

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月25日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591174

研究課題名（和文）ヒトボカウイルス感染症の疾患スペクトラム及び病態の解明に関する研究

研究課題名（英文） Studies on the spectrum and pathogenesis of human bocavirus infection

研究代表者

石黒 信久（ISHIGURO NOBUHISA）

北海道大学・北海道大学病院・准教授

研究者番号：40168216

研究成果の概要（和文）：0か月～7歳の呼吸器感染症患者757名（男436名，女321名）の鼻咽頭拭い液850検体を用意して、nested PCR法によりHBoVのVP1/2領域を増幅後、塩基配列を決定した。850検体中145検体（17.1%）からHBoVゲノムが検出され、その内訳はHBoV1が132検体（15.5%）、HBoV2が5検体（0.6%）、HBoV3が3検体（0.4%）、HBoV4が5検体（0.6%）であった。

研究成果の概要（英文）：Human bocaviruses (HBoV) 1, 2, 3, and 4 (HBoV1-4) were detected in 132 (15.5%), 5 (0.6%), 3 (0.4%), and 5 (0.6%) of 850 nasopharyngeal swab samples collected from children (0 month to 7 years old) with respiratory tract infections, respectively. Out of the 145 HBoV1-4-positive samples, 62 (42.8%) were codetected with other respiratory viruses.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児感染症学、ヒトボカウイルス感染症

1. 研究開始当初の背景

(1) 2005年9月、スウェーデンの呼吸器感染症患者の鼻咽頭液から抽出したDNAを元にヒト・ボカウイルス(HBoV)がクローニングされた。このウイルス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、当初から呼吸器感染症の起因ウイルスであると推定された。

(2) 従来、パルボウイルス科のウイルスの中で唯一パルボウイルスB19(B19)がヒトに対して病原性を有するとされてきたが、HBoVは

ヒトに病原性を有する第2番目のパルボウイルスとして注目を集めた。

(3) 我々の研究室で、原因ウイルスが不明の気道感染症患者の5.7%からHBoVが検出された(J Clin Microbiol. 2006;44:1132-34)。HBoV検出陽性者は7か月から3歳に集中しており、HBoV感染症は乳幼児に多いことが推定された。

(4) その後、カナダ、韓国、フランス、米国、オーストラリア、ドイツからも同様の報告が相次ぎ、気道感染症の起因ウイルスとしての

HBoV の臨床的重要性が認められてきた。

(5) 2007 年、呼吸器感染症に罹患した小児の鼻咽頭ぬぐい液からヒトにとって第 3, 第 4 番目のポリオーマウイルスとなる KI ポリオーマウイルス (KI polyomavirus: KIPyV) と WU ポリオーマウイルス (WU polyomavirus: WUPyV) が発見された。KIPyV と WUPyV は呼吸器系の検体から発見されたウイルスではあるが、実際に呼吸器感染症の原因病原体となっているかどうかは現在のところ不明である。

2. 研究の目的

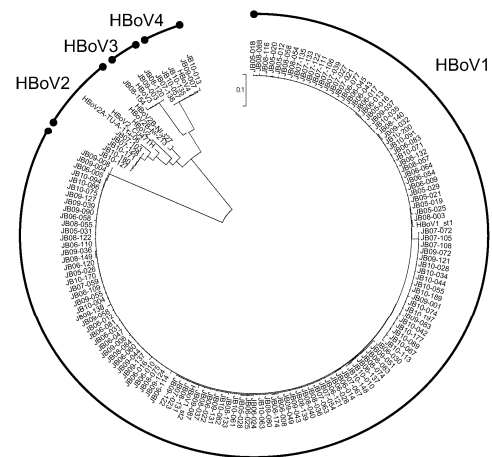
- (1) HBoV が呼吸器感染症の病態に果たしている役割について解析する。
- (2) 新しく発見された HBoV2-4 が呼吸器感染症に果たす役割を解析する。
- (3) KIPyV と WUPyV の小児呼吸器感染症における検出状況を検討して、実際に呼吸器感染症の原因病原体となっているかどうかを検討する。
- (4) 正常肺組織と肺腺癌組織中の KIPyV と WUPyV ゲノムの有無を検索することで両ウイルスが肺組織に潜伏感染している可能性および肺腺癌の病態に関連している可能性について検討する。

3. 研究の方法

- (1) HBoV の VP1/2 領域を増幅する Nested PCR 法を用い、増幅後に塩基配列を確認した。ClustalW を用いて既知の HBoV の塩基配列との相同性を検討して、HBoV1-4 のいずれかに属するかを決定した。
- (2) 既知の合計 14 種類の呼吸器ウイルスを検出するための (RT-)PCR 系を確立した。

4. 研究成果

- (1) 2005 年 6 月から 2011 年 8 月にかけて収集された小児呼吸器感染症患者 757 名 (1 ヶ月から 11 歳, 男 436 人, 女 321 人) の鼻咽頭ぬぐい液 850 検体を使用した。850 検体中 145 検体 (17.1%) から HBoV が検出された。その内訳は HBoV1 が 132 検体 (15.5%)、HBoV2 が 5 検体 (0.6%)、HBoV3 が 3 検体 (0.4%)、HBoV4 が 5 検体 (0.6%) であった。HBoV1 が検出された 132 検体のうち 76 検体 (57.6%) は HBoV1 の単独検出で、他の呼吸器ウイルスは検出されなかった。HBoV2 が呼吸器感染症患者の 2.3-4.3% から検出されたとの報告はあるが、HBoV3 と HBoV4 が呼吸器感染症患者から検出されたとの報告は過去にはない。



- (2) HBoV2 が検出された 5 検体のうち 3 検体 (60.0%)、HBoV4 が検出された 5 検体のうち 4 検体 (80%) は各々の HBoV の単独検出で、他の呼吸器ウイルスは検出されなかった。HBoV2, 4 は呼吸器感染症と関連している可能性があると考えられた。

ウイルス	検出数 (率)	単独検出数
HBoV1	132/850 (15.5%)	76
HBoV2	5/850 (0.6%)	3
HBoV3	3/850 (0.4%)	0
HBoV4	5/850 (0.6%)	4
	145/850 (17.1%)	83

- (3) 1 ヶ月-7 歳の下気道感染症患者から採取した鼻咽頭拭い液 218 検体中の KIPyV, WUPyV, 12 種類の呼吸器感染症ウイルスを (RT-)PCR 法にて検索した。KIPyV は鼻咽頭拭い液の 6/218 (2.8%) から、WUPyV は 13/218 (6.0%) から検出された。KIPyV 陽性検体 3/6 (50.0%)、WUPyV 陽性検体 7/13 (53.8%) は PyV が単独で検出されており、他の呼吸器感染症ウイルスは検出されなかった。また、コントロール群 (呼吸器症状がない健康小児) 47 検体からはどの呼吸器ウイルスも検出されなかった。

- (4) 鼻咽頭拭い液から WUPyV が検出された 2 名の血清の WUPyV を real-time PCR 法にて検索したところ、1 名の血清から WUPyV が検出された。また、鼻咽頭拭い液から WUPyV が検出された 2 名のペア血清の抗 WUPyV VP1-IgG 抗体価を測定したところ、抗 WUPyV VP1-IgG

抗体価の上昇を認めた。KIPyV と WUPyV が呼吸器感染症を起こす可能性、未知の病原体による呼吸器感染症の経過を修飾する可能性等が考えられた。

症例：鼻咽頭拭い液から WUPyV が検出された9ヶ月女児

	急性期	回復期
鼻咽頭拭い液中の WUPyV ゲノム	+	
血清中の WUPyV ゲノム	961.25 copy/ml	検出されず
血清中の抗 WUPyV 抗体価	<1:10	1:40

(5) 正常肺組織30検体及び各種肺癌組織112検体中の KIPyV 及び WUPyV を real-time PCR 法にて検索したところ、正常肺組織から KIPyV が検出されたが(2/30, 6.7%)、各種肺癌組織から KIPyV と WUPyV は検出されなかった。KIPyV は肺に潜伏あるいは持続感染している可能性が考えられたが、KIPyV と WUPyV は各種肺癌の原因ウイルスとならないと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Koseki, N., S. Teramoto, M. Kaiho, R. Gomi-Endo, M. Yoshioka, Y. Takahashi, T. Nakayama, H. Sawada, M. Konno, H. Ushijima, H. Kikuta, T. Ariga, N. Ishiguro. (2012) "Detection of human bocavirus 1-4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections." J. Clin. Microbiol. 50(6): 2118-21. 査読有
2. Yoshida S, Mohamed RH, Kajikawa M, Koizumi J, Tanaka M, Fugo K, Otsuka N, Maenaka K, Yagita H, Chiba H, Kasahara M. (2012) "Involvement of an NKG2D ligand H60c in epidermal dendritic T cell-mediated wound repair." J Immunol 188: 3972-3979. 査読有
3. Kariwa H, Yoshida H, Sanchez-Hernandez C, Romero-Almaraz Mde L, Almazan-Catalan JA, Ramos C, Miyashita

D, Seto T, Takano A, Totani M, Murata R, Saasa N, Ishizuka M, Sanada T, Yoshii K, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I. (2012) "Genetic diversity of hantaviruses in Mexico: identification of three novel hantaviruses from Neotominae rodents." Virus research 163: 486-494. 査読有

4. Kohsaka S, Sakai T, Kohsaka M, Fukuda N, Ariga T. "Activation of the brainstem precedes and outlasts the K-complex in humans." (2012) Neuroscience 202: 243 -251. 査読有

5. 石黒信久：【クローズアップ感染症】〈感染性疾患の基礎的な知見の進歩・概念の変化〉近年発見されたヒトボカウイルスの基礎と臨床、小児内科 44 巻 7 号 Page 997 -1002(2012.07) 査読無

6. Teramoto, S, M. Kaiho, Y. Takano, R. Endo, H. Kikuta, H. Sawa, T. Ariga, N. Ishiguro (2011). "Detection of KI polyomavirus and WU polyomavirus DNA by real-time polymerase chain reaction in nasopharyngeal swabs and in normal lung and lung adenocarcinoma tissues." Microbiol Immunol 55(7): 525-530. 査読有

7. Teramoto, S., N. Koseki, M. Yoshioka, Y. Matsunami, N. Yanazume, M. Nawate, T. Shikano, Y. Takahashi, H. Kikuta, N. Ishiguro. (2011) "WU Polyomavirus Infection Confirmed by Genetic and Serologic Tests in an Infant With Bronchitis." Pediatr Infect Dis J 30(10): 918. 査読有

8. 石黒信久, 遠藤理香[五味], 有賀正：【今知るべき小児感染症領域の新しい知見 2011】最近注目されているウイルス ヒトボカウイルス、小児科診療 74 巻 9 号 Page 1353 -1359(2011.09) 査読無

9. 石黒信久：【話題の呼吸器ウイルス感染症】ヒトボカウイルス感染症、臨床とウイルス (0303-8092)39 巻 4 号 Page 184-192 (2011.09) 査読無

[学会発表] (計4件)

1. 石黒信久：多剤耐性緑膿菌感染症に対するコリスチンの有効性と使用上の注意点、第47回緑膿菌感染症研究会、2013.2.23、札幌医科大学(札幌)

2. 石黒信久：インフルエンザ治療 解熱効果からみた最新の知見、第 44 回日本小児感染症学会総会・学術集会、2012. 11. 25、西日本総合展示場・北九州国際会議場（北九州市）
3. 石黒信久：新興ウイルス感染症と院内感染対策に関する話題、第 36 回東日本小児科学会（茨城地方会）、2011. 11. 23、筑波大学（つくば市）
4. 石黒信久：呼吸器感染症ウイルスに関する 最近の話題とウイルス感染症 からみた院内感染対策、第 15 回多摩ウイルス感染症研究会、2011. 10. 1、京王プラザホテル新宿（東京都）

[図書] (計 7 件)

1. 石黒信久、日本臨牀社、ヒトボカウイルス感染症「感染症症候群（上）病原体別感染症編」、2013、印刷中
2. 石黒信久、日本臨牀社、ヒトメタニューモウイルス感染症「感染症症候群（上）病原体別感染症編」、2013、印刷中
3. 石黒信久、丸善出版株式会社、ウイルス性呼吸器感染症（医学スーパーラーニングシリーズ 感染症内科学）、2013、176-184
4. 石黒信久、南江堂、アデノウイルス感染症「感染症専門医テキスト 第 1 部 解説編」、2011、791
5. 石黒信久、南江堂、パルボウイルス感染症「感染症専門医テキスト 第 1 部 解説編」、2011、798
6. 石黒信久、南江堂、ヒトボカウイルス感染症「感染症専門医テキスト 第 1 部 解説編」、2011、801
7. 石黒信久、南江堂、ヒトメタニューモウイルス感染症「感染症専門医テキスト 第 1 部 解説編」、2011、860

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石黒 信久 (ISHIGURO NOBUHISA)
北海道大学・北海道大学病院・准教授
研究者番号：40168216

(2) 研究分担者

有賀 正 (ARIGA TADASHI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60322806

有川 二郎 (ARIKAWA JIRO)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：10142704

笠原 正典 (KASAHARA MASANORI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30241318

(3) 連携研究者

なし