

The First Case of Ganciclovir-Resistant Cytomegalovirus Colitis with a 597-600 Deletion in *UL97* Gene after Stem Cell Transplantation in Korea

Chang Ahn Seol¹, Young Jin Ko¹, Sung-Han Kim², Mi-Na Kim¹, Heungsup Sung¹, Je-Hwan Lee²

Departments of ¹Laboratory Medicine and ²Internal Medicine, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

Human cytomegalovirus (CMV) infection has been a major concern in hematopoietic stem cell transplant recipients. Ganciclovir (GCV) resistance results mostly from mutations within the protein kinase *UL97* gene. The three hot spots for GCV resistance (codons 460, 520, and 590-607) were well known. We describe a case of GCV-resistant CMV colitis caused by a 597-600 deletion in *UL97* after haplo-identical peripheral blood stem cell transplantation (h-PBSCT) in a 46 year-old man with myelodysplastic syndrome. On post-PBSCT day 28, CMV antigenemia turned positive. Treatment of GCV was started and continued for 12 weeks but CMV antigenemia did not respond to the treatment and CMV colitis was worsened. The *UL97* showed the in-frame

deletion between codons 597 and 600 by direct sequencing. The treatment was switched to foscarnet and the antigenemia test was consecutively negative twice, and clinical symptoms improved. Despite the recovery of the patient from CMV colitis, the patient expired post-PBSCT day 146 from acute liver failure, hepatorenal syndrome and septic shock. This case is a first report of a deletion 597-600 in CMV *UL97* in Korea. A 597-600 deletion in *UL97* was responsible for the GCV resistance while preserving susceptibility to foscarnet. (**Ann Clin Microbiol 2015;18:64-67**)

Key Words: Cytomegalovirus, Drug resistance, Ganciclovir, *UL97*

INTRODUCTION

인간 거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV)의 감염 유행률은 일반 인구의 36-90%로 알려져 있으며 정상 면역인 사람은 대부분 잠복감염 상태이다[1,2]. CMV 질환이 문제가 되는 경우는 영아의 선천성 감염, AIDS, 이식을 받은 경우 등 크게 세 가지이다[3]. 장기이식을 받은 면역 억제 환자에서 발생할 수 있는 심각한 조직 침습성 CMV 질환들에는 폐렴, 간염, 위장관 궤양, 망막염 등이 있다[4]. CMV 질환들의 이환율과 사망률은 많이 감소하였는데 최근 예방적(prophylactic) 또는 선제적(preemptive) 항CMV 치료가 환자들에게 많이 행해졌기 때문이다[5]. 그러나 이로 인해 약제 내성 CMV 출현이 문제되고 있는데, 장기 이식에서 CMV 항체 음성 환자가 양성인 기증자의 장기를 이식 받았을 때, 재활성화된 CMV의 약제 내성률이 5.0-13.5%에 이른다는 보고가 있다[6,7]. 또한 ganciclovir

(GCV) 또는 valganciclovir (val-GCV) 3개월 예방적 치료 이후 발생한 약제 내성률이 2-4%까지 나왔다는 보고가 있다[6]. 현재 전신적 CMV 감염 치료에 GCV가 선택적 약제로 쓰이고 있는데 GCV가 항바이러스 활성을 나타내기 위해서는 *UL97* 인산화효소에 의한 인산화가 이루어져야 한다. *UL97*의 특정 부분에 돌연변이가 발생하면 이러한 인산화의 장애로 인한 GCV 내성이 생긴다[8]. *UL97*의 세 가지 부분에서 주로 GCV 내성 관련 돌연변이가 발생하며 이는 코돈 460, 520 그리고 590-607 부위이다. 코돈 590-607 부위에서는 다양한 종류의 돌연변이와 해독틀내(in-frame) 결실 등이 발생할 수 있다[3]. 국내에는 기존의 알려진 *UL97*의 몇 가지 돌연변이들이 보고되었지만 아직 코돈 590-607 부위 해독틀내 결실은 보고되지 않았다[9-11].

Received 23 March, 2015, Revised 26 May, 2015, Accepted 27 May, 2015

Correspondence: Heungsup Sung, Department of Laboratory Medicine, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, 88, Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea. (Tel) 82-2-3010-4499, (Fax) 82-2-478-0884, (E-mail) sung@amc.seoul.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

CASE REPORT

46세 남자 환자가 골수이형성증후군 치료를 위해 반일치 조혈 모세포이식을 받았다. 이식 전 환자의 CMV 항체 검사결과는 IgG 양성, IgM 음성이었다. 환자는 이식 이후 발열 등으로 cefepime, imipenem, vancomycin 등의 항균제와 amphotericin B, caspofungin 등의 항진균제 치료를 받았으며 methotrexate, busulfan, fludarabine, imatinib, rituximab 등의 항암제를 투여 받았고 cyclosporine, tacrolimus, methylprednisolone 등의 면역억제제를 지속적으로 투여 받았다. 이식 22일째 전혈 CMV 정량 PCR 검사 (artus CMV RG PCR Kit, QIAGEN, Hilden, Germany) 결과는 검출한계값 2.42 log₁₀ copies/mL 미만이었다. 이식 28일째 CMV 항원검사(CMV pp65 Antigenemia Immunofluorescence Assay Kit, Argene, bioMérieux, Marcy l'Étoile, France)에서 양성 소견 (5/200,000 leukocytes)이 관찰되어(Fig. 1), GCV 치료를 10 mg/kg/day의 용량으로 시작하였다. 이식 35일째 CMV 항원검사

음성 소견이 나왔으나 이식 42일째 양성 소견(41/200,000 leukocytes)이 나와 GCV 치료를 지속하였으며 이식 49일째 CMV 항원검사 결과 9/200,000 leukocytes로 줄어드는 양상 보였고 이식 56일째 CMV 항원검사에서 세포 하나만 양성 소견이 관찰되어 GCV 치료를 중단하였다. 이식 62일째 CMV 항원검사서 양성 소견(24/200,000 leukocytes)이 나왔으며 CMV 대장염이 의심되어 GCV 치료를 이전과 같은 용량으로 시작하였다. 이식 82일째 CMV 항원검사 양성 수치는 2/200,000 leukocytes로 줄어드는 양상을 보였으나 복통과 혈변 등의 증상은 심해졌으며, 복부 전산화 단층 촬영 검사와 대장 내시경 소견에서는 회장의 이식편대숙주병(Graft-versus-host disease, GVHD)이 의심되었고, 회장 생검 부위에서는 핵 내 거대세포바이러스 봉입체 (intranuclear cytomegalovirus inclusion)가 있는 궤양이 관찰되어 CMV 대장염이 진단되었다. 이후 CMV 항원검사 수치는 상승 소견을 보였으며 이식 113일째 127/200,000 leukocytes까지 증가하였다(Fig. 1). 12주간 GCV 치료에도 반응이 없어 GCV 내성 CMV 감염이 의심되었으며 UL97과 UL54 유전자에 대한 직접 염기서열 분석법을 사용하여 내성 검사를 수행하였다. UL97 유전자 부위에 대한 증폭과 염기서열 분석에는 이중(nested) 중합효소 연쇄반응법을 사용하였으며 방법은 기준에 보고된 것을 참고하였다[12]. UL54 유전자 부위에 대한 염기서열 분석 방법도 이전에 보고된 것을 참고하였다[13]. 내성 검사 결과 UL97 유전자의 597에서 600번 코돈까지 해독틀내 결실 소견이 염기서열의 양방향에서 공통적으로 관찰되었다(Fig. 2). 환자에서는 또한 약제내성과는 관련 없는 동아시아지역에서 흔한 염기 다형성인 D605E 다형성이 관찰되었으며[11] UL54 유전자에는 돌연변이가 관찰되지 않았다. 이식 118일째, 치료약제는 180 mg/kg/day 용량의 foscarnet (FOS)으로 바꾸었고 3주간 치료가 지속되었다. 이식 127일째, CMV 항원검사는 음성 소견이 나왔고 환자는 CMV 대장염으로부터 회복하였다. 이식 132일과 137일째에는 모두 전혈 CMV 정량 PCR 검사 결과에서 검출한계값 미만이었으며 CMV Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISpot) test (T-Track CMV, Lophius Biosciences, Regensburg, Germany)에서는 CMV 특이 T 세포에 대해 음성 소견이 나왔다. 이식 140일째, 전혈

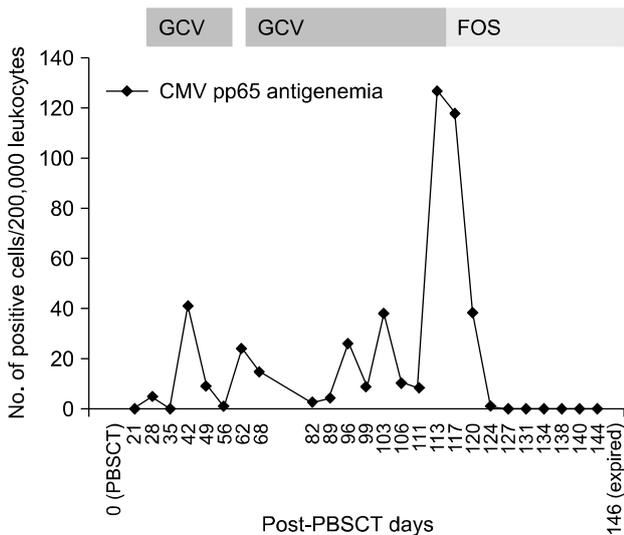


Fig. 1. Serial follow-up of cytomegalovirus (CMV) pp65 antigenemia. The duration of antiviral drug administration is illustrated by the bar graph at the top of the figure. Abbreviations: GCV, ganciclovir; FOS, foscarnet.

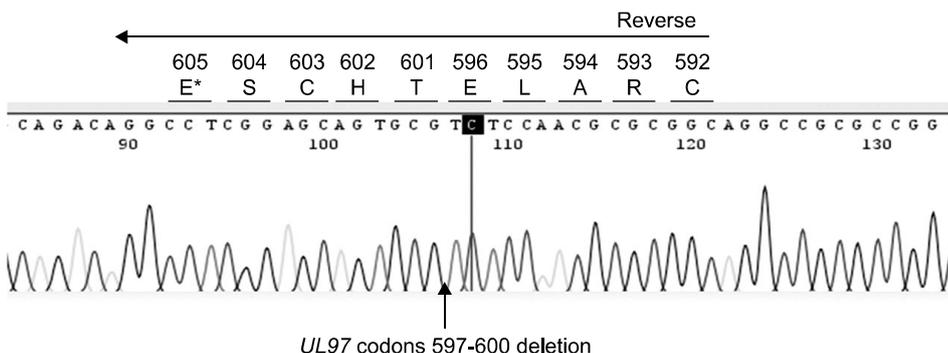


Fig. 2. Codons 597-600 deletion and the D605E polymorphism in human cytomegalovirus UL97. *D605E polymorphism.

CMV 정량 PCR 검사에서도 음성 결과가 나왔다. 그러나 이식 146일 째, 환자는 GVHD에 의한 급성 간부전, 간신증후군, 카바페넴 내성 *Acinetobacter baumannii* 패혈증 등으로 사망하였다.

DISCUSSION

이 증례의 환자에서는 이식 전 CMV 항체 양성 소견, 스테로이드 사용, 급성 GVHD 등 조혈모세포이식에서 CMV 감염 및 재활성화와 관련된 위험 요소들이 많이 있었다[4]. 따라서 이런 경우 예방적 또는 선제적 GCV 치료가 중요하다. CMV의 약제 내성 발생과 관련된 위험 요소들에는 오랜 기간 동안의 항바이러스제 치료, 면역 억제 또는 부족한 약제 용량의 사용으로 인해 항바이러스제 사용 중에도 간헐적으로 낮은 수준의 바이러스 증식이 있는 경우, 이식 전 CMV 면역성이 없었던 경우 등이 있다[4]. 2주 이상 최대 용량 치료를 포함해 6주 이상 항바이러스 치료에도 불구하고 바이러스 혈증의 호전이 없을 경우 약제 내성을 의심해야 한다[5]. 처음 치료하는 환자의 경우 약 1/3에서는 치료 초기에는 실제 약제 내성이 아닌 면역 억제 자체에 의해 바이러스 부하(viral load)가 증가할 수 있다[4]. GCV 내성은 대부분 *UL97* 인산화효소 유전자의 돌연변이에 의해 발생하지만 드물게 *UL54* DNA 중합효소 유전자 돌연변이를 동반하기도 한다[3]. GCV 내성이 의심될 경우 FOS가 이차적 선택 약제로 추천되며 경우에 따라 cidofovir (CDV)의 사용도 고려할 수 있다. 그러나 이러한 이차 약제들은 사용시 신독성 등의 부작용이 발생할 위험이 크기 때문에 GCV 내성이 의심될 경우는 반드시 *UL97*과 *UL54*의 돌연변이 검사를 시행하여 확인하고 약제 사용을 고려하여야 한다[5].

유럽 및 남미 등의 다기관 연구에서 고형 장기 이식 시 CMV 질환 발생자들 중 4.7%에서 GCV 내성이 발생하였으며 이 중 84.6%에서 *UL97* 돌연변이가 발견되었으며 23.1%에서 *UL54* 돌연변이가 발견되었다고 한다[6]. 그리고 미국에서는 심장 이식 후 CMV 질환 발생자들 중 12.5%에서 GCV 내성이 발생하였으며 모두 *UL97* 돌연변이가 발견되었다는 보고가 있다[7]. 그러나 중국과 국내의 보고에 따르면 아시아 지역은 이식 후 CMV 질환 발생자들 중 GCV 내성과는 관련성이 없는 D605E 다형성이 78-91%의 높은 빈도로 존재하며 *UL97* 돌연변이는 0-4%, *UL54* 돌연변이는 0-2%로 빈도가 낮은 특징이 있는 것으로 보인다[9,11,14].

기준에 알려진 국내 CMV 약제 내성 돌연변이 보고들은 다음과 같다. 소아 동종 조혈모세포이식 이후 CMV 감염 환자 49명에서 *UL97*과 *UL54*에 대해 염기서열 분석검사를 시행하였는데 약제 내성과 연관된 *UL97* 돌연변이는 총 환자의 4.1%에서 발견되었고 M460V와 C592G가 있었으며 *UL54* 돌연변이는 총 환자의 2.0%에서 발견되었고 T700A가 있었다[9]. 이식환자 및 스테로이드 사용 환자들 중 CMV 감염 32명의 환자들 중 3.1%

에서 *UL97*의 C592G 돌연변이가 보고되었으며[11], T 세포 감소 반일치조혈모세포이식 이후 CMV에 의한 중추신경계감염이 발생한 소아 환자에서 *UL97*의 A594V와 *UL54*의 P522S 돌연변이가 있었다는 보고도 있다[10]. *UL97*에서 단일 아미노산 변이에 대한 보고는 있지만 코돈 590-607 부위의 결실에 대한 보고는 없었다. 이번 증례의 CMV 약제 내성의 원인으로서 *UL97* 유전자 코돈 597-600의 해독틀내 결실은 국내에서 처음 보고하는 것으로서 국외에서는 2012년에 유럽에서 신생아 CMV 감염 증례에서 최초로 보고된 바 있다. 이 국외 보고에서는 한 환자에서 CMV의 야생형과 함께 *UL97*의 다양한 종류의 돌연변이들을 가진 다수의 돌연변이주들이 함께 관찰되었다는 특징이 있으며 신생아 면역 체계의 미성숙이 이러한 복잡한 바이러스 개체군 형성에 기여했을 것으로 생각되고 있다[15].

UL97 돌연변이의 세 가지 주요 부위 중 코돈 590-607 부위에서는 점 돌연변이 또는 해독틀내 결실 돌연변이가 발생할 수 있다. 점 돌연변이의 경우 위치와 아미노산 변이 종류에 따라 GCV의 CMV에 대한 50% 저해농도(half maximal inhibitory concentration, IC50)가 야생형에 비해 1.3-16배로 다양한 표현형을 나타낼 수 있다. 여러 개 코돈들의 해독틀내 결실이 있을 경우는 GCV의 IC50가 대체로 야생형의 10배 정도로 중등도로 증가할 수 있는 것으로 알려져 있다[3,8]. 임상 검체에서 *UL97*의 종료 돌연변이 또는 틀이동(frameshift) 돌연변이가 발견되지 않은 이유는 607번 코돈 이후 부위가 *UL97* 인산화효소의 정상적 기능에 필수적이며, 바이러스 생존에 중요한 역할을 하기 때문으로 생각된다[8].

결론적으로 이 증례는 조혈모세포 이식을 받고 GCV 내성 CMV 감염이 발생한 환자에서 처음으로 *UL97*의 597-600 코돈의 해독틀내 결실이 발견된 것으로서 의의가 있으며 FOS 치료로 CMV 감염으로부터 회복되었다는 것에 임상적 의미가 있다. 그러나 GCV 치료 시행 중에 CMV 항원 검사 양성이 지속되는 등 GCV 내성이 의심되는 상황이 발생하더라도 실제로는 GCV 내성이 아닌 환자의 면역 억제에 의한 경우가 많기 때문에 반드시 *UL97*과 *UL54*에 대한 내성 유전자검사를 확인하는 것이 중요하다[5]. 그리고 FOS와 CDV 등의 2차 항CMV 약제 사용은 부작용을 고려해 투여를 신중하게 고려하여야 한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

본 연구는 (재)바이오나노헬스가드연구단 연구비(2핵심 5세부) 지원에 의해 이루어졌음(Grant Number H-GUARD-ERND2-5).

REFERENCES

1. Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ. Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination

- surveys, 1988-2004. Clin Infect Dis 2010;50:1439-47.
2. Staras SA, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF, Cannon MJ. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. Clin Infect Dis 2006;43:1143-51.
 3. Lurain NS and Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. Clin Microbiol Rev 2010;23:689-712.
 4. Ljungman P, Hakki M, Boeckh M. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. Hematol Oncol Clin North Am 2011;25:151-69.
 5. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al; Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. Transplantation 2013;96:333-60.
 6. Boivin G, Goyette N, Rollag H, Jardine AG, Pescovitz MD, Asberg A, et al. Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. Antivir Ther 2009;14:697-704.
 7. Li F, Kenyon KW, Kirby KA, Fishbein DP, Boeckh M, Limaye AP. Incidence and clinical features of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease in heart transplant recipients. Clin Infect Dis 2007;45:439-47.
 8. Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. Rev Med Virol 2008;18:233-46.
 9. Choi SH, Hwang JY, Park KS, Kim Y, Lee SH, Yoo KH, et al. The impact of drug-resistant cytomegalovirus in pediatric allogeneic hematopoietic cell transplant recipients: a prospective monitoring of UL97 and UL54 gene mutations. Transpl Infect Dis 2014;16:919-29.
 10. Jeong TD, Sung H, Choi SH, Lee SO, Yoon HK, Kim MN, et al. Cytomegalovirus ventriculoencephalitis with compartmentalization of antiviral-resistant cytomegalovirus in a T cell-depleted haploidentical peripheral blood stem cell transplant recipient. Diagn Microbiol Infect Dis 2012;74:307-10.
 11. Sung H, An D, Lee SO, Choi SH, Kim SH, Chi HS, et al. Detection of a UL97 gene mutation conferring ganciclovir resistance in human cytomegalovirus: prevalence of the D605E polymorphism in Korean immunocompromised patients. Ann Clin Lab Sci 2012;42:429-34.
 12. Lurain NS, Weinberg A, Crumacker CS, Chou S; Adult AIDS Clinical Trials Group-CMV Laboratories. Sequencing of cytomegalovirus UL97 gene for genotypic antiviral resistance testing. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2775-80.
 13. Allice T, Busca A, Locatelli F, Falda M, Pittaluga F, Ghisetti V. Valganciclovir as pre-emptive therapy for cytomegalovirus infection post-allogeneic stem cell transplantation: implications for the emergence of drug-resistant cytomegalovirus. J Antimicrob Chemother 2009;63:600-8.
 14. Zhou L, Fan J, Zheng SS, Ma WH. Prevalence of human cytomegalovirus UL97 D605E mutation in transplant recipients in China. Transplant Proc 2006;38:2926-8.
 15. Campanini G, Zavattoni M, Cristina E, Gazzolo D, Stronati M, Baldanti F. Multiple ganciclovir-resistant strains in a newborn with symptomatic congenital human cytomegalovirus infection. J Clin Virol 2012;54:86-8.

=국문초록=

조혈모세포이식 이후 발생한 UL97 유전자 597-600 해독틀내 결실이 있는 Ganciclovir 내성 거대세포바이러스 대장염 1예

울산대학교 의과대학 서울아산병원 ¹진단검사의학교실, ²내과학교실
설창안¹, 고영진¹, 김성한², 김미나¹, 성홍섭¹, 이제환²

인간 거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV) 감염은 조혈모세포이식 환자에서 심각한 합병증을 일으킬 수 있다. 약제 내성 발생이 문제가 되는데 ganciclovir (GCV) 내성은 대부분 UL97 유전자의 돌연변이에 의해 발생하며 그 위치는 주로 코돈 460, 520, 590-607 등 세 가지로 알려져 있다. 저자들은 UL97의 코돈 597-600 결실에 의한 GCV 내성 CMV 대장염 환자를 보고하고자 한다. 46세 남자 환자가 골수이형성증후군으로 반일치 말초혈조혈모세포이식을 받았다. 이식 28일째, CMV 항원 검사 결과 양성이 나와 GCV 치료를 시작하였고 12주간 지속하였으나 CMV 항원 검사 결과의 반응이 없고 CMV 대장염이 악화되었다. 직접염기서열분석법에 의해 UL97에서 코돈 597-600에 해독틀내 결실이 관찰되어 GCV 내성 CMV가 확인되었다. 치료약제는 foscarnet (FOS)로 변경하였고 CMV 항원검사는 두 번 연속적으로 음성 결과가 나왔으며 임상 증상도 호전되었다. 비록 CMV 대장염으로부터 환자는 회복되었지만, 이식 146일째, 급성 간부전, 간신증후군, 패혈증 등으로 사망하였다. 본 증례는 국내 처음으로 CMV UL97의 코돈 597-600 결실을 보고하는 것이며 이 돌연변이로 인해 GCV 내성이 발생하였지만 FOS 감수성은 유지되는 것을 확인할 수 있었다. [Ann Clin Microbiol 2015;18:64-67]

교신저자 : 성홍섭, 138-736, 서울시 송파구 올림픽로 43길 88
울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과
Tel: 02-3010-4499, Fax: 02-478-0884
E-mail: sung@amc.seoul.kr