



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการความสัมพันธ์ระหว่างตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกับการติดเชื้อไวรัสโพลีโอมาใน
ปัสสาวะในผู้ป่วยเด็กที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

โดย อาจารย์แพทย์หญิงพรพิมล เรียนถาวรและคณะ

มิถุนายน 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการความสัมพันธ์ระหว่างตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกับการติดเชื้อไวรัสโพลีโอมาใน
ปัสสาวะในผู้ป่วยเด็กที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

ผู้วิจัย

- อาจารย์แพทย์หญิงพรพิมล เรือนถาวร
- นางสาว อภิรดี เทียมบุญเลิศ
- ผู้ช่วยศาสตราจารย์สัญญาชัย พยุภกร
- ศาสตราจารย์นายแพทย์ ยงภูววรรณ

สังกัด

- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สภากาชาดไทย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และ (มหาวิทยาลัยต้นสังกัด)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5380168

ชื่อโครงการ: โครงการความสัมพันธ์ระหว่างตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกับการติดเชื้อไวรัสโพลิโอมาในปัสสาวะ
ในผู้ป่วยเด็กที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: อาจารย์แพทย์หญิงพรพิมล เรียนถาวร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อีเมล: prianthavorn@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

ความชุกของการตรวจแยกไวรัสโพลิโอมาได้จากปัสสาวะพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือได้รับยากดภูมิ การศึกษานี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาถึงความชุกของการตรวจพบไวรัสโพลิโอมาชนิด BK, JC, WU, KI, Merkel cell หรือ MC และ Trichodysplasia spinulosa หรือ TSPyV ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ได้รับยากดภูมิ ร่วมกับการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยกลุ่มนี้และการตรวจพบไวรัสโพลิโอมาในปัสสาวะโดยวิธีการ polymerase chain reaction (PCR) ผู้ป่วยโรคลูปัสอายุน้อยกว่า 18 ปี จำนวน 50 คนได้เข้าร่วมการศึกษา ข้อมูลลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยได้จากเวชระเบียน จากผลการตรวจปัสสาวะพบไวรัสโพลิโอมาชนิด BK จำนวน 16 ราย (32%) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าความชุกที่รายงานในเด็กปกติ พบไวรัสโพลิโอมาชนิด JC จำนวน 8 ราย (16%) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความชุกที่รายงานในเด็กปกติ ตรวจไม่พบไวรัสโพลิโอมาชนิด WU, KI, MC และ TSPyV เมื่อตรวจวัดปริมาณ transforming growth factor (TGF)- β ในปัสสาวะพบว่าระดับ TGF- β /creatinine ของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสโพลิโอมาชนิด JC สูงกว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสโพลิโอมาชนิด BK, ผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลิโอมาและเด็กปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ anti-double stranded DNA ของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสโพลิโอมาชนิด JC มีระดับต่ำกว่าในผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสโพลิโอมาชนิด BK และผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลิโอมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสควรได้รับการตรวจหาไวรัสโพลิโอมาในปัสสาวะเนื่องจากมีความชุกสูงกว่าในเด็กปกติโดยเฉพาะไวรัสโพลิโอมาชนิด BK อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยกลุ่มนี้และการตรวจพบไวรัสโพลิโอมาในปัสสาวะยังไม่ชัดเจนและต้องการการศึกษาเพิ่มเติม

คำหลัก : ไวรัสโพลิโอมา ผู้ป่วยเด็กโรคลูปัส ยากดภูมิ TGF- β

Abstract

Project Code : MRG5380168

Project Title : Early urinary biomarkers associated with polyomavirus viruria in immunocompromised children

Investigator : Dr. Pornpimol Rianthavorn

E-mail Address : prianthavorn@yahoo.com

Project Period : 2 years

Abstract:

Background:

The prevalence of polyomavirus reactivation was higher in immunocompromised patients than in normal population. This study was done to investigate prevalence and the association between viruria of five polyomaviruses (BK, JC, WU, KI, Merkel cell or MC and Trichodysplasia spinulosa or TSPyV) and clinical manifestations of pediatric patients with systemic lupus erythematosus (SLE) on long-term immunosuppressants.

Material and Methods:

Pediatric patients (younger than 18 years of age) with the diagnosis of SLE were recruited. Clinical characteristics of the patients were obtained from medical record review. Blood were evaluated for platelet counts, hemoglobin, anti-double stranded (ds) DNA antibody and creatinine levels. Glomerular filtration rate (GFR) was calculated by using serum creatinine. Urine profiles were assessed by urinalysis. DNA was extracted from centrifuged urine and polyomavirus DNA was amplified by using specific primers for BK, JC, WU, KI, MC and TSPyV. Urine transforming growth factor (TGF)- β 1 levels were measured by ELISA. Urine specimens from 30 healthy children were used as controls.

Results:

Fifty patients (9 males and 41 females) with the mean age of 13 ± 2.8 years (range 4-21 years) were included in the study. Trichodysplasia spinulosa was not observed in any patients. Polyomavirus was identified in urine specimens from 24 patients. BK viruria was found in 16 patients (32%) whereas JC was found in 8 patients (16%). WU, KI and TSPyV were not isolated from urine specimens of any patients. Only single virus was isolated from each urine specimen. There was no significant difference among the age, type of immunosuppressants, hemoglobin levels, platelet counts, GFR and urinary profiles of patients with BK viruria, JC viruria and without viruria. Urine TGF- β /creatinine levels was significantly higher in patients with JC viruria than those with BK viruria, without polyomaviruria and controls ($P<0.05$). Remission of SLE (defined by negative anti-ds DNA antibody) was found in a higher rate in patients with JC viruria compared with patients with BK viruria or without viruria ($P<0.03$).

Conclusion:

The prevalence of BK viruria was higher in pediatric patients with SLE on long term immunosuppressants. The clinical significance of BK viruria in this group of patients has yet to be determined. Minimization of immunosuppressants and close clinical monitoring are extremely crucial to prevent BK nephropathy.

Keywords : polyomavirus, pediatric, systemic lupus erythematosus, immunosuppression, TGF- β

Executive summary

1. Significance and Background

The polyomaviruses are composed of small, non-enveloped, icosahedral virions with a supercoiled double-stranded DNA genome. The virion consists of 72 pentamers of the major capsid protein VP1, with each pentamer associated with a single copy of the minor capsid protein VP2 or VP3. Polyomaviruses have very restricted host ranges. The first human polyomaviruses, BK virus (BKV) and JC virus (JCV) were isolated in 1971 from urine and brain tissue of patients, respectively. KI polyomavirus (KI), WU polyomavirus (WU) were just isolated in 2007 and Merkel cell polyomavirus (MCV) in 2008. Trichodysplasia spinulosa polyomavirus (TSPyV) is most recently identified in 2011.

It is suggested that polyomavirus infection occurs during childhood as BKV seropositivity reaches 90% in children aged 5 to 9 and JCV positivity reaches 50-60% after the age of 10⁸. The mode of transmission of BKV and JCV is not completely understood but the discovery of nonintegrated forms of BKV DNA in tonsillar tissues of children with respiratory diseases suggests that respiratory transmission is the principal mode of transmission¹¹. Primary infections with BKV and JCV are typically subclinical or linked to a mild respiratory illness. Subsequently, the virus spreads to the cells of the kidney and urinary tract which become the tissues of lifelong persistent infection. BKV DNA can be detected in 30-50% of normal kidney tissue whereas JCV DNA can be found in 10-50% of normal kidney tissue. Approximately, 5% of immunocompetent individuals have BKV viremia while 20-30% of those have JCV viremia. The prevalence of polyomavirus viremia is much higher in immunocompromised individuals ranging from 50-100% for BKV and approximately 40% for JCV.

Since the initial discovery of KI and WU from respiratory specimens, available data suggest that primary infection with KI or WU occurs during childhood similar to that of BKV and JCV. The pathogenicity of KI and WU remains speculative since viral sequences were detected at similar frequencies in asymptomatic control patients and in patients with respiratory illnesses. The prevalence of KI and WU infection diagnosed by viral isolation from respiratory secretion were reported as 8% and 1% in immunocompetent patients and 18% and 5% in patients with stem cell transplantation. In a report studying the prevalence of KI and WU in respiratory secretion of children in Thailand, the prevalence of KI was lower than WU (2% vs. 6%). The prevalence and consequences of KI, WU, MCV and TSPyV viremia in immunocompromised children are not known.

In contrast to asymptomatic infection in immunocompetent hosts, human polyomaviral infection can cause severe diseases in immunocompromised individuals. The fact that the levels of BKV viremia were correlated with the degree of immunosuppression suggested that the diseases

were the result of the reactivation of the latent infection rather than reinfection. Reactivation of the virus has been observed in individuals with altered immune conditions including solid organ transplantation, bone marrow transplantation (BMT), autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) and patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). How the host immunity controls the severity of infection from polyomavirus remains unknown.

For BKV, the consequences of viral reactivation are severely observed in kidney transplant patients leading to polyomavirus nephropathy (PVN). BKV viruria and viremia are found in up to 80% of kidney transplant patients and 10% of the patients develop PVN and allograft loss. PVN occurs almost exclusively in transplanted kidneys but hardly affect native kidneys without a clear explanation. There have been only a few case reports of PVN in native kidney after cord blood transplantation. The current standard diagnosis of PVN is made by histopathology or immunohistochemistry analysis of kidney biopsies. In patients with BMT, BKV infection usually manifests with acute hemorrhagic cystitis.

By contrast, JCV viruria does not correlate with the degree of immunosuppression. JCV caused a few reported cases of JCV nephropathy in patients with kidney transplantation. JCV often causes neurologic manifestations as periventricular leukomalacia (PML) in immunocompromised patients particularly in patients with AIDS. Considering similarities between BKV and JCV in nucleotide sequences and potential route of transmission, more research is warranted to investigate whether infection with KI and WU can cause persistent viruria and create produce adverse effects on kidney tissues.

Although histopathology of a kidney biopsy tissue is the gold standard for diagnosis of kidney injury, it is an invasive procedure and can cause significant morbidity. Several studies have confirmed that serum creatinine is an unreliable indicator during acute changes in kidney function. Hence, several early predictive urinary biomarkers including transforming growth factor (TGF)- β .

Although the prevalence of polyomavirus viruria is extremely high and the consequences of polyomavirus reactivation can be life threatening, there have not yet been any researches studying the effect of polyomavirus viruria in children with SLE on immunosuppressants. In regard to the invasiveness of the kidney biopsy procedure, we proposed to study the urinary biomarkers including TGF- β and clinical manifestations of children who develop polyomavirus viruria.

2. Objectives of the study

- 2.1. To study the prevalence of polyomavirus (BK, JC, WU, KI, merkel cell or MC and trichodysplasia spinulosa or TS) viruria in children with SLE receiving immunosuppressants
- 2.2. To study the association of polyomavirus viruria on clinical characteristics and urinary transforming growth factor (TGF)- β in children with SLE receiving immunosuppressants

3. Patients and Methods

3.1. Patients

Study population: 50 children aged 0-18 years with SLE receiving immunosuppressants

Control group: 30 immunocompetent children aged 10-15 years

3.2. Methods

Specimen collection

After informed consent was obtained, pertinent demographic data were recorded. Each subject provided 5 ml of blood and 50 ml of urine specimen. The complete blood count, serum creatinine, complement 3 level, anti-double stranded DNA, urinalysis, urine protein and urine creatinine was measured at the certified central laboratory of King Chulalongkorn Memorial Hospital. The urine samples was centrifuged at 2000 x g for 5 minutes. Supernatants and precipitates was stored in aliquots at -80 °C until further used.

Polyomavirus detection

DNA will be extracted from centrifuged urine using TRI REAGENT® LS (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH) and the resulting pellets were dissolved in 20 ul of 8mM NaOH solution or DEPC-treated water for DNA. Polyomaviral DNA will be amplified using techniques previously described²⁵ by using specific primers for BK/ JC/ KI/ WU/MC and TS polyomaviruses.

Quantification of urine TGF-β by ELISA

Urine TGF- β was measured with commercially available ELISA kits (Quantikine, R&D Inc., Minnesota, MN).

Data analysis

For continuous variable, the Student's t-test was used to compare variables between 2 groups, and ANOVA was used to compare variables among the groups. For categorical variable, the X^2 test was used for comparison. *P* values of less than 0.05 were considered as statistical significance.

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 2.1. เพื่อศึกษาถึงความชุกของการตรวจแยกไวรัสโพลีโอมาชนิด BK, JC, WU, KI, MCV และ TSPyV ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ได้รับยากดภูมิ
- 2.2. เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบไวรัสโพลีโอมาในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ได้รับยากดภูมิ และลักษณะทางคลินิกและระดับ TGF- β ในปัสสาวะ

3. วิธีทดลอง

- 3.1. ประชากรที่ทำการศึกษา ได้แก่ ผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสอายุน้อยกว่า 18 ปีที่ติดตามการรักษาที่แผนกกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้รับยากดภูมิ เช่น prednisolone, tacrolimus, mycophenolate mofetil, cyclophosphamide or rapamycin
- 3.2. ประชากรกลุ่มควบคุม ได้แก่ เด็กปกติอายุ 10-15 ปี
การทดลองนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 3.3. ระเบียบวิธีวิจัย

Specimen collection

After informed consent is obtained, pertinent demographic data will be recorded. Each subject will provide 5 ml of blood and 50 ml of urine specimen. Blood were evaluated for platelet counts, hemoglobin, anti-double stranded (ds) DNA antibody and creatinine levels. Glomerular filtration rate (GFR) was calculated by using serum creatinine. Urine profiles were assessed by urinalysis. Urine protein and urine creatinine will be measured at the certified central laboratory of King Chulalongkorn Memorial Hospital. The urine samples will be centrifuged at 2000 x g for 5 minutes. Supernatants and precipitates will be stored in aliquots at -80 °C until further used. Urine specimens from 30 healthy children were used as controls.

Viral purification

Virus particles were separated by ultra-centrifuge; ProteomeLab™ XL-A/XL-I (Beckman Coulter) 40,000 rpm, 3hrs at 4 °C. Then, the particles were kept and dissolved with 500 μ l PBS

Nucleic acid extraction and cDNA synthesis

DNA were extracted by Phenol/Chloroform extraction and final elution of the nucleic acids with 30 μ l of distilled water.

Specific primer designs

Nucleotide sequences of JC virus, BK virus, WU virus, KI virus, MCV, TSV and β -globin gene (internal control) were obtained from the Gen Bank database. More than 40 sequences of each target gene were subjected to multiple alignments using the BioEdit Sequence Alignment Editor Version 7.0.9.0. The conserved regions were selected as candidate primers for the *in silico* specificity test by BLAST analysis (available online at <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) to ensure the specificity of the selected primers without cross-amplification of genes. Subsequently, the candidate primers were evaluated by Oligos primer design software version 9.1 (Ruslan Kalendar, Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Finland) to ensure absence of primer-dimers, self-pairing and secondary structure. All specific primers used in this study were synthesized by BioDesign Co.,Ltd., Pathumthani, Thailand and are summarized in Table 1.

ตารางที่ 1: Primers used for nested PCR amplification of polyomaviruses

| Primer name | Primer | Position | Product size (base pair) |
|-------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------------|
| JC/BK_4337F | 5' -CCTTATTMACACCYTTACAAATTAA-3' | 4337- 4361 | |
| KI/WU_4337F | 5' -CATTATTAACWCCTTTACARAATAA-3' | 4337- 4361 | 248 |
| SP6- | 5' -GATTTAGGTGACACTATAGTCAGTCA | 4585- | |
| JC/BK_4585R | AGCTGTRTTTAGTAATA-3' | 4562 | |
| SP6- | 5' -GATTTAGGTGACACTATAGTGTCWCAW | 4585- | |
| KI/WU_4585R | GCTGTATTTAGTAATA-3' | 4562 | |
| JC/BK_4390F | 5' -TAATTATTAATTGCWGAMACTCTATG-3' | 4390- 4415 | |
| KI/WU_4390F | 5' -AAGTTATTAAYAGCACTAACTCTATG-3' | 4390- 4415 | 195 |
| SP6- | 5' -GATTTAGGTGACACTATAGTCAGTCA | 4585- | |
| JC/BK_4585R | AGCTGTRTTTAGTAATA-3' | 4562 | |
| SP6- | 5' -GATTTAGGTGACACTATAGTGTCWCAW | 4585- | |
| KI/WU_4585R | GCTGTATTTAGTAATA-3' | 4562 | |
| MCV_F552 | 5'-GCAACTTAGAGATTCTAAGTGC-3' | 552-574 | |
| MCV_F644 | 5'-ACGTGGGGAGAGTGTTTTTGC-3' | 644-664 | 216 |
| MCV_R860 | 5'-GTCATAAATAACCTTTCTTTGA-3' | 839-860 | |
| TSV_F552 | 5'-TGACAGTTGAAGGCCTATCTGC-3' | 552-574 | |
| TSV_F644 | 5'-ACCTGGGATGCTGTCAGAAGC-3' | 644-664 | 216 |
| TSV_R860 | 5'-GGCAAATGTTTGTACCCCTGGA-3' | 839-860 | |

Detection of polyomaviruses by nested PCR amplification

The reaction mixture for the first round of nested PCR included 10 μ l of 2.5 \times Eppendorf MasterMix (Eppendorf, Hamburg, Germany), 1 μ l of DNA template, 0.2 μ M final concentration of each primer and nuclease-free water to a final volume of 25 μ l. The PCR reactions were performed in a thermal cycler (Eppendorf, Hamburg, Germany) under the following conditions: initial denaturation at 94 °C for 3 min, 40 cycles of amplification consisting of 94 °C for 30 sec, 55 °C for 30 sec, and 72 °C for 1min, and final extension at 72 °C for 7min. The second round of nested PCR was performed using a similar reaction mixture and thermal cycling profile as described above but changing the primer pair and using the PCR product from the first round as a template for nested amplification. The PCR products obtained from the second round of amplification were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis at 100 volts, for 40 minutes. Subsequently, the agarose gel was stained with ethidium bromide and visualized under UV transillumination. The expected size of each amplified product is summarized in Table 1.

DNA purification and nucleotide sequencing

The PCR products of interest were purified by using the Perfect Prep Gel Cleanup Kit (Eppendorf, Hamburg, Germany) following the company's protocol with the final elution performed in 40 μ l of elution buffer. The purified DNA was subjected to nucleotide sequence determination by a commercially available sequencing service (1st BASE Laboratories, Selangor Darul Ehsan, Malaysia).

Sequencing analysis

Nucleotide sequences were analyzed by BLAST analysis tool (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), BioEdit Sequence Alignment Editor version 7.0.9.0 [14] and Chromas Lite version 2.01 (Technelysium Pty Ltd).

Quantification of Urine TGF- β

Urine TGF- β was measured with commercially available ELISA kits (Quantikine, R&D Systems, Inc, Minneapolis, MN).

Data analysis

For continuous variable, the Student's t-test will be used and for categorical variable, the χ^2 test will be used for calculation. *P* values of less than 0.05 will be considered as statistical significance.

5. ผลการทดลอง

เมื่อเสร็จสิ้นการศึกษา ได้รวบรวมผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสจำนวน 50 คน อายุ 4-18 ปีได้เข้าร่วมในการศึกษานี้ ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัส

| Patient characteristics | |
|--|--------|
| Gender distribution (male:female) | 9:41 |
| Age (years) | 13±2.8 |
| Immunosuppressive medications (number) | |
| Prednisolone | 50 |
| Mycophenolate mofetil | 33 |
| Cyclophosphamide | 25 |
| Azathioprine | 4 |
| Tacrolimus | 3 |

จากผลการตรวจหาไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะของผู้ป่วย พบไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะของผู้ป่วยจำนวน 24 ราย โดยพบเป็นไวรัส BK จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 32) ไวรัส JC จำนวน 8 ราย (ร้อยละ 16) ตรวจไม่พบไวรัส WU, KI, MCV หรือ TSPyV ในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วย จากแต่ละตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะ สามารถแยกไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ตารางที่ 3 เปรียบเทียบความชุกของไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะที่ได้จากการศึกษานี้กับความชุกของไวรัสโพลีโอมาโนปัสสาวะที่รายงานในการศึกษาในอดีต

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบความชุกของไวรัสโพลีโอมาที่ได้จากการศึกษานี้กับความชุกของไวรัสโพลีโอมาที่รายงานในการศึกษาในอดีต

| Polyomavirus | ความชุก (%) | | | |
|---------------|-------------------|--|-------------------|------------------|
| | ประชากรปกติ | | ผู้ป่วยโรคไต | ผู้ป่วยเด็กโรคไต |
| | 0-19 ปี | 20-89 ปี | | |
| BKV viruria | 15-22 [1] | 15-45 [1], 0.96[2] 17.2[3] 18.6 [4] | 32[3] 71.6[4] | 32 |
| JCV viruria | 10-15 [1] | 40-70 [1] 34.8[2] | 67 [5] | 16 |
| WuV viruria | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 |
| KiV viruria | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 |
| MCV viruria | ยังไม่เคยมีรายงาน | ยังไม่เคยมีรายงาน | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 |
| TsPyV viruria | ยังไม่เคยมีรายงาน | ยังไม่เคยมีรายงาน | ยังไม่เคยมีรายงาน | 0 |

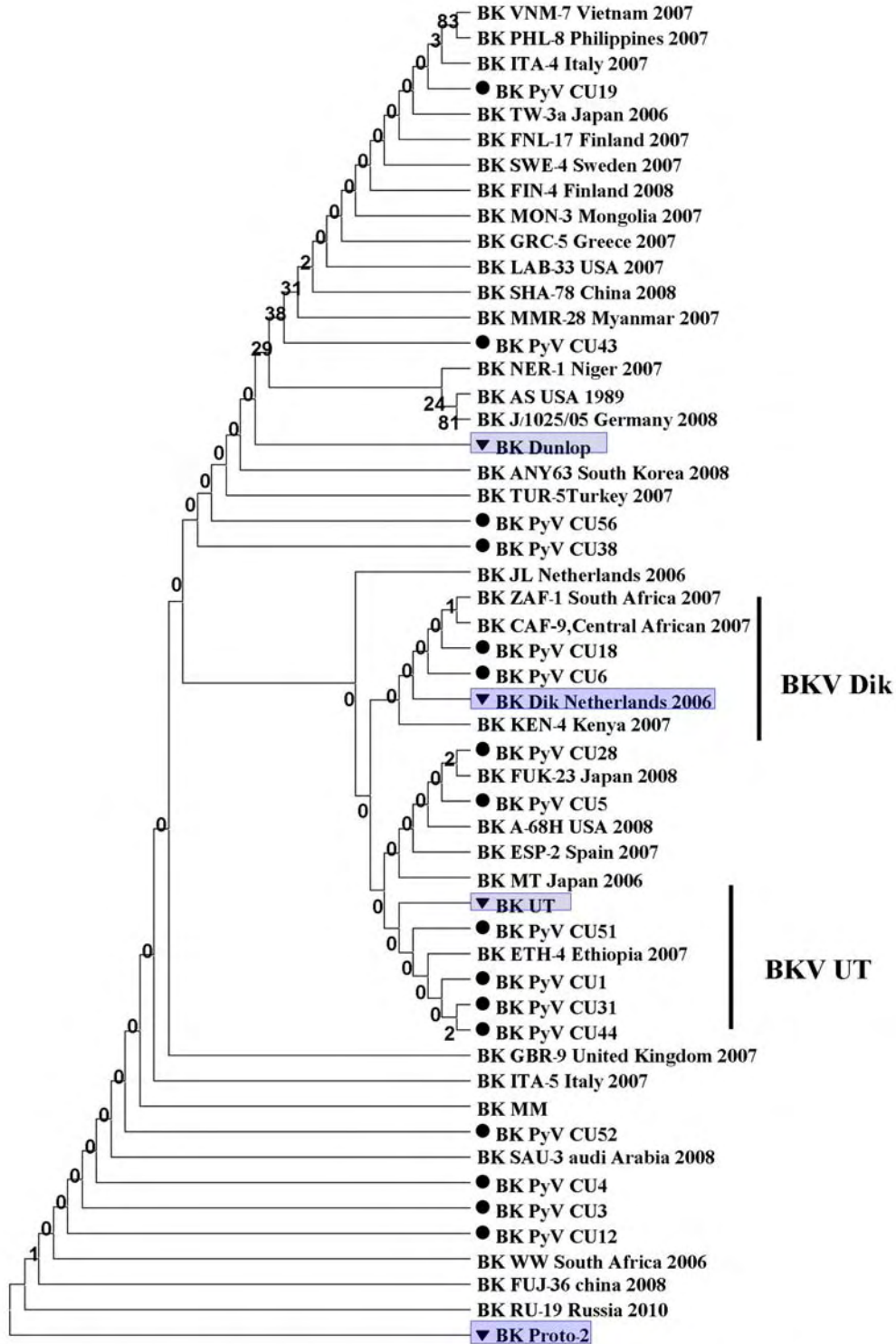
ระดับ TGF- β ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคไตที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด JC สูงกว่าผู้ป่วยเด็กโรคไตที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK และผู้ป่วยเด็กโรคไตที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลีโอมา (ตารางที่ 4) ระดับ TGF- β /creatinine ratio ในปัสสาวะของเด็กปกติมีค่า 0.009 ± 0.029 ng/mg ของครีเอตินิน

ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยเด็กโรคไตที่ตรวจพบโพลีโอมาไวรัสในปัสสาวะ แสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ตรวจพบโพลีโอมาไวรัสในปัสสาวะเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโพลีโอมาไวรัสในปัสสาวะและเด็กปกติ

| | BK | JC | No viruria | P |
|---|-----------|-----------|------------|-------|
| Number (%) | 16 (32) | 8 (16) | 26 (52) | |
| Male | 1 | 2 | 6 | |
| Female | 15 | 6 | 20 | |
| Age (years) | 13.8±3.0 | 13.1±4.1 | 13.5±2.2 | |
| Hemoglobin (g/dL) | 11.3±1.7 | 12.2±1.9 | 11.5±2.1 | |
| White blood count ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 9.0±4.1 | 8.9±4.6 | 8.4±4.0 | |
| Platelet count ($\times 10^3$) | 324±90 | 284±62 | 273±94 | |
| Serum creatinine (mg/dL) | 0.86±1.03 | 0.65±0.25 | 0.75±0.50 | |
| Complement 3 (mg/dL) | 80.9±32.1 | 77.9±30.2 | 95.4±54.0 | |
| Anti-double stranded DNA (number) | 8 (50) | 0 (0) | 11 (42) | <0.05 |
| Urine red blood cell (number) | 3 (19) | 4 (50) | 12 (46) | |
| Urine white blood cell (number) | 2 (13) | 3 (38) | 11 (42) | |
| Urine protein/creatinine ratio | 1.99±3.85 | 3.95±5.91 | 1.73±1.81 | |
| Urine TGF- β /creatinine (ng/mg) | 0.09±0.34 | 0.30±0.34 | 0.13±0.57 | <0.05 |

phylogenetic tree ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ทั้ง 16 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสในการศึกษานี้เทียบกับไวรัสโพลีโอมาชนิด BK สายพันธุ์อื่นๆ ที่รายงานไว้ในฐานข้อมูลของ Genbank แสดงในรูปที่ 2



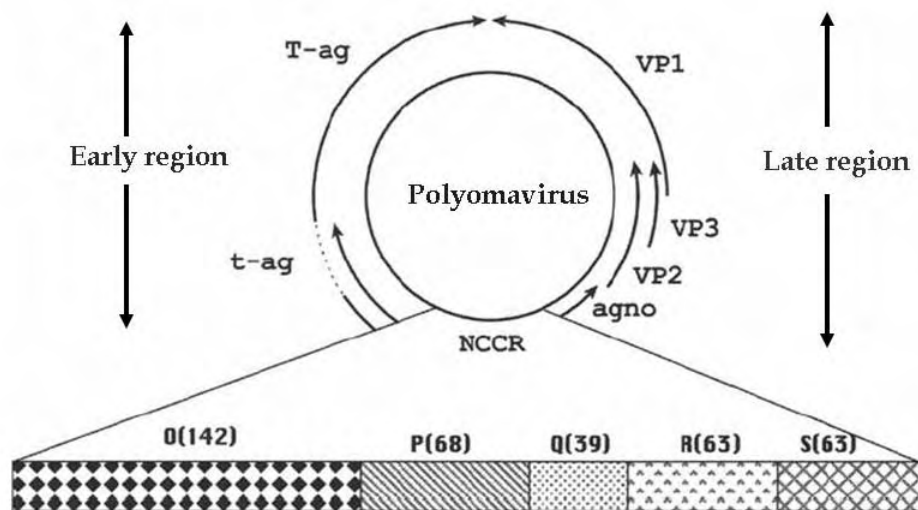
Phylogenetic tree of 16 isolated BKV (●) compared with BKV strains UT, Dik, Dunlop, Proto-2 (▼) and other BKV strains reported in GenBank

รูปที่ 2 phylogenetic tree ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ทั้ง 16 สายพันธุ์ที่แยกได้ผู้ป่วยเด็กโรคลูปัส

6. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ไวรัสโพลิโอมาเป็นไวรัสชนิด DNA ที่ไม่มี envelop โครงสร้างของไวรัสโพลิโอมาประกอบด้วย icosahedral capsid และ double-stranded DNA (ds-DNA) ที่มีลักษณะเป็นวงกลมประกอบด้วยคู่เบส ประมาณ 5300 คู่ โดยในส่วนของ double-stranded DNA ของไวรัสสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน [2] (รูปที่ 3) ดังนี้

1. early region ประกอบด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมซึ่งเมื่อถูกถอดรหัสจะได้ large tumor antigen (T-ag) และ small tumor antigen (t-ag)
2. late region ประกอบด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมซึ่งเมื่อถูกถอดรหัสจะได้โปรตีนซึ่งเป็นโครงสร้าง capsid ของไวรัส ได้แก่ VP1, VP2 และ VP3 นอกจากนี้ยังได้ agnoprotein
3. noncoding control region (NCCR) ซึ่งมีหน้าที่เป็นจุดเริ่มต้นของการเพิ่มจำนวนของไวรัสและการสร้างโปรตีนต่างๆ NCCR สามารถแบ่งออกเป็นส่วนย่อยชื่อ O, P, Q, R และ S [2] ดังรูปที่ 3

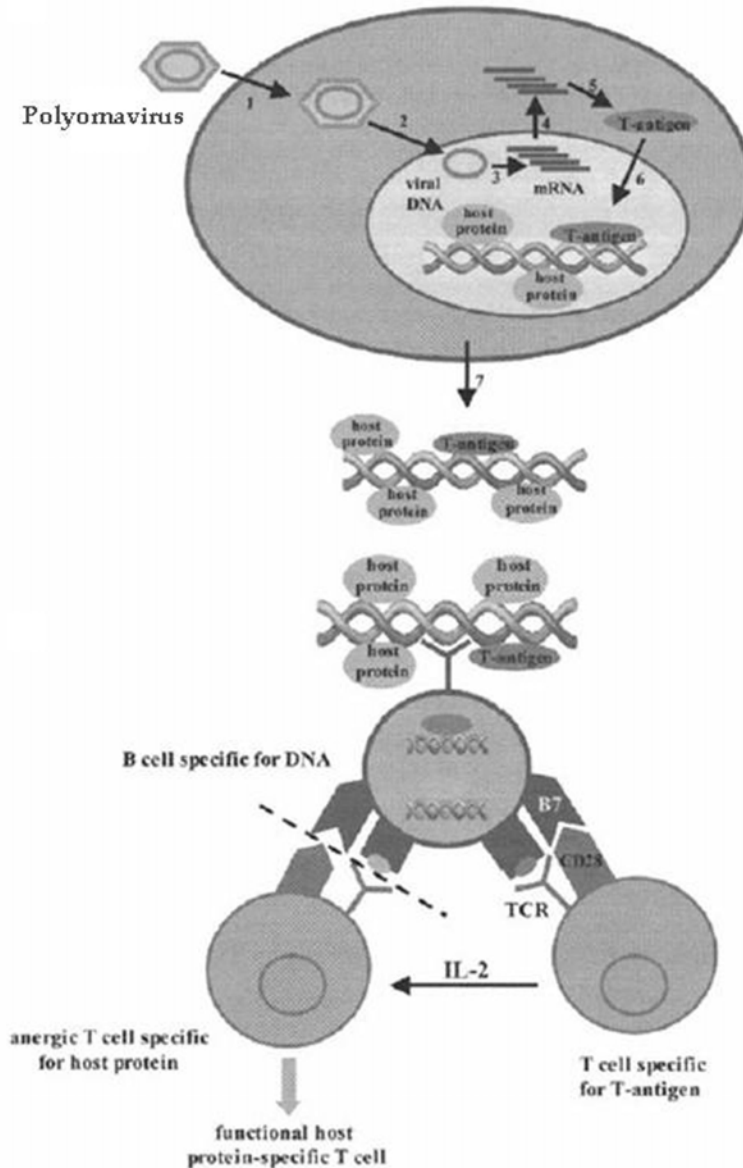


รูปที่ 3 โครงสร้างทางพันธุกรรมของไวรัสโพลิโอมา [2] (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่ 2)

โปรตีน T-ag ของไวรัสโพลิโอมาเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่หลายประการ ที่สำคัญ คือ ควบคุมการแบ่งตัวและการสร้างโปรตีนของไวรัส และควบคุมการทำงานและการตาย (apoptosis) ของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสโพลิโอมา T-ag ยังเป็นโปรตีนที่บ่งชี้ว่ามี reactivation ของไวรัสโพลิโอมาเกิดขึ้นด้วย จากการศึกษานิสัตร์ทดลองพบว่าหนูที่ทำให้เกิดการติดเชื้อไวรัสโพลิโอมาชนิด BK สามารถสร้างสาร

ภูมิกัมกัน (antibody) ต่อ T-ag และต่อ ds-DNA (anti-ds DNA) ของหนูได้ [6] การศึกษาในผู้ป่วยโรคลูปัส พบว่าได้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกัน คือ เมื่อเกิดการกระตุ้นของไวรัสโพลีโอมาที่อยู่ในร่างกาย (reactivation) นอกจากกระตุ้นการสร้าง antibody ต่อ T-ag แล้วยังพบ anti-ds DNA และ antibody ต่อ โปรตีนอื่นๆ ที่สัมพันธ์กับ DNA ด้วย เช่น histone [6] โดย T-ag สามารถจับได้กับ ds-DNA ของเซลล์และของตัวไวรัสเอง เมื่อ T-ag จับกับ ds-DNA ของเซลล์ จะทำให้ ds-DNA ของเซลล์กลายเป็นสารที่มีความสามารถในการสร้างภูมิกัมกันต่อตนเองได้ โดยอาศัยการกระตุ้นการทำงานของ B-lymphocyte และ T-lymphocyte ดังรูปที่ 4 โดย B-lymphocyte สามารถถูกกระตุ้นโดย DNA และโปรตีนอื่นๆ ที่สัมพันธ์กับ DNA โดยการสร้าง antibody ส่วน T-lymphocyte จะถูกกระตุ้นด้วย T-ag ภายหลังจากที่ T-ag จับกับ DNA

anti-ds DNA นี้ นอกจากเป็นหนึ่งในข้อกำหนดสำหรับการวินิจฉัยโรคลูปัสแล้ว [7] ยังเป็น antibody ที่อาจทำให้เกิดโรคไตอักเสบเนื่องจากโรคลูปัส (lupus nephritis) ด้วย [8]



รูปที่ 4 ไวรัสโพลิโอมาระตุ้นการทำงานของ B-lymphocyte และ T-lymphocyte เมื่อมีการ reactivation ของไวรัสโพลิโอม่าในร่างกายผู้ป่วยโรคลูปัส [2] (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่ 2)

การติดเชื้อไวรัสโพลิโอม่าพบได้บ่อยในประชากรทั่วไปโดยการติดเชื้อมักจะเริ่มตั้งแต่ในวัยเด็กและมักไม่มีอาการ อัตราการติดเชื้อไวรัสโพลิโอม่าเพิ่มขึ้นตามอายุ โดยในประชากรทั่วไปสามารถตรวจพบ antibody ต่อไวรัสโพลิโอม่าสูงถึงเกือบร้อยละ 100 [9] หลังจากการติดเชื้อไวรัสโพลิโอม่า ไวรัสจะแฝงตัวอยู่ในระยะสงบ (Latent phase) ในประชากรทั่วไปมักไม่พบ reactivation ของไวรัสโพลิโอม่า แต่ reactivation ของไวรัสโพลิโอม่าพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือในผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิ

[10] เมื่อมี reactivation ของไวรัสโพลีโอม่าจะสามารถตรวจพบไวรัสได้จากตัวอย่างปัสสาวะ โดยอาจตรวจพบ decoy cell หรือตรวจพบ DNA ของไวรัสโพลีโอม่าด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ใน การศึกษานี้เลือกที่จะใช้การตรวจหา DNA ของไวรัสโพลีโอม่าด้วยวิธี PCR เนื่องจากเป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูงสุด

ความชุกของการตรวจพบไวรัสโพลีโอม่าในปัสสาวะชนิด BK และ JC เพิ่มขึ้นตามอายุโดยความมี รายงานการแยกไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK จากปัสสาวะของผู้ป่วยโรคลูปัสเป็นครั้งแรกใน พ.ศ. 2521 [11] โดยความชุกของการตรวจพบไวรัสโพลีโอม่าชนิดต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 3 สำหรับไวรัสโพลีโอม่าชนิด JC, WU, KI, MC และ TsPy ยังไม่มีรายงานความชุกในผู้ป่วยโรคลูปัส การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่ รายงานความชุกของไวรัสโพลีโอม่าทั้ง 6 ชนิดในผู้ป่วยเด็กโรคลูปัส

ความชุกของไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันสูง กว่าในประชากรเด็กปกติที่เคยมีรายงานไว้ [1] แต่ใกล้เคียงกับความชุกของไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK ใน ปัสสาวะในผู้ป่วยผู้ใหญ่โรคลูปัสที่มีรายงานไว้ที่ร้อยละ 32 เช่นเดียวกัน [3]

ความชุกของโพลีโอม่าชนิด JC ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันต่ำกว่า ความชุกของไวรัสโพลีโอม่าชนิด JC ในปัสสาวะในประชากรปกติและในผู้ป่วยโรคลูปัสที่มีรายงานไว้ [12] อย่างไรก็ตามความชุกของไวรัสโพลีโอม่าชนิด JC ในปัสสาวะในประชากรปกติมีความสัมพันธ์กับอายุของ ผู้ป่วย โดยความชุกจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อทำการศึกษาในประชากรที่มีอายุมากขึ้น [13] ข้อสังเกตนี้แสดงให้เห็น ว่าปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อ reactivation ของไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK ในผู้ป่วยโรคลูปัส ซึ่งอาจมีสาเหตุ เนื่องมาจากความแตกต่างของโรคและความรุนแรงของการกดภูมิคุ้มกันมีความสัมพันธ์กับอัตราการกำเริบ ของไวรัสโพลีโอม่า [14]

สำหรับไวรัสโพลีโอม่าชนิด WU และ KI นั้นยังไม่พบรายงานการแยกไวรัสชนิดนี้จากปัสสาวะของ ประชากรทั่วไป [15] แต่สามารถแยกได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต โดยความชุกของ ไวรัสโพลีโอม่าชนิด WU ในปัสสาวะอยู่ที่ร้อยละ 2 ส่วนความชุกของไวรัสโพลีโอม่าชนิด KI ในปัสสาวะอยู่ ที่ร้อยละ 12 [16] แต่จากการศึกษานี้ไม่พบไวรัสโพลีโอม่าชนิด WU และ KI จากปัสสาวะของผู้ป่วยเด็ก โรคลูปัส สำหรับไวรัสโพลีโอม่าชนิด MC และ TsPy ยังไม่มีรายงานการตรวจแยกไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้ได้จาก ปัสสาวะของประชากรทั่วไป และจากการศึกษานี้ก็ไม่สามารถตรวจแยกไวรัสโพลีโอม่าชนิด MC และ TsPy จากตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กโรคลูปัสเช่นกัน

จากการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงที่ได้จากท่อไตส่วนต้น (Primary human renal proximal tubule epithelial cell หรือ RPTE) ที่ติดเชื้อไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK สายพันธุ์ TU จะมีการเพิ่ม ของระดับ T-ag ซึ่งเป็นโปรตีนที่บ่งชี้ว่ามี reactivation ของไวรัสโพลีโอม่าเกิดขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับ TGF- β เมื่อเทียบกับเซลล์ RPTE ที่ติดเชื้อไวรัสโพลีโอม่าชนิด BK สายพันธุ์ TU ที่ไม่ได้รับ TGF- β [17] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า TGF- β สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของไวรัสโพลีโอม่า ชนิด JC ในเซลล์ human glia ด้วย [18] TGF- β เป็น cytokine ที่ผลิตได้จากเซลล์หลายชนิดรวมทั้ง renal

epithelial cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่จำเพาะต่อไวรัสโพลีโอมา ระดับของ TGF- β สามารถเพิ่มสูงขึ้นในโรคไตอักเสบบางชนิด เช่น IgA nephropathy หรือ Focal segmental glomerulosclerosis และในโรคไตที่มีพยาธิสภาพแบบ fibrosis [19] พบว่า TGF- β ที่อยู่ในระบบหมุนเวียนมีการกำจัดออกทางไตน้อยมาก ดังนั้นปริมาณ TGF- β ในปัสสาวะน่าจะสามารถบอกถึงปริมาณ TGF- β ที่ถูกสร้างขึ้นในไต [20] ในการศึกษาที่จึงได้มีการวัดปริมาณ TGF- β ในปัสสาวะโดยเทียบเป็นอัตราส่วนกับปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะเพื่อป้องกันตัวแปรกวน คือ ความเข้มข้นของปัสสาวะ จากการศึกษาพบว่าระดับของ TGF- β ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กกลุ่มปัสที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด JC สูงกว่าระดับของระดับของ TGF- β ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กกลุ่มอื่นและเด็กปกติกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด JC มีความสัมพันธ์กับ TGF- β คล้ายกับข้อมูลที่สังเกตได้จากการทดลองในเซลล์ human glia ที่รายงานไว้ก่อนหน้า สำหรับระดับของ TGF- β ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กกลุ่มปัสที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK นั้นมีค่าใกล้เคียงกับปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กกลุ่มปัสที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลีโอมา รายงานจากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK สายพันธุ์ TU อยู่ภายใต้การควบคุมของ TGF- β [17] เนื่องจากการศึกษาสามารถตรวจแยกไวรัสโพลีโอมาชนิด BK สายพันธุ์ TU ได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยเพียงรายเดียว ซึ่งสามารถอธิบายถึงการไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจแยกไวรัสโพลีโอมาชนิด BK จากปัสสาวะของผู้ป่วยและระดับ TGF- β ในปัสสาวะ โดย reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK สายพันธุ์อื่นๆ อาจอยู่ใต้การควบคุมของกลไกอื่นๆ ที่นอกเหนือไปจากการควบคุมด้วย TGF- β และแตกต่างจาก reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด JC

การศึกษาหลายรายงานพยายามหาความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อไวรัสโพลีโอมาชนิด BK กับอาการแสดงทางคลินิกและความรุนแรงของโรคปัสในผู้ใหญ่ รายงานของ Lu และคณะพบว่าผู้ป่วยลูปัสที่มีการตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ในปัสสาวะมีปริมาณเกล็ดเลือดต่ำกว่าผู้ป่วยลูปัสที่ไม่มีการตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ในปัสสาวะ [4] แต่ไม่สัมพันธ์กับการทำงานของไต ระดับความกำเริบของโรคเมื่อวัดโดย SLE disease activity index (SLEDAI) score การตรวจพบ anti-ds DNA อัตราส่วนระหว่างเม็ดเลือดขาว CD4 ต่อ CD8 [3] การศึกษานี้ได้รายงานแนวโน้มของความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาของการเกิด lupus nephritis การได้รับยากดภูมิอื่นร่วมไปกับยาสเตียรอยด์และปริมาณโปรตีนในปัสสาวะของผู้ป่วยลูปัสที่มีการตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ในปัสสาวะ [3] อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยลูปัสที่มีการตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด JC ในปัสสาวะ

รายงานนี้ได้ศึกษาถึงลักษณะทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยเด็กกลุ่มปัสที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาในปัสสาวะโดยเทียบกับผู้ป่วยเด็กกลุ่มปัสที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลีโอมาในปัสสาวะ ผลการศึกษาพบว่าลักษณะทางคลินิกและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วยเด็กที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK และ JC ในปัสสาวะไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างจากผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลีโอมาในปัสสาวะยกเว้นระดับของ anti-ds DNA โดยจากผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยเด็กที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด JC ในปัสสาวะตรวจไม่พบ anti-ds DNA มากกว่าผู้ป่วยเด็กที่ตรวจพบไวรัสโพลีโอมาชนิด BK หรือ

ผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบไวรัสโพลีโอมาในปัสสาวะ โดยข้อสันนิษฐานที่อาจอธิบายผลของการทดลองในส่วนนี้ ได้แก่ ปริมาณและระยะเวลาที่ได้รับยากดภูมิที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม รายงานจากการศึกษาในอดีตแสดงให้เห็นว่าระดับ TGF- β มีความสัมพันธ์กับปริมาณยากดภูมิที่ได้รับ [21, 22] ในผู้ป่วยโรคตับที่ได้รับยากดภูมิในระดับสูงมักจะอยู่ในระยะสงบและมักจะตรวจไม่พบ anti-ds DNA ดังนั้นการตรวจไม่พบ anti-ds DNA ในผู้ป่วยเด็กโรคตับที่สามารถตรวจแยกไวรัสโพลีโอมาชนิด JC ในปัสสาวะอาจไม่ได้เป็นผลโดยตรงจาก reactivation ของไวรัสแต่อาจเป็นผลทางอ้อมจากปัจจัยทางด้านภูมิคุ้มกันซึ่งจำเป็นต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป


โดยสรุป ผู้ป่วยเด็กโรคตับที่ได้รับยากดภูมิเรื้อรังพบ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK ในความชุกที่สูงกว่าเด็กปกติ ส่วนความชุกของ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด JC ในผู้ป่วยเด็กกลุ่มนี้ใกล้เคียงกับเด็กปกติ ไม่พบ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด WU, KI, MC และ TsPy ในผู้ป่วยเด็กโรคตับที่ได้รับยากดภูมิ ในผู้ป่วยเด็กโรคตับที่พบ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด JC พบว่า reactivation ของไวรัสมีความสัมพันธ์กับระดับ TGF- β ในปัสสาวะและอัตราการตรวจพบ anti-ds DNA ในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะต่ำกว่าผู้ป่วยโรคตับที่ไม่พบ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาหรือพบ reactivation ของไวรัสโพลีโอมาชนิด BK โดยความสำคัญทางคลินิกของการตรวจพบนี้ ต้องการการศึกษาเพิ่มเติม

7. Output ที่ได้จากโครงการ

- 7.1. บทคัดย่อของงานวิจัยนี้ได้รับให้นำเสนอแบบโปสเตอร์ที่งานประชุมระดับนานาชาติ 15th International Congress on Infectious disease วันที่ 14 มิถุนายน 2555
- 7.2. บทนิพนธ์ต้นฉบับกำลังอยู่ในระหว่างการเขียนเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ
- 7.3. องค์ความรู้ที่เกิดขึ้นช่วยปรับปรุงการดูแลผู้ป่วยเด็กกลุ่มนี้ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

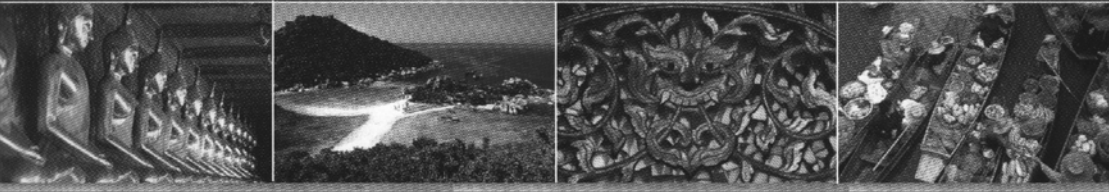

ภาคผนวก

บทคัดย่อผลงานเผยแพร่ระดับนานาชาติ




**15th International Congress
on Infectious Diseases**

BANGKOK, THAILAND • JUNE 13~16, 2012



**Organized by the International Society
for Infectious Diseases**



In collaboration with the Infectious Disease Association of Thailand

Final Program



Poster Presentations ~ Thursday, June 14, 2012



- 40.082** Polyomavirus viraemia in pediatric patients with systemic lupus erythematosus receiving long term immunosuppressants
P. Rianthavorn¹, N. Posuwan¹, S. Payungporn¹, A. Theanboonlers¹, Y. Poovorawan²
¹Patumwan (Thailand), ²Bangkok (Thailand)
- 40.083** Evolutionary dynamics of WNV in North America after 2006: differential analysis of the phylogeny and selection pressure in humans, bird, and mosquito hosts
 G. Anez, A. Grinev, **M. Rios**
 Bethesda, MD (USA)
- 40.084** The effect of paracetamol on human Chang liver cells infected by different dengue serotypes based on liver enzyme activity
H. Roslee, C. Hui Yee, S. Fakurazi, F. Azizi Jalilian, F. Othman, N. Othman
 Serdang, Selangor (Malaysia)
- 40.085** Ramsay-Hunt syndrome in patients hospitalized due to herpes zoster
W. Rymer, A. Szymczak
 Wroclaw (Poland)
- 40.086** Prevalence of chikungunya and dengue in a recent outbreak of seasonal febrile illness: an observational study in a tertiary referral hospital at Kolkata, India
B. Saha, B. Bandyopadhyay, A. Tripathi, S. Mallik, M. Ghosh, K. Ray
 Kolkata, West Bengal (India)
- 40.087** Fatal cases associated with secondary dengue infection
S. S. Sam¹, B. T. Teoh¹, J. Abd-Jamil¹, N. M. Mahadi², S. Abubakar¹
¹Kuala Lumpur (Malaysia), ²Selangor (Malaysia)
- 40.088** CSF pleocytosis is not always present in herpes simplex virus infection of the nervous system
A. Saraya, H. Wilde, T. Hemachudha
 Bangkok (Thailand)
- 40.089** Antiviral drug-associated potential vaccine-escape hepatitis B virus mutants in Turkish patients with chronic hepatitis B
M. Sayan, S. C. Akhan
 Izmit, Kocaeli (Turkey)
- 40.090** The prevalence of hepatitis C infection in general population in Shiraz, southern Iran
S. A. Shamsdin, M. R. Fattahi, S. Amirzadeh Fard
 Shiraz (Iran, Islamic Republic of)
- 40.091** Post-transfusion-transmitted hepatitis C virus infection: a study on thalassemia and hemodialysis patients in southeastern Iran
A. Shamsizadeh, G. hassanshahiraviz, M. Kazemi Arababadi, S. Assar, E. Hakimi, F. Ayoubi
¹Rafsanjan (Iran, Islamic Republic of)
- 40.092** Canine furious and paralytic rabies: studies of neural tract integrity, blood brain barrier, virus and inflammatory distribution patterns
 J. Laothmatas¹, **S. Shuangshoti¹**, S. Wacharapluesadee¹, S. Witaya¹, B. Lumlerdacha¹, V. Tepsumethanon¹, P. Phukpattaranon², A. Jitmittraphap¹, T. Hemachudha¹
¹Bangkok (Thailand), ²Songkhla (Thailand)
- 40.093** Measuring herpes zoster and post-herpetic neuralgia associated burden of illness and health care utilization and costs in Korea: A clinical epidemiological study
H. J. Song¹, W. S. Choi², J. D. Lee¹, M.-H. Lee¹, J.-H. Choi³, M. S. Lee¹, S. Kang¹, E. Rampakakis⁴, J. S. Sampalis⁵, H. J. Cheong¹
¹Seoul (Korea, Republic of), ²Ansan-Si (Korea, Republic of), ³Incheon (Korea, Republic of), ⁴Westmount, QC (Canada), ⁵Westmount, QC (Canada)
- 40.094** Fatal meningoencephalomyelitis associated with pandemic influenza A (H1N1) virus infection in young women
A. Streharova, J. Sokolova, A. Simkova
 Trnava (Slovakia)
- 40.095** Prevalence of chikungunya virus infection among suspected dengue pediatric patients in 3 regional hospitals in the Philippines
A. K. Sy¹, V. Chan², A. Bautista¹, M. R. Capeding¹
¹Muntinlupa City (Philippines), ²Manila (Philippines)
- 40.096** Differentiation of influenza A /H1N1/ strains by single-strand conformational polymorphism
B. Szcwzyk¹, B. Pajak², K. Lepek¹, K. Kucharczyk²
¹Gdansk (Poland), ²Warsaw (Poland)
- 40.097** Influence of iron storage in liver tissue on fibrosis in chronic hepatitis HBV
A. Szymczak, K. Simon, W. Rymer, A. Gladysz
 Wroclaw (Poland)
- 40.098** What is the knowledge, attitude and practice (KAP) level of the residents who are living in Rural Area of Central India?
A. Taksande¹, K. Pat², C. Pathak¹
¹Wardha (India), ²Sawangi Meghe (India)

#2433: Polyomavirus viruria in pediatric patients with systemic lupus erythematosus receiving long term immunosuppressants

P. Rianthavorn¹, N. Posuwan¹, S. Payungporn², A. Theanboonlers¹, Y. Poovorawan³; ¹Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Pediatrics, Patumwan/TH, ²Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Biochemistry, Patumwan/TH, ³Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok/TH

Author:

Topic: Virology and viral infections (non-HIV)

Type: Poster Presentation

Status: SUBMITTED

This abstract has already been submitted.

This abstract has been ACCEPTED!
Please confirm/decline your participation at the forthcoming congress.

Summary

Awards and Disclosures:

Authors confirmation

*(+) I hereby confirm, that all authors mentioned in the author block of this abstract have been informed about, and agreed to this submission.

Copyright

*(+) By submission of this abstract I hereby confer the copyright for congress publication of all text and images in this abstract to the organizers of the 15th ICID.

Novartis Vaccines Awards for Epidemiology of Infectious Diseases

(-) I wish to apply for this award and confirm that I meet the [criteria outlined on the congress web site](#)

Sanofi Pasteur Awards for Communicable Disease Epidemiology

(-) I wish to apply for this award and confirm that I meet the [criteria outlined on the congress web site](#)

ISID New Investigator Award

(-) I wish to apply for this award and confirm that I meet the [criteria outlined on the congress web site](#)

Sanofi Pasteur Travel Grants for Awards for Latin American Women Physicians and Scientists

(-) I wish to apply for the travel grant and will submit the application form available on the ICID web page 'awards'. I confirm that I meet the [criteria outlined on the congress web site](#).

Financial Assistance Application

(+) I certify, that I am from a Low or Lower Middle Income Country and eligible for consideration for a waived registration fee (no further financial assistance such as travel and hotel costs will be possible due to a very restricted congress budget).

Publication Permission

*(+) I agree.

Authors:

P. Rianthavorn¹, N. Posuwan¹, S. Payungporn², A. Theanboonlers¹, Y. Poovorawan³; ¹Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Pediatrics, Patumwan/TH, ²Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Biochemistry, Patumwan/TH, ³Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok/TH

Title:

Polyomavirus viruria in pediatric patients with systemic lupus erythematosus receiving long term immunosuppressants

Body:

Background

The prevalence of polyomavirus reactivation was higher in immunocompromised patients than in normal population. This study was done to investigate prevalence and the association between viruria

of five polyomaviruses (BK, JC, WU, KI and TSPyV) and clinical manifestations of pediatric patients with systemic lupus erythematosus (SLE) on long-term immunosuppressants.

Methods

Pediatric patients (younger than 21 years of age) with the diagnosis of SLE were recruited. Clinical characteristics of the patients were obtained from medical record review. Blood were evaluated for platelet counts, hemoglobin, anti-double stranded (ds) DNA antibody and creatinine levels. Glomerular filtration rate (GFR) was calculated by using serum creatinine. Urine profiles were assessed by urinalysis. DNA was extracted from centrifuged urine and polyomavirus DNA was amplified by using specific primers for BK, JC, WU, KI and TSPyV. Urine transforming growth factor (TGF)- β 1 levels were measured by ELISA. Urine specimens from 30 healthy children were used as controls.

Results

Fifty patients (9 males and 41 females) with the mean age of 13.2.8 years (range 4-21 years) were included in the study. Trichodysplasia spinulosa was not observed in any patients. Polyomavirus was identified in urine specimens from 24 patients. BK viruria was found in 16 patients (32%) whereas JC was found in 8 patients (16%). WU, KI and TSPyV were not isolated from urine specimens of any patients. Only single virus was isolated from each urine specimen. There was no significant difference among the age, type of immunosuppressants, hemoglobin levels, platelet counts, GFR and urinary profiles of patients with BK viruria, JC viruria and without viruria. Urine TGF- β 1 levels was not significantly different between patients with polyomaviruria and controls. Remission of SLE (defined by negative anti-ds DNA antibody) was found in a higher rate in patients with JC viruria compared with patients with BK viruria or without viruria ($P < 0.03$).

Conclusion

The prevalence of BK viruria was higher in pediatric patients with SLE on long term immunosuppressants. The clinical significance of BK viruria in this group of patients has yet to be determined. Minimization of immunosuppressants and close clinical monitoring are extremely crucial to prevent BK nephropathy.

Keywords: Polyoma
immunosuppression
urine

บรรณานุกรม

1. Zhong S, Zheng HY, Suzuki M, Chen Q, Ikegaya H, Aoki N, Usuku S, Kobayashi N, Nukuzuma S, Yasuda Y, Kuniyoshi N, Yogo Y, Kitamura T (2007) Age-related urinary excretion of BK polyomavirus by nonimmunocompromised individuals. *J Clin Microbiol* 45:193-198.
2. Rekvig OP, Bendiksen S, Moens U (2006) Immunity and autoimmunity induced by polyomaviruses: clinical, experimental and theoretical aspects. *Adv Exp Med Biol* 577:117-147.
3. Colla L, Mesiano P, Morellini V, Besso L, Cavallo R, Bergallo M, Costa C, Merlino C, Marcuccio C, Fop F, Lanfranco G, Segoloni GP, Canavese C, Stratta P (2007) Human polyomavirus BK in patients with lupus nephritis: clinical and histological correlations. *Lupus* 16:881-886.
4. Lu MC, Yu CL, Yin WY, Tung CH, Huang KY, Liu SQ, Lai NS (2009) Increased prevalence of polyomavirus BK viruria that correlates with thrombocytopenia in patients with systemic lupus erythematosus on intensive immunosuppressive therapy. *Autoimmunity* 42:216-223.
5. Wang M, Tsai RT, Ou WC, Lin CK, Tsay GJ, Chang H, Chang D (2000) Treatment with cytotoxic immunosuppression agents increases urinary excretion of JCV in patients with autoimmune disease. *J Med Virol* 62:505-510.
6. Rekvig OP, Moens U, Sundsfjord A, Bredholt G, Osei A, Haaheim H, Traavik T, Arnesen E, Haga HJ (1997) Experimental expression in mice and spontaneous expression in human SLE of polyomavirus T-antigen. A molecular basis for induction of antibodies to DNA and eukaryotic transcription factors. *J Clin Invest* 99:2045-2054.
7. Weinstein A, Bordwell B, Stone B, Tibbetts C, Rothfield NF (1983) Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 74:206-216.
8. Vlahakos DV, Foster MH, Adams S, Katz M, Ucci AA, Barrett KJ, Datta SK, Madaio MP (1992) Anti-DNA antibodies form immune deposits at distinct glomerular and vascular sites. *Kidney Int* 41:1690-1700.
9. Brown P, Tsai T, Gajdusek DC (1975) Seroepidemiology of human papovaviruses. Discovery of virgin populations and some unusual patterns of antibody prevalence among remote peoples of the world. *Am J Epidemiol* 102:331-340.

10. Marrero M, Garbarg-Chenon A, de Saint-Maur G, Fanen P, Rousseau E, Alvarez M, Nicolas JC, Bricout F (1989) BK virus (BKV) detection in urine specimens of immunocompromised patients: comparison between the DNA-DNA hybridization assay, the immunofluorescence test and the dot enzyme immunoassay. *Res Virol* 140:293-301.
11. Taguchi F, Hara K, Nagaki D (1978) BK papovavirus in urine of a patient with systemic lupus erythematosus. *Acta Virol* 22:513.
12. Sundsfjord A, Osei A, Rosenqvist H, Van Ghelue M, Silsand Y, Haga HJ, Rekvig OP, Moens U (1999) BK and JC viruses in patients with systemic lupus erythematosus: prevalent and persistent BK viremia, sequence stability of the viral regulatory regions, and nondetectable viremia. *J Infect Dis* 180:1-9.
13. Kitamura T, Aso Y, Kuniyoshi N, Hara K, Yogo Y (1990) High incidence of urinary JC virus excretion in nonimmunosuppressed older patients. *J Infect Dis* 161:1128-1133.
14. Ahsan N, Shah KV (2006) Polyomaviruses and human diseases. *Adv Exp Med Biol* 577:1-18.
15. Bialasiewicz S, Whiley DM, Lambert SB, Nissen MD, Sloots TP (2009) Detection of BK, JC, WU, or KI polyomaviruses in faecal, urine, blood, cerebrospinal fluid and respiratory samples. *J Clin Virol* 45:249-254.
16. Csoma E, Meszaros B, Asztalos L, Konya J, Gergely L (2011) Prevalence of WU and KI polyomaviruses in plasma, urine, and respiratory samples from renal transplant patients. *J Med Virol* 83:1275-1278.
17. Abend JR, Imperiale MJ (2008) Transforming growth factor-beta-mediated regulation of BK virus gene expression. *Virology* 378:6-12.
18. Ravichandran V, Jensen PN, Major EO (2007) MEK1/2 inhibitors block basal and transforming growth factor 1beta1-stimulated JC virus multiplication. *J Virol* 81:6412-6418.
19. Murakami K, Takemura T, Hino S, Yoshioka K (1997) Urinary transforming growth factor-beta in patients with glomerular diseases. *Pediatr Nephrol* 11:334-336.
20. Nowak M, Wyczalkowska-Tomasik A, Wlodarczyk Z, Paczek L (2012) The role of the kidney in the systemic elimination of interleukin 6, platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta. *Cytokine*.

21. Shihab FS, Andoh TF, Tanner AM, Noble NA, Border WA, Franceschini N, Bennett WM (1996) Role of transforming growth factor-beta 1 in experimental chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 49:1141-1151.
22. Khanna A, Cairns V, Hosenpud JD (1999) Tacrolimus induces increased expression of transforming growth factor-beta1 in mammalian lymphoid as well as nonlymphoid cells. *Transplantation* 67:614-619.