



福井県におけるヒトボカウイルスの検出

平野映子・野田希・小和田和誠・中村雅子・大村勝彦

Detection of Human Bocavirus in Fukui Prefecture

Eiko HIRANO, Nozomi NODA, Kazuaki KOWADA, Masako NAKAMURA, Katsuhiko OMURA

1. はじめに

ヒトボカウイルス (HBoV) はパルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に属し、全長約 5.3kb の一本鎖 DNA ウイルスである¹⁾。ヒトに疾患を起こすパルボウイルスは伝染性紅斑熱の原因であるパルボウイルス B19 のみと考えられていたが、HBoV は 2005 年にスウェーデンにおいて急性呼吸器感染症患者から発見された²⁾新しいパルボウイルスであり、その後各国からも同様の報告がされている³⁻⁶⁾。HBoV の遺伝子型は 1~4 型 (Group 1~4) が報告されており、Group 1 は主に呼吸器検体、Group 2、3 および 4 は主に便検体から検出されている⁷⁾。

HBoV は主に小児の呼吸器疾患を引き起こし、症状は他の呼吸器ウイルスと同様に、発熱、咳嗽および鼻汁等であるが、喘鳴や肺炎を引き起こし重症化した報告^{8,9)}もある。

福井県ではこれまで呼吸器感染症におけるウイルスサーベイランスとして、インフルエンザウイルス、Respiratory Syncytial ウイルス (RSV)、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ライノウイルス (HRV) およびアデノウイルス (AdV) などの検出を主に実施してきたが、年により約 45% の検体において起因ウイルスが特定されていない¹⁰⁾。そこで、県内の呼吸器感染症への HBoV の関与を把握するため新たに HBoV の検出を実施したのでその結果を報告する。

2. 方法

2.1 検査材料

2007 年 1 月~2013 年 12 月に県内の医療機関を受診し、インフルエンザ様疾患を除く上気道炎、下気道炎等の呼吸器感染症を呈した患者から採取された咽頭拭い液、鼻汁および鼻腔拭い液等 927 検体を試験に供した。各々の年の供試検体数は 2007 年は 131 検体、2008 年は 147 検体、2009 年は 75 検体、2010 年は 127 検体、2011 年は 99 検体、2012 年は 67 検体および 2013 年は 281 検体であった。

供試検体の患者年齢は 0~91 歳 (平均: 4.3±12.3 歳、中央値: 1.8 歳) であった。0~6 歳児から採取された検体が多く (839 検体)、その検体数を表 1 に示す。

表 1 供試検体数 (0~6 歳児)

年齢	0	1	2	3	4	5	6
検体数	212	254	161	98	55	33	26

2.2 検査方法

2.2.1 PCR 法

臨床検体を 0.22 μm 滅菌フィルターで濾過した濾液 200 μL から EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (QIAGEN) を用いてウイルス遺伝子抽出液 60 μL を得た。Allander らの方法²⁾に準じて NP1 領域の一部を PCR 法により増幅した。

2.2.2 全長ゲノム解析

Chieochansin らの方法¹¹⁾に準じ、全領域遺伝子を 9 領域に分けて PCR を行い、各々の領域の増幅産物を精製後 Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer (Life Technologies) を用いてダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 5¹²⁾を用いて近隣結合法 (Neighbor Joining, NJ 法) により系統樹を作成し、ブートストラップは 1000 回実施した。

3. 結果および考察

3.1 検出状況

供試検体 927 検体のうち 46 検体から HBoV が検出された。年別の検出率は 2007 年は 7.6%、2008 年は 7.4%、2009 年は 4.0%、2010 年は 5.5%、2011 年は 3.0%、2012 年は 3.0% および 2013 年は 3.6% であり、平均検出率は 5.0% であった。世界各国からの報告されている HBoV の平均検出率は 5% 前後とする報告が多く¹³⁾、県内における検出率も同等であった。

HBoV は秋や冬の風邪のシーズンに流行するとも言われていたが、流行に季節性はなく通年的な感染を引き起こすと推定されている¹⁾。本調査でも 7 月と 9 月以外のすべての月で検出されており、特に 5 月に多く検出されていたが、調査期間内の流行に季節性はみられなかった。また、すべての年において HBoV が検出され、年による流行の偏りもみられなかった (表 2)。

表 2 検体採取年月別 HBoV 検出数

年 \ 月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
2007					4			1				5	10
2008	3	2			3	2		1					11
2009		1				1						1	3
2010			1		3			1		1	1		7
2011	1			2									3
2012				1				1					2
2013		1	2		2	3		1		1			10
計	4	4	3	3	12	6	0	5	0	2	1	6	46

3. 2 HBoV 陽性者の年齢分布

HBoV 陽性者の年齢は 0～3 歳 (平均: 1.4±0.8 歳) であった (図 1)。1 歳児からの検出数が最も多く (47.8%)、次いで 0 歳児 (23.8%)、2 歳児 (13.0%)、3 歳児 (10.9%) であった。北海道における血清を用いた抗 HBoV 抗体価を測定した結果により、HBoV は生後 6 ヶ月から感染が始まり 5 歳までにはほとんどが感染するといわれている¹⁴⁾。県内における HBoV 陽性者の年齢はすべて 3 歳以下であり、生後 1 ヶ月および 4 ヶ月の乳児からも検出されており、4 歳以上の患者からは検出されなかった。北海道における抗体調査の結果に比べ、県内における調査では 0～3 歳とより低年齢層の小児における呼吸器感染症に関与していることが示唆された。

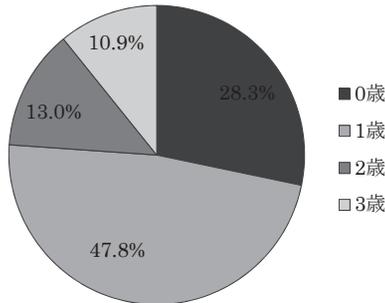


図 1 HBoV 陽性者の年齢分布

3. 3 HBoV 陽性者の臨床症状

HBoV 陽性者の臨床症状について解析した (表 3) とところ、発熱が 46 例中 42 例 (91.3%) と最も多かった。次いで 25 例が下気道炎、10 例が上気道炎と呼吸器症状を呈していた。HBoV は呼吸器感染症およびその重症化にも関与していることが知られており^{8,9)}、今回の調査でも HBoV 陽性者の半数以上が下気道炎を呈していたことから、県内においても HBoV は呼吸器感染症の重症化に関与していることが示唆された。

その他の症状として、鼻汁 6 例、咳 2 例、結膜炎 2 例、中耳炎 1 例、発疹 1 例および胃腸炎 1 例であった。

無症状のコントロール検体や HBoV に感染後 3 カ月以上経過した患者検体から HBoV が検出された報告もあり¹⁵⁾、感染症とウイルスの因果関係については不明な点も多く今後も継続した調査が必要である。

3. 4 重複感染

HBoV と同時に他の呼吸器ウイルスについても検出を行ったところ、HBoV が検出された 46 例のうち 28 例 (60.8%) において RSV や HRV 等との重複感染が確認された。内訳は RSV が 13 例、HMPV が 4 例、HRV が 5 例、AdV が 3 例、B 群コクサッキーウイルス 3 (CoxB3) が 1 例、ピコルナウイルスが 1 例、HRV および AdV との 3 種類での混合感染が 1 例であった (図 2)。

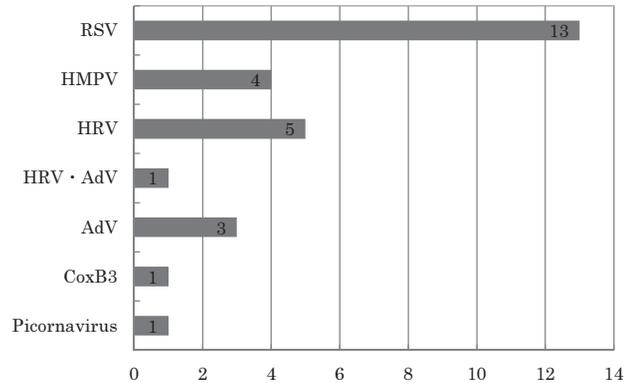


図 2 HBoV と同時に検出されたウイルス

調査期間 (2008 年～2013 年) は異なるが他の呼吸器ウイルスについて重複感染の割合を調査したところ、RSV では 14.4% が重複感染しており、HRV および HBoV が同時に検出される例が多かった。HRV では 16.9% が重複感染しており、RSV、AdV、HBoV および HMPV が同時に検出された。HMPV では 18.0% が重複感染しており AdV が同時に検出される例が多かった。HBoV が検出された呼吸器感染症では HBoV 以外のウイルスが同時に検出されることが多いといわれており¹⁶⁾、今回の調査でも HBoV は他の呼吸器ウイルスに比べても重複感染例の割合が非常に高かった。

HBoV 単独での感染と他の呼吸器ウイルスとの重複感染における患者症状について比較したところ、小児における呼吸器感染症で重症化することが知られている RSV および HMPV¹⁷⁾ との重複感染例において、下気道炎を呈している割合 (RSV: 9/13 例、HMPV: 4/4 例) が高かった (表 3)。HBoV、RSV、パラインフルエンザウイルスおよ

表 3 臨床症状

検出ウイルス	検出数	症状								
		発熱	上気道炎	下気道炎	鼻汁	咳	結膜炎	中耳炎	発疹	胃腸炎・下痢
HBoV	18	15	6	10	2	2	1	1	1	
HBoV・RSV	13	12	0	9	3					
HBoV・HMPV	4	4	0	4						
HBoV・HRV	5	5	2	1		1				
HBoV・HRV・AdV	1	1	1	0						
HBoV・AdV	3	3	1	0						1
HBoV・CoxB3	1	1	0	1						
HBoV・Picornavirus	1	1	0	0	1					
計	46	42	10	25	6	2	2	1	1	1

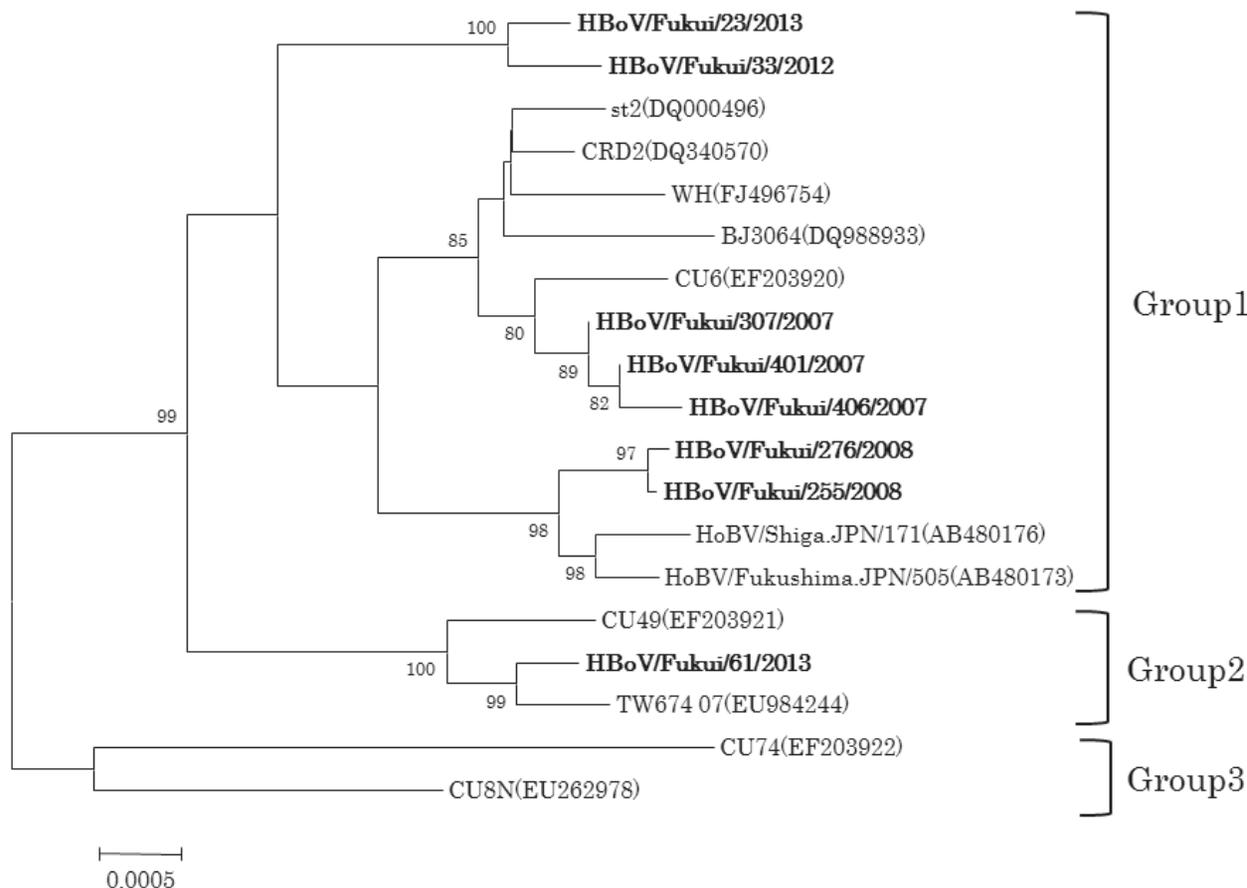


図3. HBoV 系統解析 (full-length : 5299nt)

び HRV に単独で感染した例に比べ、HBoV と重複感染した例のほうが喘鳴を伴う患者の割合は高く、重複感染の例では単独のウイルスに感染した例に比べ重症化するとされている⁹⁾。しかし、重複感染が確認された例では、実際に感染症がどのウイルスに起因していたかの確定は困難であり、感染における重症化が重複感染によるものか、RSV および HMPV 感染によるものかは不明であり、解明については更に調査が必要である。

HBoV についてはリアルタイム法によりウイルスの定量を行う方法も報告されている¹⁸⁾。コピー数が少ない場合に HBoV を起因ウイルスとは確定し難いが、検体採取病日によりコピー数も変化することもあり、起因ウイルスの特定については今後も検討が必要である。

3. 5 全長ゲノム解析

検出された 46 例のうち 8 例について全領域シーケンス (5299nt) および系統樹解析を実施した結果、7 例が Group 1、1 例が Group 2 に分類された (図 3)。国内でも Group 1、Group 2 および Group 3 が検出されたとの報告があるが、主に検出されているのは Group 1 であり¹⁹⁻²¹⁾、県内においても同様の結果となった。

しかし、臨床症状や発生時期等と Group との関連等については未だ解明されていないことが多い。また、今回は全領域シーケンスを実施した株数が 8 株と少なく県内の浸潤状況を十分に把握できていないため、継続した調査が必要である。

4. まとめ

2007 年から 2013 年に福井県内の呼吸器感染症を呈した患者から採取された咽頭拭い液を用いて HBoV 検出を試みたところ、供試検体 927 検体中 46 検体から検出された。HBoV が検出された 46 例のうち 8 例について系統解析を行ったところ、7 例は Group 1 および 1 例は Group 2 に分類された。

これまで福井県内における浸潤状況は不明であった HBoV も県内において小児の呼吸器感染症に関与していることが示唆された。

HBoV 陽性検体のうち約 60% の検体から他の呼吸器ウイルスも同時に検出された。HBoV による呼吸器感染症については依然として不明な点も多いため、更なる疫学情報等の蓄積が必要である。

謝辞

検体の採取の御協力を賜りました各健康福祉センター、医療機関の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) 田代真人他: ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, p.61-66, 羊土社, 東京 (2011)
- 2) Allander, T., et al.: Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **102**, 12891-12896 (2005)
- 3) Maggi, F., et al.: Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases, *J. Clin. Virol.*, **38**, 321-325 (2007)
- 4) Xu, L., et al.: Surveillance and Genome Analysis of Human Boca virus in Patients with Respiratory Infection in Guangzhou, China, *PLoS ONE.*, **7**, e44876 (2012)
- 5) Abdel-Moneim, A.S., et al.: Detection of Bocavirus in Children Suffering from Acute Respiratory Tract Infections in Saudi Arabia, *PLoS ONE.*, **8**, e55500 (2013)
- 6) Chieochansin, T., et al.: Determination and analysis of complete coding sequence regions of new discovered human bocavirus types 2 and 3, *Arch. Virol.*, **155**, 2023-2028 (2010)
- 7) 水田克己: RS、メタニューモ、ボカ、アデノウイルス, *臨床と微生物*, **39**, 669-675 (2012)
- 8) Allender, T., et al.: Human Bocavirus and Acute Wheezing Children, *Clin. Infect. Dis.*, **44**, 904-910 (2007)
- 9) Fry, A.M., et al.: Human Bocavirus: A Novel Parvovirus Epidemiologically Associated with Pneumonia Requiring Hospitalization in Thailand, *J. Infect. Dis.*, **195**, 1038-1045 (2007)
- 10) 中村雅子他: サーベイランスにおける呼吸器感染症からのウイルス検出(2010年度), 福井県衛生環境研究センター年報, **9**, 93-96 (2010)
- 11) Chieochansin, T., et al.: Complete coding sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV), *Virus Res.*, **129**, 54-57 (2007)
- 12) Tamura, K., et al.: MEGA5: molecular evolutionary Genetics analysis using maximum parsimony methods, *Mol. Biol. Evol.*, **28**, 2731-2739 (2011)
- 13) Ma, X., et al.: Detection of Human Bocavirus in Japanese Children with Lower Respiratory Tract infections, *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 1132-1134 (2006)
- 14) Endo, R., et al.: Seroepidemiology of Human Bocavirus in Hokkaido Prefecture, Japan, *J. Clin. Microbiol.*, **45**, 3218-3223 (2007)
- 15) Jula, A., et al.: Primary and Secondary Human Bocavirus 1 Infections in a Family, Finland, *Emerg. Infect. Dis.*, **19**, 1328-1331 (2013)
- 16) 石黒信久他: ヒトボカウイルス感染症, *モダンメディア*, **53**, 259-266 (2007)
- 17) Tsukagoshi, H., et al.: Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma, *Front. Microbiol.*, **4**, 278 (2013)
- 18) Kantola, K., et al.: Real Time quantitative PCR Detection of Four Human Bocaviruses, *J. Clin. Microbiol.*, **48**, 4044-4050 (2010)
- 19) Igarashi, I., et al.: Phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV) detected from children with acute respiratory infection in Japan, *J. Infect.*, **58**, 311-313 (2009)
- 20) 平良勝也他: 沖縄県における重症呼吸器ウイルスサーベイランス-特にヒトボカウイルス (HBoV) の疫学・分子系統解析について-, 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランス・病態解明及び制御に関する研究」平成 22 年度総括・分担研究報告書, 26-30 (2011)
- 21) 矢野拓弥他: 呼吸器感染症を呈した乳幼児から検出されたヒトボカウイルスの遺伝子系統樹解析および流行疫学 (2011 ~ 2013 年) — 三重県, *IASR*, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/2014-02-19-09-27-24/1747-source/respirology/idsr/iasr-news.html>