、9~10 歳までにほぼ 100% の小児で検出される^{7, 8)}。BK ウイルスは初感染のあとに親和性の高い腎泌尿器系に潜伏感染し、免疫抑制下で再活性化による感染症状を起こす⁹⁻¹¹⁾。免疫不全でない児での病原性は明らかでなく、腎疾患の小児の 35% で検出された報告がある¹²⁾。同種造血幹細胞移植後の患者では、血尿や排尿障害のある患者の尿の約 15% から BK ウイルスが検出される¹³⁾。造血幹細胞移植レシピエントの BK ウイルス尿中排泄をモニターした研究では、出血性膀胱炎発症時の 55%、非膀胱炎時では約 10% で検出され、

Key words : BK ウイルス, リアルタイム PCR, 免疫不全, 造血幹細胞移植, 出血性膀胱炎

1) 東京都立小児総合医療センター感染症科

連絡先: 石井 翔 〒183-8561 府中市武蔵台 2-8-29 東京都立小児総合医療センター感染症科

出血性膀胱炎の原因と考えられている¹⁴⁾。

小児では、造血幹細胞移植後患児の5.3%にBKウイルス出血性膀胱炎を発症した報告があり、成人に比較してBKウイルス出血性膀胱炎は頻度が低い¹⁵⁾。特異的治療は、免疫抑制薬の減量、免疫グロブリン、レフルノミド、フルオロキノロン、シドフィビル(国内未承認)などが使用されるが、エビデンスが確立したものはない¹⁶⁻¹⁹⁾。

本邦での小児のBKウイルスのまとまった報告は少ないが、血尿を呈した小児におけるBKウイルス陽性群と陰性群の臨床像の差を明確にし、鑑別診断のポイントを明らかにするために、それぞれの臨床的特徴の比較検討を行った。

I. 対象と方法

2013年4月～2016年6月に東京都立小児総合医療センターの入院・外来患者で、尿検査で血尿を認め、尿検体のリアルタイムPCRを行った患者を対象とした。電子診療録を用い、患者情報(年齢、基礎疾患、臨床症状、BKウイルス量、血液検査結果)を抽出し、後方視的にBKウイルス陽性群と陰性群の比較を行った。また、BKウイルス陽性群の治療内容を検討した。血尿は肉眼的血尿、または尿沈渣 >20/HPF もしくは尿潜血反応 2+以上と定義した。経過中に複数回BKウイルスが検出された患者では、ウイルスコピー数の最大値を採用した。

尿検体のBKウイルス検出は、東京都立小児総合医療センター分子生物学室でリアルタイムPCRを施行した。尿検体をボルテックス後、遠心せずに200 μ L取り出し、QIAamp MinElute Virus Spin Kit (QIAGEN, Valencia, CA, 米国)を用いて核酸を抽出した。そのうち10 μ Lを、定量用Primer & Probe mix (BKV) (サイメッド社、東京、日本)と定量増幅酵素(サイメッド社)と合わせて計20 μ Lとし、QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, 米国)を用いて、95 $^{\circ}$ Cで5秒後に45サイクルの95 $^{\circ}$ Cで10秒、60 $^{\circ}$ Cで30秒の温度設定でリアルタイムPCRを行った。尿検体でアデノウイルスPCRも同様の方法で行った。

統計解析にはSPSS Statistics 23(IBM, Chicago,

IL, 米国)を用いた。BKウイルス検出と移植の有無、免疫抑制薬投与の有無についてはFischerの直接検定、BKウイルス検出と年齢、血尿持続日数、好中球数、血小板数、クレアチニン値、CRP値についてはMann-Whitney U検定を行った。両側検定でp値が0.05未満を有意水準とした。本研究は、東京都立小児総合医療センターの倫理委員会承認を得た(倫理委員会番号H28b-96)。

II. 結果

肉眼的血尿または顕微鏡的血尿があり、BKウイルスのリアルタイムPCRを行った症例は17例であった(表1)。年齢の中央値は9歳(四分位範囲: 3～14歳)、男児が9例(53%)で、基礎疾患は17例(100%)全例で認めた。内訳は固形腫瘍8例、血液腫瘍疾患6例、腎疾患2例、原発性免疫不全症1例であった。造血幹細胞移植後症例は6例(35.3%)で、臍帯血移植が3例、骨髄移植が2例、末梢血幹細胞移植が1例であった。固形臓器移植の症例はなかった。免疫抑制薬投与中の症例は6例(35.2%)であった。

検査対象17例のうちBKウイルスの検出は7例(41.2%)であった。陽性例では男児4例(57%)、年齢中央値15歳(四分位範囲8～16歳)、移植後症例は4例(57%)であり、移植後日数は中央値56日であった。骨髄移植が2例、末梢血幹細胞移植が1例、臍帯血移植が1例であった。

免疫抑制薬使用例は4例(50%)であり、タクロリムス2例、シクロスポリン1例、プレドニゾン1例であった。

BKウイルス検出7例の臨床症状は、排尿時痛が4例(57%)、発熱2例(28.6%)であった。血尿持続日数は中央値9日(四分位範囲6.5～14.0日)であり、尿所見では赤血球円柱・顆粒円柱・変形赤血球はいずれも認めなかった。尿中BKウイルスコピー数は中央値 4.2×10^5 コピー/mL、最大値 2.6×10^9 コピー/mL(四分位範囲 $2.1 \times 10^4 \sim 8.1 \times 10^5$ コピー/mL)であった。またBKウイルス陽性の1例では尿中アデノウイルスも陽性(6.0×10^7 コピー/mL)であった。

BKウイルス陽性例と陰性例の2群間で比較すると、統計学的有意差のある項目はみられなかつ

表1 BKウイルス陽性群と陰性群の17例

No	年齢	性別	尿中BKV	尿中ADV	原疾患	移植種類	移植後日数	免疫抑制薬
1	18	男	+	-	慢性肉芽腫症	骨髄移植	220	PSL
2	16	女	+	-	横紋筋肉腫	末梢血幹細胞移植	28	CsA
3	16	男	+	+	急性骨髄性白血病			
4	15	女	+	-	縦隔腫瘍			
5	9	男	+	-	骨髄異形成症候群	骨髄移植	83	Tac
6	7	女	+	-	横紋筋肉腫			
7	2	男	+	-	急性骨髄性白血病	臍帯血移植	10	Tac
8	14	男	-	-	急性骨髄性白血病			
9	13	女	-	-	ループス腎炎			Tac + MMF
10	10	女	-	-	絨毛癌			
11	9	男	-	-	小脳髄芽腫			
12	7	男	-	-	急性リンパ性白血病	臍帯血移植	37	MMF + CsA + mPSL
13	5	男	-	-	急性リンパ性白血病	臍帯血移植	103	
14	3	女	-	-	神経芽細胞腫			
15	1	女	-	-	神経芽細胞腫			
16	1	女	-	-	網膜芽細胞腫			
17	5か月	男	-	-	急性尿細管間質性腎炎			

BKV: BKウイルス, ADV: アデノウイルス, PSL: プレドニゾロン, mPSL: メチルプレドニゾロン, Tac: タクロリムス, CsA: シクロスポリン, MMF: ミコフェノール酸モフェテル

表2 BKウイルス陽性群と陰性群の比較

項目	BKウイルス陽性 (n=7)	BKウイルス陰性 (n=10)	p値
年齢(歳)	15.0 (8.0 ~ 16.0)	6.0 (1.5 ~ 9.7)	0.055
造血幹細胞移植	4/7 (57%)	2/10 (20%)	0.162
免疫抑制薬使用	4/7 (57%)	2/10 (20%)	0.162
血尿持続日数	9 (6.5 ~ 14)	6.5 (3 ~ 12.5)	0.315
好中球数(/ μ L)	540 (308 ~ 7,999)	7,088 (1,444 ~ 8,942)	0.315
血小板数(万/ μ L)	7.1 (4.3 ~ 14.3)	7.65 (5.3 ~ 20.0)	0.669
クレアチニン値(mg/dL)	0.33 (0.27 ~ 0.46)	0.375 (0.20 ~ 0.81)	0.813
CRP値(mg/dL)	0.75 (0.23 ~ 1.02)	3.89 (0.66 ~ 8.22)	0.088

() は四分位範囲を示す。

た(表2)。BKウイルス陽性例での出血性膀胱炎の治療としては、対症療法のみを行った。尿から血餅流出がみられた例は、輸液療法や膀胱カテーテル留置を行い、尿閉や明らかな尿管狭窄などの合併症はみられなかった。血小板減少症の合併の

ため血小板輸血を要した例は3/7例であり、うち全例で免疫抑制薬投与を行っていた。血小板輸血を行わなかった4例では、1例のみ免疫抑制薬投与を行っていた。2例(29%)で免疫抑制薬の減量が行われた。

III. 考 察

本研究は、本邦における小児のBKウイルスによる血尿の報告である。過去の報告では造血幹細胞移植後の免疫抑制状態で多い傾向が認められた⁹⁾。本研究において免疫抑制者数の割合はBKウイルス陽性群・陰性群で統計学的有意差を認めなかったが、解析症例数が少なかったことも一因と思われる。また先行研究では、BKウイルスによる腎泌尿器感染症の重症化因子として急性移植片対宿主病と臍帯血移植があげられている¹³⁾。本研究でも、臍帯血移植が行われ免疫抑制薬内服中・骨髄抑制中であった1例がBKウイルス感染症となり、血尿を伴う血小板減少症に対し血小板輸血を要した。

統計学的有意差は出なかったが、BKウイルス陽性群で年齢が高く、CRP値が低い傾向にあった。年齢については、BKウイルスの自然感染自体が年齢上昇に伴って増えるので⁸⁾、既感染を反映している可能性がある。CRP値が低い点については、BKウイルス陽性群はウイルス感染で炎症の惹起が少なく、BKウイルス陰性群はウイルス感染以外の機序による血尿であったためと推測される。

血清クレアチニン値はBKウイルス陽性群と陰性群で差はなく、BKウイルスによる出血性膀胱炎は腎障害には進展しなかった。BKウイルスによる腎障害は、腎臓移植後での報告が多いが造血幹細胞移植後でも報告がある^{18, 20)}。本研究での陽性群7例の範囲では腎症に至った例はみられなかったが、造血幹細胞移植後で薬剤性以外の原因不明の腎障害では鑑別にあげるべきである。

本研究の限界として、BKウイルスの検査適応が一定でない。主に合併症の多い免疫不全の基礎疾患が多い患児に検査がより施行された可能性があり、外来の軽症の健常児の出血性膀胱炎では検査がされていない。先行研究では、健常成人の尿BKウイルスPCR陽性の頻度は7～15%^{21, 22)}、小児では6.6%²²⁾という報告がある。また血液中のBKウイルスが全例で評価できておらず、ウイルス血症との相関が検討できなかった。陽性群においてシクロフォスファミド投与中の血尿患者が2

例みられたが、細菌培養検査は一部の症例でしか実施されておらず、除外診断が不十分のため薬剤性の出血性膀胱炎についての評価もできていなかった。

結 語

BKウイルス陽性群では、有意差はないが年齢が高い傾向がみられ、既感染による再活性化が示唆された。免疫不全児の血尿では、BKウイルスが鑑別として重要である。

謝辞：検体処理をしてくださった東京都立小児総合医療センター分子生物学室の木下和枝さんに深謝致します。

本論文の要旨は第48回日本小児感染症学会学術集会（岡山）において発表した。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はない。

文 献

- 1) DeCaprio JA, et al : Polyomaviruses. In Knipe D, et al (eds): Fields Virology, 6th ed, pp1633-1661, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2013
- 2) 畔柳佳幸, 他 : 生体腎移植後に発生したBKウイルス腎症の1例. 日本小児腎不全学会雑誌 32: 128-130, 2012
- 3) 石塚喜世伸, 他 : BKウイルス腎症の診断と治療に苦慮した小児腎移植の1例. 日本臨床腎移植学会雑誌 2 : 225-229, 2014
- 4) Hirsch HH, et al : BK virus in solid organ transplant recipients. Am J Transplant 9 (Suppl 4): S136-146, 2009
- 5) Randhawa P, et al : BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. Am J Transplant 6 : 2000-2005, 2006
- 6) Chittick P, et al : BK virus encephalitis: case report, review of the literature, and description of a novel treatment modality. Ann Pharmacother 47 : 1229-1233, 2013
- 7) Shah KV, et al : High prevalence of antibodies to BK virus, an SV40-related papovavirus, in residents of

- Maryland. *J Infect Dis* 128 : 784-787, 1973
- 8) Flaegstad T, et al: Age-dependent prevalence of BK virus IgG and IgM antibodies measured by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). *J Hyg (Lond)* 96: 523-528, 1986
 - 9) Pinto M, et al: BK and JC virus : a review. *J Infect* 68 (Suppl 1) : S2-8, 2014
 - 10) Reploeg MD, et al: Bk virus : a clinical review. *Clin Infect Dis* 33 : 191-202, 2001
 - 11) 清水次子, 他 : 小児同種骨髄移植に合併した出血性膀胱炎の検討. *日本小児腎臓病学会雑誌* 13: 27-32, 2000
 - 12) Yamamoto Y, et al : The kinetics of urinary shedding of BK virus in children with renal disease. *Microbiol Immunol* 59 : 37-42, 2015
 - 13) Rorije NM, et al : BK virus disease after allogeneic stem cell transplantation: a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 20 : 564-570, 2014
 - 14) Arthur RR, et al : Association of BK viremia with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med* 315 : 230-234, 1986
 - 15) Megged O, et al : BK-virus-associated hemorrhagic cystitis in children after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol* 33 : 190-193, 2011
 - 16) Takayama T, et al : BK virus nephropathy: clinical experience in a university hospital in Japan. *Int J Urol* 16 : 924-928, 2009
 - 17) Philippe M, et al : Cidofovir in the Treatment of BK Virus-Associated Hemorrhagic Cystitis after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 22 : 723-730, 2016
 - 18) Aksenova M, et al: BK virus nephropathy in a pediatric patient after hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* 19: E29-32, 2015
 - 19) Shah T, et al : Efficacy of Intravenous Immunoglobulin in the Treatment of Persistent BK Viremia and BK Virus Nephropathy in Renal Transplant Recipients. *Clin Transpl* : 109-116, 2014
 - 20) Gonzalez S, et al : BK Virus Nephropathy in Kidney Transplantation : An Approach Proposal and Update on Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Transplant Proc* 47 : 1777-1785, 2015
 - 21) Egli A, et al : Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis* 199 : 837-846, 2009
 - 22) Polo C, et al : Prevalence and patterns of polyomavirus urinary excretion in immunocompetent adults and children. *Clin Microbiol Infect* 10 : 640-644, 2004

Children with BK virus infection diagnosed by real-time PCR in urine

Sho ISHII¹⁾, Yoshiaki CHO¹⁾, Kahoru FUKUOKA¹⁾, Takayuki YAMANAKA¹⁾,
Takemi MURAI¹⁾, Mihoko ISOGAI¹⁾, Yuta AIZAWA¹⁾, Yuho HORIKOSHI¹⁾

1) *Department of Infectious Disease Medicine, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center*

The BK virus causes benign diseases from which most humans have asymptomatic or mild infections during childhood, and it becomes latent in urological organs after primary infection. Reactivation in an immunocompromised host can occur in post-hematopoietic stem cell transplant and post-kidney transplant patients. Patients with the BK virus in post-hematopoietic stem cell transplants commonly present with hemorrhagic cystitis or ureteral stenosis. To date, little is known regarding the clinical spectrum of Japanese children with the BK virus. The aim of this study was to describe the clinical characteristics of the BK virus in children with hematuria, and those tested between April 2013 and June 2016 at the Tokyo Metropolitan Children's Medical Center were included in this research. Real time PCR was performed for urinary specimens. Among 17 children (median age 9 years) with hematuria, the BK virus was detected in 7. Four of them had a hematopoietic stem cell transplant and received

immunosuppressive therapy. There was no significant difference in characteristics between the BK virus positive and negative group in the hematuria patients, but a tendency of higher age and lower C-reactive protein was observed in the BK virus group ($p < 0.1$). Younger patients were likely to be the BK virus naïve, and the BK virus might trigger less inflammatory response than other causes of hemorrhagic cystitis, which is managed by supportive therapy. Three of the patients in a post- hematopoietic stem cell transplant required platelet transfusion for bleeding control. The BK virus is a differential pathogen especially in immunocompromised children with hematuria.

Key words: BK virus, real-time PCR, immunocompromised children, hematopoietic stem cell transplant, hemorrhagic cystitis

(受付：2017年2月2日，受理：2017年9月4日)

* * *