

## 原著

# 呼吸器症状を呈した小児から検出された ヒトボカウイルスの流行疫学および 遺伝子系統樹解析 (2010~2013年)

矢野 拓 弥<sup>1)</sup> 落 合 仁<sup>2)</sup>  
渡 辺 正 博<sup>3)</sup> 庵 原 俊 昭<sup>4)</sup>

**要旨** 三重県感染症発生動向調査事業において、2010~2013年に三重県内の医療機関を受診した小児呼吸器感染症患者763名を対象にHBoVの流行疫学を把握するために調査を実施した。

HBoV陽性者は763名中25名(3.3%)であった。採取年別のHBoV陽性者数は2010年4名、2011年5名、2012年9名、2013年7名であった。HBoV陽性者は春から初夏に多数検出される傾向であった。

## はじめに

ヒトボカウイルス (human bocavirus : 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分類されており、2005年にスウェーデンの呼吸器感染症患者から初めて発見され<sup>1)</sup>、その後、世界的に分布していることが判明した<sup>2~6)</sup>。急性呼吸器感染症 (acute respiratory infections : ARI) の起因ウイルスの一つであるが、依然として不明な点が多くある。現在HBoVは4タイプ (HBoV1, 2, 3, 4) に分類されており、近年国内においてもHBoV検出報告<sup>7~10)</sup>がされているが、患者臨床情報などの報告は少なく臨床的意義は明らかではない。そこでわれわれは、三重県内のHBoV流行疫学を把握するために、検出状況 (検出時期、臨床診断名など) および遺伝子系統樹解

析を実施したので報告する。

## I. 材料と方法

2010年1月~2013年12月に三重県感染症発生動向調査事業において、県内の医療機関 (8施設) を外来受診した小児呼吸器感染症患者763名から得られた患者臨床検体763件 (鼻汁、咽頭拭い液、気管吸引液) をHBoV調査の対象とした。これらの対象者の年齢は0~13歳である。表1に年齢区分別の対象者数を示した。採取年別の検査数は2010年88名、2011年225名、2012年213名、2013年237名であった。

患者臨床検体から抽出したDNAは使用時まで-80°Cに保存し、HBoV遺伝子検査にはAllanderらのConventional-PCR法<sup>11)</sup>およびHBoV-LAMP法<sup>12)</sup>を実施した。

**Key words** : 急性呼吸器感染症, ヒトボカウイルス, 遺伝子系統樹解析

- 1) 三重県保健環境研究所  
〔〒512-1211 四日市市桜町3684-11〕
- 2) 落合小児科医院
- 3) すずかこどもクリニック
- 4) 国立病院機構三重病院

表 1 対象者の年齢 (2010~2013 年)

| 年齢<br>(歳) | 採 取 年  |        |        |        | 計   |
|-----------|--------|--------|--------|--------|-----|
|           | 2010 年 | 2011 年 | 2012 年 | 2013 年 |     |
| 0         | 27     | 47     | 37     | 46     | 157 |
| 1         | 30     | 77     | 88     | 99     | 294 |
| 2         | 6      | 43     | 33     | 39     | 121 |
| 3         | 10     | 30     | 22     | 21     | 83  |
| 4         | 4      | 8      | 16     | 11     | 39  |
| 5         | 2      | 10     | 5      | 8      | 25  |
| 6~        | 9      | 10     | 12     | 13     | 44  |
| 計         | 88     | 225    | 213    | 237    | 763 |

検出された一部の HBoV について、既報<sup>13)</sup>に準じて VP1/VP2 領域の遺伝子について塩基配列解析を行った。遺伝子系統解析には、塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 5 を用いた。遺伝子系統樹作成には、近隣結合法 (Neighbor-Joining: NJ 法) により行った。Bootstrap test は 1,000 回行った。HBoV 以外の呼吸器系ウイルスの検出には、既報および国立感染症研究所のウイルス検出マニュアルに準拠し、インフルエンザウイルス<sup>14)</sup>、RS ウイルス<sup>15)</sup>、ヒトメタニューモウイルス<sup>16)</sup>、パラインフルエンザウイルス<sup>17,18)</sup>、コロナウイルス<sup>19,20)</sup>、アデノウイルス<sup>21)</sup>、ライノウイルス<sup>22)</sup>を対象とし、各ウイルスの特異的遺伝子を PCR 法により検出を試みた。なお、対象となった小児の保護者から患者情報および患者検体の使用に関する承諾書への署名を得た。検査依頼医療機関記入の調査票(患者情報)の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護などに留意し実施した。

## II. 結 果

2010~2013 年に採取された 763 名について HBoV の検査を実施した結果、25 名 (3.3%) から検出された (表 2, 3)。HBoV 陽性者の年齢構成は 0 歳 5 名 (20%)、1 歳 17 名 (68%)、2 歳 3 名 (12%) であった。年別の HBoV 陽性者数は 2010 年 4 名、2011 年 5 名、2012 年 9 名、2013 年 7 名であった。これらの HBoV 陽性者の検体採取月は主に 4~6 月に多数検出され、各年における検出数

(4~6 月) は、2010 年 2 名 (50%)、2011 年 4 名 (80%)、2012 年 6 名 (67%)、2013 年 6 名 (86%) と春から初夏に検出される傾向が認められた。なお、HBoV が検出された 25 名中 8 名 (32%) は、他のウイルスとの重複検出例であった。その内訳はヒトメタニューモウイルス 6 名、RS ウイルス 1 名、パラインフルエンザウイルス 1 型 (1 名) であった。

臨床診断名は気管支炎 12 名 (48%)、咽頭炎 7 名 (28%)、細気管支炎 3 名 (12%)、その他 (扁桃炎 1 名、中耳炎 1 名、インフルエンザ様疾患 1 名) が 3 名 (12%) であった。

HBoV 陽性者の受診時の平均体温は  $38.4 \pm 1.1^{\circ}\text{C}$  であった。37°C 台 6 名 (24%)、38°C 台 9 名 (36%)、39°C 台 6 名 (24%)、40°C 台 2 名 (8%)、不明 2 名であった。37.5°C 以上の発熱は 19 名 (76%) で、このうち 12 名 (48%) は 38.5°C 以上であった。

塩基配列解析が可能であった HBoV 陽性者 19 名について VP1/VP2 領域の系統樹解析を実施した結果、すべて HBoV1 に分類された (図 1)。これらの HBoV1 は遺伝子系統樹上では 3 つの Group に分類され、その内訳は Group 1 (5 名)、Group 2 (13 名)、Group 3 (1 名) であった (図 2)。

## III. 考 察

2010 年に国立感染症研究所より「ボカウイルス検査マニュアル」<sup>11)</sup>が示され、同研究所の感染症サーベイランスシステム (NESID) の集計によると、2010~2013 年までの国内の HBoV 陽性者<sup>8)</sup>は 677 名 (2014 年 3 月末現在) と少数の報告であり、国内の患者数および流行像は十分に把握されていないと思われる。本県においても、従来から実施してきた呼吸器系ウイルスの感染症発生動向調査<sup>23~26)</sup>の検査項目に 2010 年から HBoV 検査を追加したところ、2013 年までの 4 年間に HBoV が 25 名 (3.3%) から検出された。NESID の全国集計では、2010~2013 年の HBoV 陽性者 677 名中 383 名 (56.6%) は 4~6 月に検出されている。本県においても、HBoV 陽性者 25 名のうち 4~6 月に 18 名 (72%) から検出され、主として春から初夏が流行期であることが推察される。重複検出の

表 2 HBoV 陽性者患者情報 (2010~2013 年)

| 検体 No       | 年齢        | 性別 | 採取日        | 臨床診断名      | 受診時体温  | 検出ウイルス      |
|-------------|-----------|----|------------|------------|--------|-------------|
| 1 2010-131  | 0 歳 11 カ月 | 男  | 2010.4.21  | 気管支炎       | 40°C   | HBoV & HMPV |
| 2 2010-150  | 0 歳 8 カ月  | 男  | 2010.5.17  | 気管支炎       | 37.4°C | HBoV & HMPV |
| 3 2010-240  | 1 歳       | 男  | 2010.7.14  | 気管支炎       | 39.5°C | HBoV & HPIV |
| 4 2010-353  | 1 歳       | 女  | 2010.10.19 | 咽頭炎        | 39.5°C | HBoV        |
| 5 2011-222  | 1 歳       | 男  | 2011.5.11  | 気管支炎       | 38.0°C | HBoV & HMPV |
| 6 2011-228  | 1 歳       | 男  | 2011.5.13  | 気管支炎       | 38.4°C | HBoV & HMPV |
| 7 2011-233  | 0 歳 8 カ月  | 男  | 2011.5.18  | 気管支炎       | 37.8°C | HBoV & HMPV |
| 8 2011-270  | 1 歳       | 女  | 2011.6.6   | 気管支炎       | 39.6°C | HBoV        |
| 9 2011-427  | 1 歳       | 男  | 2011.8.2   | 気管支炎       | 38.7°C | HBoV        |
| 10 2012-137 | 1 歳       | 男  | 2012.2.22  | 細気管支炎      | 37.4°C | HBoV        |
| 11 2012-213 | 2 歳       | 男  | 2012.3.27  | 咽頭炎        | 37.8°C | HBoV        |
| 12 2012-245 | 1 歳       | 男  | 2012.4.10  | 咽頭炎        | 38.6°C | HBoV        |
| 13 2012-256 | 1 歳       | 女  | 2012.4.16  | 細気管支炎      | 38.5°C | HBoV        |
| 14 2012-289 | 1 歳       | 男  | 2012.5.1   | 滲出性扁桃炎     | 38.0°C | HBoV & HMPV |
| 15 2012-300 | 2 歳       | 男  | 2012.5.9   | 気管支炎       | 37.2°C | HBoV        |
| 16 2012-321 | 1 歳       | 男  | 2012.5.21  | インフルエンザ様疾患 | 不明     | HBoV        |
| 17 2012-352 | 0 歳 9 カ月  | 女  | 2012.6.12  | 細気管支炎      | 不明     | HBoV        |
| 18 2012-602 | 1 歳       | 男  | 2012.11.15 | 気管支炎       | 37.0°C | HBoV        |
| 19 2013-240 | 2 歳       | 男  | 2013.4.19  | 気管支炎       | 40.5°C | HBoV        |
| 20 2013-264 | 0 歳 11 カ月 | 男  | 2013.4.26  | 咽頭炎        | 39.0°C | HBoV        |
| 21 2013-277 | 1 歳       | 男  | 2013.5.7   | 気管支炎       | 39.3°C | HBoV        |
| 22 2013-302 | 1 歳       | 男  | 2013.5.13  | 中耳炎        | 38.2°C | HBoV        |
| 23 2013-377 | 1 歳       | 男  | 2013.6.10  | 咽頭炎        | 38.4°C | HBoV        |
| 24 2013-421 | 1 歳       | 女  | 2013.6.24  | 咽頭炎        | 39.8°C | HBoV & RSV  |
| 25 2013-439 | 1 歳       | 女  | 2013.7.3   | 咽頭炎        | 38.7°C | HBoV        |

human bocavirus : HBoV, human metapneumo virus : HMPV, human parainfluenza virus : HPIV, respiratory syncytial virus : RSV

8名においても4月1名, 5月5名, 6月1名, 7月1名と同様の傾向を示している。

本研究で解析した HBoV1 の塩基配列相同性は高く, HBoV1 内の genotypes を分類することの臨床的意義などは不明であるが, 経年動向を把握するために HBoV1 陽性者の採取年別の Group 分類を実施した。Group 1 (5 名) は少数であるが, 2010 年 1 名, 2011 年 2 名, 2012 年 1 名, 2013 年 1 名と各年で検出された。Group 2 (13 名) は 2010 年 1 名, 2011 年 1 名, 2012 年 7 名, 2013 年 4 名から検出され, 2012 年および 2013 年に集中しており, 県内での同 Group の流行が推測された。一方, Group 3 は 2011 年 (1 名) のみであった。今後の経年的な調査によって HBoV1-genotypes の変遷などが解明されることにより, 流行地域の流行疫学的特徴が明らかになることが考えられた。

表 3 検体採月別 HBoV 陽性者数 (2010~2013 年)

| 採取月  | 採取年    |        |        |        | 計 (%)   |
|------|--------|--------|--------|--------|---------|
|      | 2010 年 | 2011 年 | 2012 年 | 2013 年 |         |
| 1 月  |        |        |        |        | 0 (0%)  |
| 2 月  |        |        | 1      |        | 1 (4%)  |
| 3 月  |        |        | 1      |        | 1 (4%)  |
| 4 月  | 1      |        | 2      | 2      | 5 (20%) |
| 5 月  | 1      | 3      | 3      | 2      | 9 (36%) |
| 6 月  |        | 1      | 1      | 2      | 4 (16%) |
| 7 月  | 1      |        |        | 1      | 2 (8%)  |
| 8 月  |        | 1      |        |        | 1 (4%)  |
| 9 月  |        |        |        |        | 0 (0%)  |
| 10 月 | 1      |        |        |        | 1 (4%)  |
| 11 月 |        |        | 1      |        | 1 (4%)  |
| 12 月 |        |        |        |        | 0 (0%)  |
| 計    | 4      | 5      | 9      | 7      | 25      |

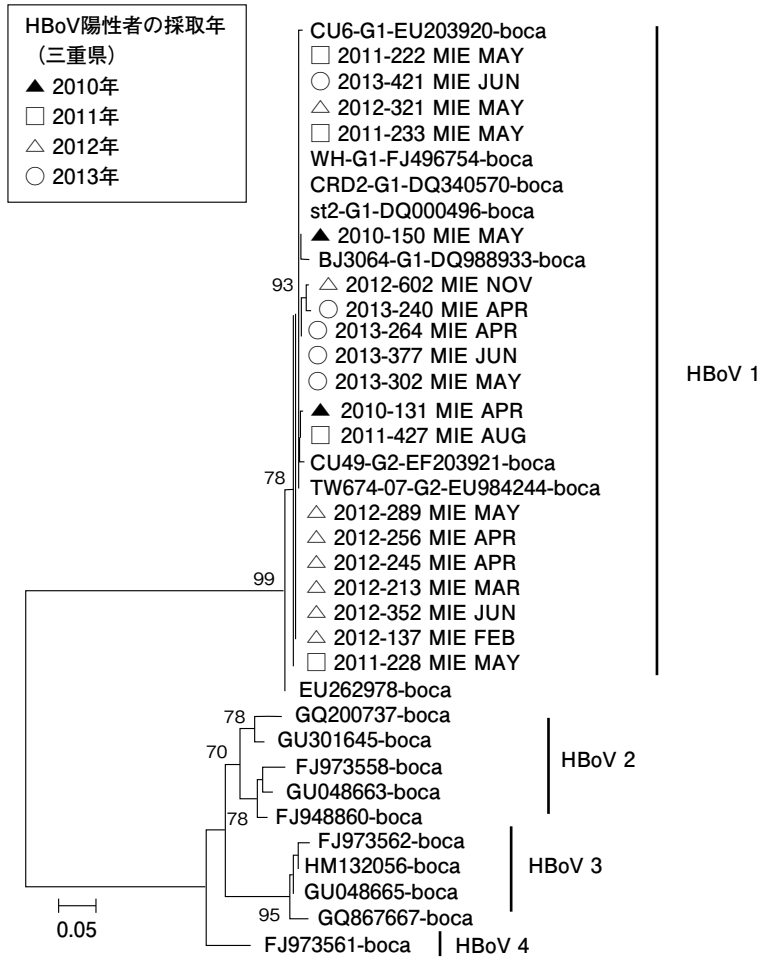


図 1 検出された HBoV の型別 (2010~2013 年)

HBoV 遺伝子系統樹内の番号 (MIE) は、表 2 の検体 No に一致する。

HBoV は、さまざまな呼吸器症状を呈した患児から検出されており、臨床所見による診断は容易ではないと思われる。呼吸器系症状だけでなく、消化器症状を呈した患者の糞便から検出報告<sup>27,28)</sup>があることから注目する必要がある。また下気道炎症症状からの HBoV の検出報告<sup>29)</sup>がされており、本調査においても HBoV 陽性者 15 名 (60%) が下気道炎症症状を呈していたため、注視が必要だと考えられる。

さらに、HBoV は小児の集中治療室での院内感染による ARI 感染症発生時のスクリーニングの対象疾患とすることを考慮すべきと示唆<sup>30)</sup>されている。しかしながら、現在のところ医療機関で迅

速検査可能な HBoV 簡易診断キットは開発されておらず、苦慮するところである。

また HBoV 血中抗体調査によると、6 歳児までに、ほぼ 100% で HBoV 抗体を獲得しているとの報告<sup>31,32)</sup>がある。本県で HBoV が検出された陽性者の年齢分布は 0~2 歳児までの低年齢の小児で多くみられたことは、過去の国内外の報告<sup>1,9,29)</sup>と一致しており、小児における HBoV 抗体の獲得が陽性者の年齢分布に反映されていることが示唆された。

本調査では他のウイルスとの重複検出例は、8 名 (32%) で確認されている。すべての呼吸器感染症起因病原体の検索には至ってはいないが、

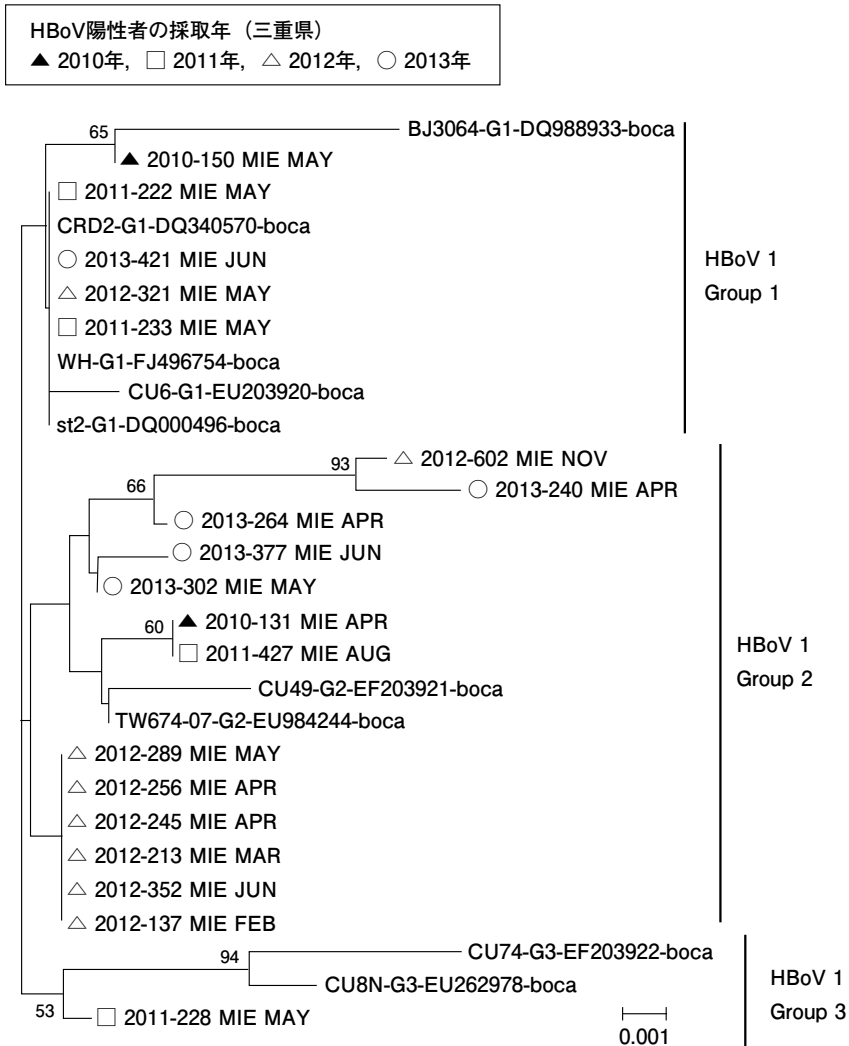


図 2 HBovV1 の遺伝子系統樹解析 (2010~2013 年)

HBovV 遺伝子系統樹内の番号 (MIE) は、表 2 の検体 No に一致する。

HBovV と他のウイルスの重複検出における臨床的意義を含め不明な点が多いと思われる。HBovV 感染症を理解するためには、全国規模のモニタリングを積極的かつ継続的に実施し、流行疫学および患者臨床情報の蓄積が必要であり、今後の HBovV 調査課題であると考えられた。

謝辞：本稿を終えるにあたり、三重県発生動向調査事業で検体採取を担当された定点医療機関の諸先生方および関係各位にお礼申し上げます。本研究に対しご助言くださいました三重県保健環境研究

所の西中隆道所長、天野秀臣特別顧問、微生物研究課員、疫学研究課員に深謝申し上げます。

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ありません。

文 献

1) Allander T, et al: Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proc Natl Acad Sci 102 : 12891-12896, 2005

- 2) Chung JY, et al : Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. *Emerg Infect Dis* 12 : 1254-1256, 2006
- 3) Foulongne V, et al : Human bocavirus in French children. *Emerg Infect Dis* 12 : 1251-1253, 2006
- 4) Sloots TP, et al : Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Clin Virol* 35 : 99-102, 2006
- 5) Smuts H, et al : Human bocavirus in hospitalized children, South Africa. *Emerg Infect Dis* 12 : 1457-1458, 2006
- 6) Kesebir D, et al : Human bocavirus infection in young children in the United States : Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis* 19 : 1276-1282, 2006
- 7) 改田 厚, 他 : 乳幼児呼吸器感染症患者からのヒトボカウイルスの検出-大阪市. *病原微生物検出情報* 29 : 161-162, 2008
- 8) 国立感染症研究所感染症疫学センター : 年別ウイルス検出状況, 由来ヒト, ヘルペス群&その他のウイルス. 2009~2013年 (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/511-surveillance/iasr/tables/1493-iasr-table-v.html>)
- 9) Moriyama Y, et al : Distinctive clinical features of human bocavirus in children younger than 2 years. *Eur J Pediatr* 169 : 1087-1092, 2010
- 10) Koseki N, et al : Detection of human bocaviruses 1 to 4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 50 : 2118-2121, 2012
- 11) 国立感染症研究所 : ボカウイルス検査マニュアル 2010 (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/HBoV-manual.pdf>)
- 12) 矢野拓弥, 他 : Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法によるボカウイルス迅速検出法の検討. *三重保環研年報* 15(通巻第 58 号) : 32-36, 2013
- 13) Chieochansin T, et al : Complete coding sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV). *Virus Res* 129 : 54-57, 2007
- 14) 国立感染症研究所 : インフルエンザ診断マニュアル (第 2 版) ([http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza\\_2003.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza_2003.pdf))
- 15) 国立感染症研究所 : RS ウイルス検査マニュアル (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RS-manual.pdf>)
- 16) 国立感染症研究所 : ヒューマンメタニューモウイルス検査マニュアル (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>)
- 17) 国立感染症研究所 : パラインフルエンザウイルス検査マニュアル (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/PIV-manual.pdf>)
- 18) Aguilar J C, et al : Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 38 : 1191-1195, 2000
- 19) Susanna KP, et al : Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol* 44 : 2063-2071, 2006
- 20) Lam WY, et al : Rapid multiplex nested PCR for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 45 : 3631-3640, 2007
- 21) 国立感染症研究所 : 咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査, 診断マニュアル (第 2 版) (<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/adenov5.pdf>)
- 22) 国立感染症研究所 : ライノウイルス検査マニュアル (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/Rhino-virus-manual.pdf>)
- 23) 三重県感染症情報センター : 三重県病原体検査情報 (<http://www.kenkou.pref.mie.jp/byougentai/kenshutu.htm>)
- 24) 矢野拓弥, 他 : 2012 年 3 月に検出された C 型インフルエンザウイルスの系統樹解析—三重県, 病原微生物検出情報 33 : 199, 2012
- 25) 矢野拓弥, 他 : 三重県におけるパラインフルエンザウイルスの動向. *三重保環研年報* 14(通巻第 57 号) : 52-55, 2012
- 26) 矢野拓弥, 他 : 呼吸器症状を呈した小児から検出された Human coronavirus (2013 年 1~4 月)—三重県. *病原微生物検出情報* 34 : 170-172, 2013
- 27) Cheng WX, et al : Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis, a case-control study. *Clin Infect Dis* 47 : 161-167, 2008
- 28) Levican J, et al : Human bocavirus in children with acute gastroenteritis, Chile, 1985-2010. *Emerg Infect Dis* 19 : 1877-1880, 2013
- 29) Ma X, et al : Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 44 : 1132-1134, 2006

- 30) Durigon GS, et al : Hospital-acquired human bocavirus in infants. *J Hosp Infect* 76 : 171-173, 2010
- 31) Don M, et al : Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol* 45 : 120-126, 2010
- 32) Guido M, et al : Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy. *Clin Microbiol Infect* 18 : E74-76, 2012

---

**Epidemiological investigation and phylogenetic analysis of the human bocavirus detected from children presenting with respiratory symptoms in Mie Prefecture, Japan between 2010 and 2013**

Takuya YANO<sup>1)</sup>, Hitoshi OCHIAI<sup>2)</sup>, Masahiro WATANABE<sup>3)</sup>, Toshiaki IHARA<sup>4)</sup>

1) *Mie Prefecture Health and Environment Research Institute*

2) *Ochiai Pediatric Clinics*

3) *Suzuka Kodomo Clinics*

4) *National Hospital Organization Mie National Hospital*

In order to understand the epidemiology of the human bocavirus (HBoV), 763 pediatric patients seeking treatment for respiratory infectious diseases in Mie Prefecture between 2010 and 2013 were surveyed, as part of the Mie Prefecture Project for the surveillance of infectious diseases.

Twenty-five of the 763 (3.3%) patients were found to be HBoV positive.

Of these, four were identified in 2010, five in 2011, nine in 2012 and seven in 2013. Most of the HBoV cases tended to be detected in spring and early summer.

(受付 : 2014 年 4 月 23 日, 受理 : 2014 年 6 月 26 日)

\* \* \*