

話題の感染症

ヒトボカウイルス感染症

Human Bocavirus Infection

いし ぐろ のぶ ひさ 1,2) : えん どう り か あり が ただし
 石 黒 信 久^{1,2)} : 遠 藤 理 香¹⁾ : 有 賀 正¹⁾
 Nobuhisa ISHIGURO Rika ENDO Tadashi ARIGA

〈キーワード〉

ヒトボカウイルス、抗ヒトボカウイルス抗体、PCR、
 Real-time PCR、蛍光抗体間接法

要 旨

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を元にクローニングされた新しい呼吸器ウイルスは、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、ヒトボカウイルス (Human bocavirus ; HBoV) と名付けられた。従来、パルボウイルス亜科エリスロウイルス属に分類されるパルボウイルス B19がヒトに病原性をもつ唯一のパルボウイルスとされてきたが、HBoVの発見によって、ヒトに病原性をもつパルボウイルスは2種類となった。スウェーデンに引き続いて、世界の5大陸19カ国の呼吸器感染症患者からHBoVが相次いで検出されており、HBoVは世界中に広く分布して、呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な位置を占めていることが明らかとなっていった。HBoVゲノムが検出された呼吸器感染症患者の年齢分布と、各年齢層別の抗HBoV VP1-IgG抗体の保有率の解析から、5歳までに大半の人がHBoVに初感染していることが示された。本稿では、HBoVの分類と構造、HBoV感染症の疫学、HBoV感染症の臨床症状、抗HBoV VP1-IgG抗体価測定法と抗体保有率、ウイルス検出法および治療法について概説したうえで、抗HBoV VP1-IgG抗体価の上昇とウイルス血症が証明されたHBoV感染症の4症例について紹介したい。

I. 病原体

2005年、スウェーデンの呼吸器感染症患者の保存鼻咽頭液から抽出したDNAから新しいウイルスが発見された¹⁾。培養細胞を用いた従来のウイルス分離方法ではなく、ウイルスの塩基配列とは無関係な非特異的なプライマーを用いたPCR法によってクローニングされた²⁾。新しくクローニングされたそのウイルスは、その塩基配列の系統樹分析からパルボウイルス科 (Family) パルボウイルス亜科 (Subfamily) ボカウイルス属 (Genus) に分類され、ヒトボカウイルス (Human Bocavirus, HBoV) と名付けられた¹⁾。HBoVのウイルス粒子は分離されていないが、エンベロープをもたない直鎖一本鎖DNAウイルスと推定されている。表1にパルボウイルス科のウイルスの分類を示した。従来、パルボウイルス亜科エリスロウイルス属に分類されるパルボウイルス B19 (B19) がヒトに病原性をもつ唯一のパルボウイルスとされてきたが、HBoVの発見によって、ヒトに病原性をもつパルボウイルスは2種類となった。遺伝子治療のウイルスベクターとして用いられるアデノ随伴ウイルス (Adeno-Associated Virus, AAV) はパルボウイルス亜科ディペンドウイルス属に分類されるウイルスだが、ヒトには病原性をもたない³⁾。2005～2006年に発見されたPARV4およびPARV5はどの属にも分類されない新しいパルボウイルスであるが、ヒトへの病原性は不明である^{4,5)}。

パルボウイルス亜科のウイルスは、NS1 (nonstructural protein) と VP1/VP2 (viral capsid protein) の ORF (open reading frame) を有するのが共通の特

1) 北海道大学大学院医学研究科 専門医学系
 生殖・発達医学講座 小児科学分野
 2) 北海道大学病院 感染制御部
 ☎060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目

1) Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate
 School of Medicine
 2) Infection Control Team, Hokkaido University Hospital
 (N-15, W-7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido)

表1 Parvoviridae Family (パルボウイルス科) に属するウイルスの分類

Subfamily (亜科)	Genus (属)	例
Parvovirinae	<i>Parvovirus</i>	<i>Mouse parvovirus 1</i>
	<i>Erythrovirus</i>	<i>Human parvovirus B19</i>
	<i>Dependovirus</i>	<i>Adeno-associated viruses</i>
	<i>Amdovirus</i>	<i>Aleutian mink disease virus</i>
	<i>Bocavirus</i>	<i>Human bocavirus</i>
Densovirinae	<i>Densovirus</i>	<i>Junonia coenia densovirus</i>
	<i>Iteravirus</i>	<i>Bombyx mori densovirus</i>
	<i>Brevidensovirus</i>	<i>Aedes aegypti densovirus</i>
	<i>Pefudensovirus</i>	<i>Periplaneta fuliginosa densovirus</i>

(注) 近年発見された PARV4 と PARV5 は従来の Genes (属) には分類されない。

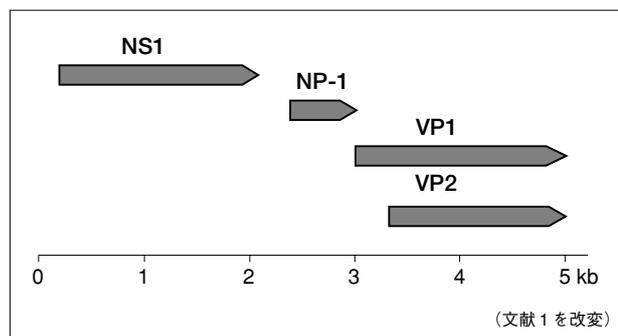


図1

徴であるが、ボカウイルス属のウイルスではさらに NP-1 (nonstructural protein with unknown function) という第3番目の ORF を有している。HBoV も既知のボカウイルス属ウイルスと同様に3個の ORF を有している (図1)¹⁾。VP1/VP2 遺伝子の塩基配列には多様性があり、VP1/VP2 遺伝子の塩基配列から HBoV は大きく2つのグループに分けられるとする報告もみられる⁶⁾。

II. 疫学

北海道内の小児下気道感染症患者で、RS ウイルス、インフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスが検出された患者を除いた318名を対象に行った調査では、18名(5.7%)の鼻咽頭検体から HBoV のウイルスゲノムが検出された⁷⁾。年齢別および月別の検出率を表2と3に示す。年齢別では7カ月から3歳までのあいだに集中しており、平均年齢は1歳4カ月であった。月別では1月から7月にわたって検出されたが、特に2月から5月、冬から春にかけて多く検出された。

スウェーデンで HBoV が発見されて以来、世界の

表2 年齢別ヒトボカウイルスゲノム検出率

年齢	陽性数/検査数	頻度
0~3カ月	0/17	0.0%
4~6カ月	0/25	0.0%
7~9カ月	1/44	2.3%
10~12カ月	5/40	12.5%
1歳1カ月~2歳0カ月	10/99	10.1%
2歳1カ月~3歳0カ月	2/40	5.0%
3歳1カ月~4歳0カ月	0/23	0.0%
4歳1カ月~5歳0カ月	0/14	0.0%
5歳1カ月~6歳0カ月	0/11	0.0%
6歳1カ月以上	0/5	0.0%
計	18/318	5.7%

表3 月別ヒトボカウイルスゲノム検出率

月	陽性数/検査数	頻度
1月	1/18	5.6%
2月	3/49	6.1%
3月	1/37	2.7%
4月	4/44	9.1%
5月	8/54	14.8%
6月	0/28	0.0%
7月	1/6	16.7%
8月	0/6	0.0%
9月	0/18	0.0%
10月	0/18	0.0%
11月	0/21	0.0%
12月	0/19	0.0%
計	18/318	5.7%

各地の呼吸器感染症患者から HBoV が検出されている。現在(2007年8月末)までに、スウェーデン、フィンランド、イギリス、オランダ、スイス、スペイン、イタリア、ドイツ、フランス(以上ヨーロッパ大陸)、日本、韓国、タイ、中国、ヨルダン、イラン(以上アジア大陸)、南アフリカ(アフリカ大陸)、米国、カナダ(以上北アメリカ大陸)、オーストラリア(オース

トラリア大陸) の計5大陸19カ国からHBoV検出の報告があり、HBoVは広く世界中に分布していることがわかってきた^{1,6~34)}。各国でのHBoV検出率とその調査対象、季節性等を表4にまとめた。小児の呼吸器感染症患者におけるHBoVの平均検出率を5%前後とする報告が多いが、報告により1.2~19.0%と幅がある。これは、調査月の違い、あるいは、HBoVの流行期が調査期間に含まれていたかどうかによる違いと推定される。われわれの調査を含む多くの報告では、専ら小児下気道感染症患者を対象としてHBoVの検出率を調査しているが、全年齢層を対象として調査を行った報告では、成人におけるHBoV検出率は乳幼児に比較してかなり低い(0.7%)²³⁾。季節性については、冬から春にピークがあるとするものが多いが、通年性に検出されるという報告もある。

HBoVが検出される呼吸器感染症の症例では、HBoV以外のウイルスが同時に検出されることが多いのが特徴である。その頻度は報告によってばらつきはあるが(6.2~80%)、これらを集計すると、約43%のHBoV検出症例からHBoV以外のウイルスが同時に検出されている(表4)。検出されるウイルスのなかでは、RSウイルス、アデノウイルス、ヒトライノウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスの頻度が高い。HBoVと他のウイルスが同時に検出されることの意味づけはまだなされていないが、HBoVが他のウイルスの感染に依存して増殖するウイルスである可能性なども考えられ、これからの検討課題である。

Ⅲ. 臨床症状

われわれの調査において、鼻咽頭検体からHBoVのウイルスゲノムが単独で検出された18名の患者の臨床像を表5に示す⁷⁾。診断病名は喘息様気管支炎(7名)、肺炎(5名)、気管支炎(2名)、細気管支炎(2名)、喘息発作(1名)、喉頭気管支炎(1名)であった。全症例に咳嗽と発熱を認め、最高体温は37.5~40.2℃(平均最高体温38.9℃)、37.5℃以上の発熱持続期間は1~8日(平均有熱期間は3.1日)であった。平均入院期間は5.3日、白血球数最高値の平均値は13,200/mm³、CRP最高値の平

表5 HBoVが検出された患者の臨床像

平均年齢	1歳4カ月(9カ月~2歳7カ月)	
男女比	男:女=13:5	
平均最高体温	38.9℃(37.5~40.2℃)	
平均有熱期間	3.1日(1~8日)	
平均入院期間	5.2日(0~9日)	
平均白血球数	13,200/mm ³ (4,800~21,980/mm ³)	
平均CRP値	1.17mg/dl(<0.20~4.48mg/dl)	
主な臨床症状	発熱	8/18(100%)
	咳嗽	18/18(100%)
	喘鳴	15/18(83%)
	鼻汁	11/18(61%)
	陥没呼吸	8/18(44%)
	発疹	2/18(11%)
胸部レントゲン所見	異常なし	10/18(56%)
	異常あり	8/18(44%)
治療	ネオフィリン静注	14/18(78%)
	抗生剤静注	14/18(78%)
	ステロイド静注	6/18(33%)
	酸素投与	2/18(11%)
臨床診断名	喘息様気管支炎	7名
	肺炎	5名
	気管支炎	2名
	細気管支炎	2名
	喉頭気管支炎	1名
	気管支喘息発作	1名

均値は1.17mg/dlであった。その他の症状として、15名(83%)で喘鳴、8名(44%)で陥没呼吸、2名(11%)で発疹を認めた。8名(44%)で胸部レントゲン所見に何らかの異常所見を認めた。

諸外国の報告においても、HBoVゲノムは主に乳幼児の呼吸器感染症患者から検出され、HBoVゲノムが検出された患者では、発熱、咳嗽、鼻汁、多呼吸、喘鳴、呼吸困難、低酸素血症等の非特異的で多彩な気道症状を呈する^{1,6~34)}。一般的には、重症化するHBoV感染症の症例は少ないと考えられているが、基礎疾患のある乳児で重篤な細気管支炎を起こしたという報告や³⁵⁾、成人でも悪性リンパ腫で化学療法を受けている患者で重症な肺炎を起こしたという報告があり³⁶⁾、基礎疾患をもつ患者や免疫不全状態の患者などでは注意が必要と思われる。

近年、3歳以下の気道症状を呈さない胃腸炎患者の便から9.1%(48/527)の頻度でHBoVが検出され、注目を集めている¹²⁾。

表4 世界各国の呼吸器感染症における HBoV 検出率、季節性および他のウイルスとの重複感染の報告

報告年	国名	対象患者	HBoV検出率	季節性	他のウイルスとの重複感染	文献	
(ヨーロッパ大陸)							
1	2005	スウェーデン	小児の気道感染症入院患者	17/540 (3.1%)	冬に多い	17名中3名 (17.6%)	1)
2	2007	フィンランド	3か月～15歳(平均1.6歳)の喘鳴のある患者259名	49/259 (18.9%)	解析なし	49名中37名 (76%)	8)
3	2006	イギリス	全年齢層(357名は5歳未満の小児)の急性気道感染症患者	47/574 (8.2%)	12～1月にピーク	47名中23名 (48.9%)	9)
4	2007	オランダ	3か月～6歳の発熱患者	257検体中4検体が陽性(1.6%)	解析なし	4名中3名 (75%)	10)
5	2007	スイス	初めて呼吸器感染症に罹患した新生児(月齢3か月まで)	5/112 (4.5%)	冬、春、夏で検出(解析なし)	5名中4名 (80%)	11)
6	2007	スペイン	救急を受診した3歳以下の急性呼吸器感染症患者520名	40/520 (7.7%)		40名中25名 (62.5%)	12)
7	2007	イタリア	乳幼児の呼吸器感染症200検体、成人の呼吸器感染症84検体	乳幼児9/200 (4.5%)、成人1/84 (1.2%)	季節性に乏しい	乳児9名中4名 (44.4%)	13)
8	2006	ドイツ	小児(0～16歳)の気道感染症入院患者	87/835 (10.3%)	冬季に多い	87名中34名 (39.1%)	14)
9	2007	ドイツ	36か月未満の小児の重症下気道感染症入院患者	12/94 (12.8%)	冬季のみの調査	12名中5名 (41.7%)	15)
10	2007	ドイツ	急性呼吸器症候を呈している小児患者の鼻咽頭吸引834検体	鼻咽頭吸引検体では100/834 (12%)	季節性なし	100名中41名 (41.0%)	16)
11	2006	フランス	5歳以下の小児の気道感染症入院患者	9/262 (3.4%)	冬のみの調査	9名中3名 (33.3%)	18)
12	2006	フランス	5歳未満の小児の気道感染症入院患者	26/589 (4.4%)	12月～6月に検出	26名中9名 (34.6%)	17)
13	2007	フランス	喘息患者50名	7/50 (14%)	解析なし	7名中2名 (28.7%)	19)
(アジア大陸)							
14	2006	日本	小児の下気道感染症患者(RSV, FluA&B, hMPVをあらかじめ除外)	18/318 (5.7%)	冬から春にかけて多い	解析なし	7)
15	2006	韓国	5歳以下の小児の下気道感染症患者	58/515 (11.3%)	5～7月にピーク	58名中22名 (37.9%)	20)
16	2006	韓国	5歳以下小児の下気道感染症入院患者	27/336 (8.0%)	なし(通年性)	27名中10名 (37.0%)	21)
17	2007	韓国	急性の喘鳴で入院した6歳以下の小児患者231名	17/231 (5.6%)	2月～6月、11月	17名中10名 (58.8%)	22)
18	2007	タイ	肺炎の入院患者1168人、外来患者512人、コントロール280人	入院患者53/1168 (4.5%)、外来患者20/512 (3.9%)、コントロール3/280 (1%)	通年性だが、2～3月、7～9月に多い	53名中44名 (83.0%)	23)
19	2006	タイ	全年齢層の肺炎入院患者	53/1178 (4.5%)	解析なし	解析なし	24)
20	2007	中国	小児の下気道感染症入院患者	7/257 (2.7%)	解析なし	解析なし	25)
21	2007	中国	10歳以下の小児の気道感染症入院患者	21/252 (8.3%)	解析なし	21名中2名 (9.5%)	26)
22	2006	ヨルダン	5歳未満の小児の急性気道感染症入院患者	57/312 (18.3%)、重症者30/138 (21.7%)、中等度～軽症者25/174 (15.5%)	解析なし	重症者30名中27名 (90%)	27)
23	2007	イラン	261名の5歳以下の気道感染症の入院および外来小児患者	全体21/261 (8%)、入院15/122 (12%)、外来6/139 (4%)	11月～2月(秋～冬)	21名中7名 (33.3%)	28)
(アフリカ大陸)							
24	2006	南アフリカ	12歳以下の小児の気道感染症入院患者	38/341 (11.1%)	通年性だが、秋冬(4～8月)に多い	38名中14名 (37%)	29)
(北アメリカ大陸)							
25	2006	米国	0～18歳の気道感染症患者	82/1474 (5.6%)	3月から5月にピーク	82名中10名 (12.2%)	30)
26	2006	米国	2歳未満の小児の急性気道感染症患者(RSV, FluA&B, hPIV, AdVを除外)	22/425 (5.2%)、0/96コントロール(0%)	1～4月、10～12月に検出	解析なし	6)
27	2006	カナダ	全年齢層の急性気道感染症患者(RSV, FluA&B, hPIV, AdV, hMPVをあらかじめ除外)	18/1209 (1.5%)	なし	解析なし	31)
28	2006	カナダ	0～17歳の気道感染症患者(RSV, FluA&B, hPIV, AdVをあらかじめ除外)	65/1265 (5.1%)	8月を除き通年性にみられる	65名中4名 (6.2%)	32)
(オーストラリア大陸)							
29	2005	オーストラリア	3歳未満の小児の急性呼吸器感染症患者	18/324 (5.6%)	冬のみの調査	18名中10名 (55.6%)	33)
30	2006	オーストラリア	全年齢層(5歳以下が78.9%)の気道感染症患者	15/315 (4.8%)	解析なし	15名中10名 (66.7%)	34)

HRV, human rhinovirus; RSV, respiratory syncytial virus; AdV, adenovirus; HEV, human enterovirus; FluA, influenza virus type A; FluB, influenza virus type B; hPIV, human parainfluenza virus; HCoV NL63, human coronavirus NL63; OC43, human coronavirus OC43; hMPV, human metapneumovirus; HPEV, human parechovirus

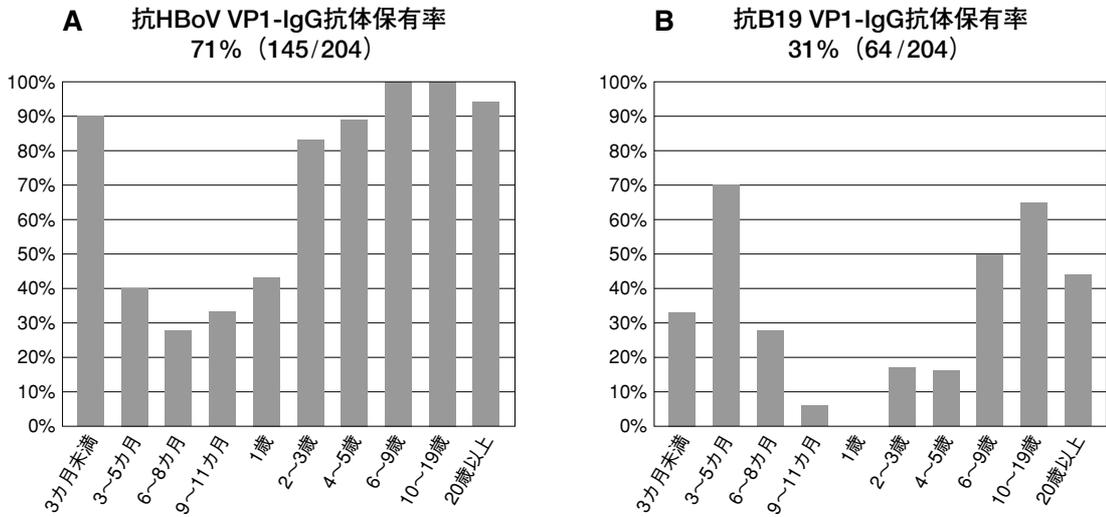


図2 抗HBoV VP1-IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体保有率の年齢層別比較

IV. 抗HBoV VP1-IgG抗体価測定法と抗体保有率

HBoVの外殻蛋白(viral capsid protein)の1つであるVP1蛋白を産生するバキュロウイルスを遺伝子組み換えにより作成し、このウイルスを感染させたTn5細胞を抗原とする蛍光抗体間接法を使って血清中の抗HBoV VP1-IgG抗体価を測定した³⁷⁾。北海道内の各年齢層の患者から無作為に抽出した血清中の抗HBoV VP1-IgG抗体を測定したところ、母親からの移行抗体は6か月頃までにはほぼ消失し、6か月から8か月の抗体保有率は最も低い。以後、抗体保有率は漸増して2~3歳以降80%以上、6歳以降ほぼ100%となった(図2A)。呼吸器感染症患者の鼻咽頭からのHBoVウイルスゲノムの検出が7か月から3歳までのあいだに集中していることと合わせると(表2)、5歳までには多くの小児がHBoVに初感染していると推測された³⁷⁾。

抗HBoV VP1-IgG抗体価測定の際には、抗HBoV VP1-IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体との交差反応の有無が問題となる。そこで、B19の外殻蛋白VP1蛋白を産生するバキュロウイルスを作成して、このウイルスを感染させたTn5細胞を抗原とした蛍光抗体間接法により血清中の抗B19 VP1-IgG抗体価を測定して、同一血清中の抗HBoV VP1-IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体を比較した³⁷⁾。抗HBoV VP1-IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体の保有率が各年齢層において異なること(図2A, 2B)、抗HBoV VP1-

表6 同一血清における抗HBoV VP1-IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体の陽性率の比較

		抗B19 VP1-IgG抗体		
		陰性	陽性	計
抗HBoV VP1-IgG抗体	陰性	45	14	59
	陽性	95	50	145
	計	140	64	204

IgG抗体と抗B19 VP1-IgG抗体を測定すると一方のみが陽性となる血清が多数存在すること(表6)、さらに両抗体が陽性の血清とHBoVまたはB19発現細胞を用いた吸収試験の結果より³⁷⁾、われわれが開発した抗HBoV VP1-IgG抗体測定系は抗B19 VP1-IgG抗体を検出せず、抗HBoV VP1-IgG抗体を特異的に検出することが確認できた。

V. ウイルス検出法

細胞培養によるHBoV分離方法は確立していないので、鼻咽頭の擦過スワブや鼻汁吸引液などの検体からDNAを抽出した後、PCR法やReal-time PCR法を用いてウイルスDNAを検出する方法が一般的である。どちらの方法を用いても、良好な感度と特異度が得られる^{7, 8, 16, 37)}。

近年、Real-time PCRを用いて血中のHBoVゲノムを検出したとの報告が相次いでいる^{8, 16, 37)}。HBoV感染症の急性期で鼻咽頭のウイルス量が 10^4 コピー/ml以上のときには21/24(88%)の頻度で⁸⁾、われ

表7 鼻咽頭からHBoVゲノムが検出されペア血清が得られた
4症例の抗HBoV VP1-IgG抗体価とHBoVコピー数

症例	年齢	性別	急性期血清			回復期血清		
			発症後 の日数	抗HBoV VP1-IgG抗体価	HBoV コピー数 (/ml)	発症後 の日数	抗HBoV VP1-IgG抗体価	HBoV コピー数 (/ml)
1	11m	男	1日	40倍以下	7.32x10 ⁴	27日	1280倍	< 5.0x10 ²
2	1y1m	男	5日	40倍以下	3.05x10 ⁵	119日	640倍	< 5.0x10 ²
3	9m	男	3日	40倍以下	2.17x10 ⁵	28日	1280倍	1.86x10 ⁴
4	1y4m	男	5日	40倍以下	1.48x10 ⁶	32日	2560倍	< 5.0x10 ²

われの症例では4/4 (100%) の頻度で血中にHBoVゲノムが検出されるが(表7)³⁷⁾、回復期にも各々7/24 (29%)、1/4 (25%) の頻度で血中にHBoVゲノムが検出されることは注目すべきであろう。

最近になり、PCR法にてHBoVゲノムが検出された呼吸器感染症患者の鼻咽頭ぬぐい液からパルボウイルス科の特徴を備えているウイルス様粒子が電子顕微鏡にて観察された³⁸⁾。

VI. 治療法

対症療法が主体となる。われわれの調査で、鼻咽頭検体からHBoVゲノムが検出された18名の患者の治療として、14名(78%)にネオフィリンの点滴静注と抗生剤の静注、6名(33%)にステロイド剤の静注、2名(11%)に酸素投与が行われていた⁷⁾。

VII. 抗HBoV VP1-IgG抗体価の上昇とウイルス血症が証明されたHBoV感染症症例

われわれの調査で、鼻咽頭液からHBoVゲノムが検出された下気道感染症患者のうち、急性期と回復期のペア血清が得られた4症例について、血清中の抗HBoV VP1-IgG抗体価を測定するとともに、real-time PCR法を用いて血清中のHBoVゲノムのコピー数を測定したところ、4症例すべての回復期血清で抗HBoV VP1-IgG抗体価の上昇が認められ、4例全ての急性期血清からHBoVゲノムが検出された(表7)³⁷⁾。HBoV感染症は呼吸器系のみならず全身に及び、液性免疫反応を引き起こしていることが明らかとなった。なお、症例1と3からはヒトライノウイルスが、症例4からはヒトライノウイルスとアデノウイルスがHBoVと同時に検出された³⁷⁾。

おわりに

HBoVは広く世界中に分布して、呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。HBoVゲノムが検出された呼吸器感染症患者の年齢分布と、各年齢層別の抗HBoV VP1-IgG抗体の保有率の解析から、大半の人が5歳までにHBoVに初感染していることが示された。また、鼻咽頭液からHBoVゲノムが検出された下気道感染症患者のなかで急性期と回復期のペア血清が得られた4症例すべての回復期血清で抗HBoV VP1-IgG抗体価の上昇が認められ、4症例全ての急性期血清からHBoVゲノムが検出されたので、HBoVの感染は呼吸器系のみならず全身に及び、液性免疫反応を引き起こしていることが示された。今後の課題としては、再感染や持続感染を含めた病態解明、胃腸炎など呼吸器感染症以外の疾患スペクトラムの解明、HBoVと他のウイルスが同時に検出された場合の意義の解明等が重要であろう。

文 献

- 1) Allander, T., M. T. Tammi, M. Eriksson, A. Bjerkner, A. Tiveljung-Lindell, and B. Andersson : Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proc Natl Acad Sci U S A **102** : 12891-12896, 2005.
- 2) Ambrose, H. E., and J. P. Clewley : Virus discovery by sequence-independent genome amplification. Rev Med Virol **16** : 365-383, 2006.
- 3) Lu, Y.: Recombinant adeno-associated virus as delivery vector for gene therapy—a review. Stem Cells Dev **13** : 133-145, 2004.
- 4) Jones, M. S., A. Kapoor, V. V. Lukashov, P. Simmonds, F. Hecht, and E. Delwart : New DNA viruses identified in

- patients with acute viral infection syndrome. *J Virol* **79** : 8230-8236, 2005.
- 5) Fryer, J. F., A. Kapoor, P. D. Minor, E. Delwart, and S. A. Baylis : Novel parvovirus and related variant in human plasma. *Emerg Infect Dis* **12** : 151-154, 2006.
 - 6) Kesebir, D., M. Vazquez, C. Weibel, E. D. Shapiro, D. Ferguson, M. L. Landry, and J. S. Kahn : 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* **194** : 1276-1282, 2006.
 - 7) Ma, X., R. Endo, N. Ishiguro, T. Ebihara, H. Ishiko, T. Ariga, and H. Kikuta : Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* **44** : 1132-1134, 2006.
 - 8) Allander, T., T. Jartti, S. Gupta, H. G. Niesters, P. Lehtinen, R. Osterback, T. Vuorinen, M. Waris, A. Bjerkner, A. Tiveljung-Lindell, B. G. van den Hoogen, T. Hyypia, and O. Ruuskanen : Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* **44** : 904-910, 2007.
 - 9) Manning, A., V. Russell, K. Eastick, G. H. Leadbetter, N. Hallam, K. Templeton, and P. Simmonds : Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses. *J Infect Dis* **194** : 1283-1290, 2006.
 - 10) Monteny, M., H. G. Niesters, H. A. Moll, and M. Y. Berger : Human bocavirus in febrile children, The Netherlands. *Emerg Infect Dis* **13** : 180-182, 2007.
 - 11) Regamey, N., U. Frey, C. Deffernez, P. Latzin, and L. Kaiser : Isolation of human bocavirus from Swiss infants with respiratory infections. *Pediatr Infect Dis J* **26** : 177-179, 2007.
 - 12) Vicente, D., G. Cilla, M. Montes, E. G. Perez-Yarza, and E. Perez-Trallero : Human bocavirus, a respiratory and enteric virus. *Emerg Infect Dis* **13** : 636-637, 2007.
 - 13) Maggi, F., E. Andreoli, M. Pifferi, S. Meschi, J. Rocchi, and M. Bendinelli : Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virol* **38** : 321-325, 2007.
 - 14) Weissbrich, B., F. Neske, J. Schubert, F. Tollmann, K. Blath, K. Blessing, and H. W. Kreth : Frequent detection of bocavirus DNA in German children with respiratory tract infections. *BMC Infect Dis* **6** : 109, 2006.
 - 15) Kleines, M., S. Scheithauer, A. Rackowitz, K. Ritter, and M. Hausler : High prevalence of human bocavirus detected in young children with severe acute lower respiratory tract disease by use of a standard PCR protocol and a novel real-time PCR protocol. *J Clin Microbiol* **45** : 1032-1034, 2007.
 - 16) Neske, F., K. Blessing, F. Tollmann, J. Schubert, A. Rethwilm, H. W. Kreth, and B. Weissbrich : Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis. *J Clin Microbiol* **45** : 2116-2122, 2007.
 - 17) Foulongne, V., Y. Olejnik, V. Perez, S. Elaerts, M. Rodiere, and M. Segondy : Human bocavirus in French children. *Emerg Infect Dis* **12** : 1251-1253, 2006.
 - 18) Foulongne, V., M. Rodiere, and M. Segondy : Human Bocavirus in children. *Emerg Infect Dis* **12** : 862-863, 2006.
 - 19) Gendrel, D., R. Guedj, C. Pons-Catalano, A. Emerian, J. Raymond, F. Rozenberg, and P. Le Bon : Human bocavirus in children with acute asthma. *Clin Infect Dis* **45** : 404-405, 2007.
 - 20) Choi, E. H., H. J. Lee, S. J. Kim, B. W. Eun, N. H. Kim, J. A. Lee, J. H. Lee, E. K. Song, S. H. Kim, J. Y. Park, and J. Y. Sung : The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005. *Clin Infect Dis* **43** : 585-592, 2006.
 - 21) Chung, J. Y., T. H. Han, C. K. Kim, and S. W. Kim : Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. *Emerg Infect Dis* **12** : 1254-1256, 2006.
 - 22) Chung, J. Y., T. H. Han, S. W. Kim, C. K. Kim, and E. S. Hwang : Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing. *J Med Virol* **79** : 1238-1243, 2007.
 - 23) Fry, A. M., X. Lu, M. Chittaganpitch, T. Peret, J. Fischer, S. F. Dowell, L. J. Anderson, D. Erdman, and S. J. Olsen : Human bocavirus : a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *J Infect Dis* **195** : 1038-1045, 2007.
 - 24) Lu, X., M. Chittaganpitch, S. J. Olsen, I. M. Mackay, T. P. Sloots, A. M. Fry, and D. D. Erdman : Real-time PCR assays for detection of bocavirus in human specimens. *J Clin Microbiol* **44** : 3231-3235, 2006.
 - 25) Lin, F., A. Zeng, N. Yang, H. Lin, E. Yang, S. Wang, D. Pintel, and J. Qiu : Quantification of human bocavirus in lower respiratory tract infections in China. *Infect Agent Cancer* **2** : 3, 2007.
 - 26) Qu, X. W., Z. J. Duan, Z. Y. Qi, Z. P. Xie, H. C. Gao, W. P. Liu, C. P. Huang, F. W. Peng, L. S. Zheng, and Y. D. Hou : Human bocavirus infection, People's Republic of China. *Emerg Infect Dis* **13** : 165-168, 2007.
 - 27) Kaplan, N. M., W. Dove, A. F. Abu-Zeid, H. E. Shamoan, S. A. Abd-Eldayem, and C. A. Hart : Human bocavirus infection among children, Jordan. *Emerg Infect Dis* **12** : 1418-1420, 2006.
 - 28) Naghipour, M., L. E. Cuevas, T. Bakhshinejad, W. Dove, and C. A. Hart : Human bocavirus in Iranian children with acute respiratory infections. *J Med Virol* **79** : 539-543, 2007.
 - 29) Smuts, H., and D. Hardie : Human bocavirus in hospitalized children, South Africa. *Emerg Infect Dis* **12** : 1457-1458, 2006.
 - 30) Arnold, J. C., K. K. Singh, S. A. Spector, and M. H. Sawyer : Human bocavirus : prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis* **43** : 283-288, 2006.
 - 31) Bastien, N., K. Brandt, K. Dust, D. Ward, and Y. Li : Human Bocavirus infection, Canada. *Emerg Infect Dis* **12** : 848-850, 2006.
 - 32) Bastien, N., N. Chui, J. L. Robinson, B. E. Lee, K. Dust, L. Hart, and Y. Li : Detection of human bocavirus in Canadi-

- an children in a 1-year study. *J Clin Microbiol* **45** : 610-613, 2007.
- 33) Sloots, T. P., P. McErlean, D. J. Speicher, K. E. Arden, M. D. Nissen, and I. M. Mackay : Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Clin Virol* **35** : 99-102, 2006.
- 34) Arden, K. E., P. McErlean, M. D. Nissen, T. P. Sloots, and I. M. Mackay : Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. *J Med Virol* **78** : 1232-1240, 2006.
- 35) Simon, A., P. Groneck, B. Kupfer, R. Kaiser, G. Plum, R. L. Tillmann, A. Muller, and O. Schildgen : Detection of bocavirus DNA in nasopharyngeal aspirates of a child with bronchiolitis. *J Infect* **54** : e125-127, 2007.
- 36) Kupfer, B., J. Vehreschild, O. Cornely, R. Kaiser, G. Plum, S. Viazov, C. Franzen, R. L. Tillmann, A. Simon, A. Muller, and O. Schildgen : Severe pneumonia and human bocavirus in adult. *Emerg Infect Dis* **12** : 1614-1616, 2006.
- 37) Endo, R., N. Ishiguro, H. Kikuta, S. Teramoto, R. Shirkoohi, X. Ma, T. Ebihara, H. Ishiko, and T. Ariga : Seroepidemiology of Human Bocavirus in Hokkaido Prefecture of Japan. *J Clin Microbiol* **45** : 3218-3223, 2007.
- 38) Brieu, N., B. Gay, M. Segondy, and V. Foulongne : Electron microscopy observation of human bocavirus (HBoV) in nasopharyngeal samples from HBoV-infected children. *J Clin Microbiol* **45** : 3419-3420, 2007.