

人博卡病毒的研究进展

陈倩 综述, 胡正 审校

(南京医科大学附属南京儿童医院儿科研究所, 江苏 南京 210008)

[中图分类号] R373.2 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)08-0678-03

病毒是引起急性呼吸道感染 (ARTIs) 最主要的病原体。人博卡病毒 (human bocavirus, HBoV) 是 2005 年瑞典科学家 Allander 等^[1] 对呼吸道感染患儿鼻咽分泌物进行大规模检测时, 在常见呼吸道病毒检测阴性的患儿鼻咽分泌物中发现的一种新病毒, 通过基因测序和生物信息学方法筛查发现了细小病毒样的基因序列。研究结果显示, 呼吸道感染组患儿 HBoV 的检出率明显高于对照组, 差异有统计学意义, 证实 HBoV 可诱发呼吸道感染^[2]。

1 HBoV 的生物学分类和分子特征

通过核苷酸序列比较和系统进化分析发现, HBoV 属于细小病毒科 (parvoviridae), 细小病毒亚科, 博卡病毒属。细小病毒科包括 2 个亚科, 浓病毒亚科感染昆虫, 细小病毒亚科感染脊椎动物; 细小病毒亚科又分为细小病毒属、博卡病毒属、红病毒属等 5 个属。细小病毒 B19 (B19V) 属于红病毒属, 可引起儿童传染性红斑、关节痛和贫血; 而博卡病毒属中, 除新发现的 HBoV 外, 还有牛博卡病毒 (bovine parvovirus, BPV) 和犬博卡病毒 (canine minute virus, MVC), 这两种病毒与动物的呼吸道和肠道感染有关。HBoV 的发现改变了 30 年来一直公认的理论, 即 B19V 是细小病毒科中唯一感染人类的病毒。

细小病毒为无包膜、二十面体的小颗粒, 直径为 20 ~ 26 nm, 基因组是线性单链 DNA, 其复制完全依赖于宿主细胞。HBoV 的基因全长约为 5.2 kb, 基因组含有 4 个功能蛋白: NS1 (非结构蛋白), VP1 和 VP2 (均为衣壳蛋白), NP1 (核蛋白)。细小病毒 5' 端的独特区域 (unique region of VP1, VP1-U) 具有磷脂酶 A2 样活性, 这种活性与病毒的感染性有关。

2 HBoV 的流行病学

HBoV 呈全球性分布, 世界各地相继报道从婴

幼儿的鼻咽分泌物、血清及粪便和尿液中检测到 HBoV^[1-15]。急性呼吸道感染患者 (主要是儿童) 的呼吸道分泌物中, HBoV DNA 的阳性率为 3.1% ~ 17.1%^[1-6]。急性胃肠炎患儿的粪便或直肠拭子中, HBoV DNA 的阳性率除 Vicente 等^[8] 的研究结果为 9.1% 外, 其余为 0.5% ~ 4.6%^[9-14]。阳性检出率的不同可能与群体抽样误差、标本处理技术的差异和检测方法的敏感性差异等有关。在感染的婴幼儿中, 鼻咽分泌物和粪便中 HBoV DNA 分别为 $< 5.0 \times 10^2 \sim 5.6 \times 10^{10}$ 拷贝数/mL 和 $< 10^3 \sim 5.9 \times 10^5$ 拷贝数/mL^[3, 13], 血清标本中 HBoV DNA 可达 1.2×10^6 拷贝数/mL^[7]。

HBoV DNA 阳性的患者以儿童为主, 年龄 < 2 岁为感染高峰。Allander 等^[1] 检测阳性者均为儿童, 且小于 2 岁, 西班牙 García-García 等^[5] 报道 50% 的 HBoV DNA 阳性患儿年龄小于 13.6 个月, 75% 的 DNA 阳性患儿年龄小于 2 岁。同时研究还发现, 6 个月以下的婴儿 HBoV 感染率比较低^[3-4], 提示母源性抗体可能起到了保护作用。

Endo 等^[16] 首先报道了 HBoV 血清抗体的研究, ≥ 2 岁的呼吸道感染患儿血清中 HBoV 衣壳蛋白 VP1 IgG 抗体 100% 阳性。Kantola 等^[17] 运用免疫印迹技术检测呼吸道感染患儿 (年龄平均 2.1 岁) 的 HBoV 特异性抗体, 在鼻咽分泌物 HBoV DNA 阳性者中, 病毒衣壳蛋白 VP2 IgG 和 IgM 抗体阳性率分别为 73% 和 49%; HBoV DNA 阴性者中, IgG 和 IgM 抗体的阳性率分别为 35% 和 13%。

HBoV 四季均可检测到, 有研究显示冬季检出率高, 如瑞典 Allander 等^[1] 报道 76% 的感染发生在 12 月至次年 2 月, 法国 Brieu 等^[2] 的研究结果为 80% 的感染发生在 11 月至次年 3 月; 也有研究显示春夏季多见, Ma 等^[4] 报道在日本 73% 的感染发生

在4、5和7月。目前大多数HBoV的研究标本来源于临床实验室,而这些标本的采集往往是在呼吸道病毒(如呼吸道合胞病毒、流感病毒和副流感病毒等)流行的季节,且没有考虑无症状患者的携带状态,这些因素可能影响到HBoV的检出^[18]。

HBoV的遗传变异率很低,种系研究表明,HBoV并联有两种轻微区别的遗传谱系。Allander等^[1]将HBoV分为ST1(5 217 nt)和ST2(5 299 nt)两型,两型之间在序列上仅有26个核苷酸位点不同。这种有限的区别与导致疾病的种类和严重程度上有无关联,与HBoV的流行规律和传播趋势有无关联还有待研究。

3 HBoV与呼吸道疾病

目前HBoV与急性呼吸道感染的研究都是基于对鼻咽分泌物标本进行PCR或荧光定量PCR检测。在法国Brieu等^[2]、西班牙García-García等^[5]和意大利Pierangeli等^[6]的研究中,对呼吸道感染患儿取鼻咽分泌物进行多种常见呼吸道病毒和HBoV PCR的检测,发现HBoV已成为继呼吸道合胞病毒、鼻病毒之后占第三位的呼吸道病毒,且HBoV合并感染率较高,在40%~75%之间,合并感染的病毒主要为呼吸道合胞病毒。文献统计显示,HBoV感染患儿常见的临床疾病有喘息性支气管炎(55.8%),细支气管炎(21.2%),肺炎(15.4%);常见的临床表现有发热且体温 $>38^{\circ}\text{C}$ (72.1%),缺氧(55.8%),咳嗽(54.5%),喘鸣(34.5%),流涕(32.7%)。另外,HBoV感染急性期,鼻咽分泌物中HBoV DNA含量明显高于其恢复期HBoV DNA含量;单纯HBoV感染时,HBoV DNA含量明显高于合并感染其他呼吸道病毒时HBoV DNA含量^[2-3]。Allander^[3]研究分析,当鼻咽分泌物中HBoV DNA含量 $>10^4$ 拷贝/mL,此时病毒含量高低可能与呼吸道症状的严重程度有关;当HBoV DNA含量 $<10^4$ 拷贝/mL,提示病毒低表达,可能与病毒的合并感染和持续性感染有关。

4 HBoV与胃肠炎

Arnold等^[19]首先发现HBoV DNA阳性的呼吸道感染患儿16%存在腹泻症状;2007年Vicente等^[8]首次对527例胃肠炎患儿的粪便进行了HBoV的PCR检测,发现9.1%呈阳性;Neske等^[20]发现45%(14/31)的痰液HBoV DNA阳性呼吸道感染患儿,其粪便标本HBoV DNA也为阳性,同时还在1份血液标本中发现HBoV DNA。这些说明HBoV不仅存在于呼吸系统,还存在于其他系统,并可能引起病毒血症。对急性胃肠炎的住院和门诊患儿粪便进

行HBoV的检测结果显示:HBoV在急性胃肠炎患儿粪便中的阳性检出率为0.5%~4.6%^[9-13]。日本Nakanishi等^[9]、韩国Lee等^[10]还同时检测了粪便中其他常见的肠道病毒,阳性检出率均高于HBoV。因此HBoV在急性胃肠炎病原体中只占很少比例,不支持HBoV是胃肠炎的致病病原体^[9-10,13-14]。在设立了健康对照组的研究中,中国Cheng等^[13]在对照组的粪便中检测到HBoV,阳性检出率和病毒载量与病人组比较差异无统计学意义,也不支持HBoV感染与更严重的临床症状有关;而泰国Chieochansin等^[11]没有在健康对照组中检测到HBoV,两者的结果有差异。考虑到腹泻症状可能只是与系统感染相关联的临床症状之一,在粪便中检测到HBoV也许能证明在HBoV感染期间通过粪便排毒,并不能证明HBoV是胃肠炎的病原体,因此HBoV在胃肠疾病中的发病机制还不清楚,有待进一步研究。最新研究中匈牙利Szomor等^[12]和澳大利亚Arthur等^[14]均在胃肠炎患儿粪便中检测到HBoV 2型,其与HBoV在核苷酸水平有23%的差异,另外澳大利亚Arthur等^[14]还检测到HBoV 3型。

5 HBoV与免疫抑制

HBoV在儿童中,特别是 <2 岁的婴幼儿有着高感染率和合并感染,但是HBoV在成人中很少检测到^[21]。HBoV在免疫抑制者中的感染率也是未知数,Kupfer等^[22]报道1例严重的肺炎患者,HBoV是唯一检测到的病原体。尽管在这类病人中常常有无法解释的肺部疾病,但还不能证明HBoV导致了这样的症状。Manning等^[23]对人类免疫缺陷病毒感染患者死后的血液、大脑或淋巴组织进行检测,并未发现HBoV,遗憾的是他未对呼吸器官组织进行HBoV的检测。

6 HBoV感染的诊断

诊断HBoV感染主要依赖普通PCR法或荧光定量PCR法扩增检测呼吸道分泌物、血清、粪便或尿液中HBoV的NP1、NS1、VP1或VP2片段。也有报道在血清中检测HBoV衣壳蛋白VP1和/或VP2的特异性抗体,方法有免疫荧光法^[16]、免疫印迹法^[17]及ELISA^[24-25]。目前在HBoV和B19V之间还没有出现特异性体液免疫和细胞免疫的交叉反应。

HBoV在细胞学水平的研究很少,2008年林峰等^[26]研究显示HBoV对支气管上皮细胞极为敏感,HBoV可在细胞核内增殖,产生明显的局灶性细胞病变;支气管上皮细胞可用于分离HBoV。2009年Dijkman等^[27]报道了HBoV可在分化的人气道上皮细胞增殖,实现了体外培养。

7 小结

虽然对 HBoV 的研究目前才刚刚起步,但是作为第二种对人类致病的细小病毒属,有关 HBoV 的流行病学和临床方面的研究正在世界各地进行。目前的研究结果提示,HBoV 可能与婴幼儿的呼吸道感染有关,与胃肠道感染也有关联;同时 HBoV 还常常与其他病毒合并感染,因此要证明 HBoV 作为致病因子在人类疾病中的作用还需要更多的前瞻性研究;不同的研究中诊断 HBoV 感染所用的方法不同,标准不一,需要建立标准化的 HBoV DNA 检测方法和血清抗体检测方法。

[参 考 文 献]

[1] Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2005, 102(36):12891-12896.

[2] Brieu N, Guyon G, Rodière M, Segondy M, Foulongne V. Human bocavirus infection in children with respiratory tract disease [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2008, 27(11):969-973.

[3] Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children [J]. *Clin Infect Dis*, 2007, 44(7):904-910.

[4] Ma X, Endo R, Ishiguro N, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T, et al. Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infection [J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(3):1132-1134.

[5] García-García ML, Calvo Rey C, Pozo Sánchez F, Vázquez Alvarez MC, González Vergaz A, Pérez-Breña P, et al. Human bocavirus infections in Spanish 0-14 year-old: clinical and epidemiological characteristics of an emerging respiratory virus [J]. *An Pediatr (Barc)*, 2007, 67(3):212-219.

[6] Pierangeli A, Scagnolari C, Trombetti S, Grossi R, Battaglia M, Moretti C, et al. Human bocavirus infection in hospitalized children in Italy [J]. *Influenza Other Respi Viruses*, 2008, 2(5):175-179.

[7] Lindner J, Karalar L, Zehentmeier S, Plentz A, Pfister H, Struff W, et al. Humoral immune responses against human bocavirus VP2 virus-like particles [J]. *Viral Immunol*, 2008, 21(4):443-449.

[8] Vicente D, Cilla G, Montes M, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(4):636-637.

[9] Nakanishi K, Tsugawa T, Honma S, Nakata S, Tatsumi M, Yoto Y, et al. Detection of enteric viruses in rectal swabs from children with acute gastroenteritis attending the pediatric outpatient clinics in Sapporo, Japan [J]. *J Clin Virol*, 2009, 46(1):94-97.

[10] Lee JI, Chung JY, Han TH, Song MO, Hwang ES. Detection of human bocavirus in children hospitalized because of acute gastroenteritis [J]. *J Infect Dis*, 2007, 196(7):994-997.

[11] Chieochansin T, Thongmee C, Vimolket L, Theamboonlers A, Poororawan Y. Human bocavirus infection in children with acute

gastroenteritis and healthy controls [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2008, 61(6):479-481.

[12] Szomor KN, Kapusinszky B, Rigó Z, Kis Z, Rózsa M, Farkas A, et al. Detection of human bocavirus from fecal samples of Hungarian children with acute gastroenteritis [J]. *Intervirology*, 2009, 52(1):17-21.

[13] Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Xu ZQ, Qi HM, Zhang Q, et al. Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study [J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(2):161-167.

[14] Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, Givney RC, Ratcliff RM. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(4):e1000391.

[15] Pozo F, Garcia-Garcia ML, Calvo C, Cuesta I, Perez-Brena P, Casas I. High incidence of human bocavirus infection in children in Spain [J]. *J Clin Virol*, 2007, 40(3):224-228.

[16] Endo R, Ishiguro N, Kikuta H, Teramoto S, Shirkoohi R, Ma X, et al. Seroepidemiology of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(10):3218-3223.

[17] Kantola K, Hedman L, Allander T, Jartti T, Lehtinen P, Ruuskanen O, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection [J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(4):540-546.

[18] Tobias Allander. Human bocavirus [J]. *Clin Virol*, 2008, 41(1):29-33.

[19] Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(3):283-288.

[20] Neske F, Blessing K, Tollmann F, Schubert J, Rethwilm A, Kreth HW, et al. Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(7):2116-2122.

[21] Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M, Peret T, Fischer J, Dowell SF, et al. Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand [J]. *J Infect Dis*, 2007, 195(7):1038-1045.

[22] Kupfer B, Vehreschild J, Cornely O, Kaiser R, Plum G, Viazov S, et al. Severe pneumonia and human bocavirus in adult [J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(10):1614-1616.

[23] Manning A, Willey SJ, Bell JE, Simmonds P. Comparison of tissue distribution, persistence, and molecular epidemiology of parvovirus B19 and novel human parvoviruses PARV4 and human bocavirus [J]. *J Infect Dis*, 2007, 195(9):1345-1352.

[24] Lin F, Guan W, Cheng F, Yang N, Pintel D, Qiu J. ELISAs using human bocavirus VP2 virus-like particles for detection of antibodies against HBoV [J]. *J Virol Methods*, 2008, 149(1):110-117.

[25] Kahn JS, Kesebir D, Cotmore SF, D'Abramo Jr A, Cosby C, Weibel C, et al. Seroepidemiology of human bocavirus defined using recombinant virus-like particles [J]. *J Infect Dis*, 2008, 198(1):41-50.

[26] 林峰,侯建毅,郑敏巧,吴峰,曾爱平,李桦,等.人博卡病毒感染支气管上皮细胞生物学特征的研究[J].中华实验和临床病毒学杂志,2008,22(2):107-109.

[27] Dijkman R, Koekkoek SM, Molenkamp R, Schildgen O, van der Hoek L. Human bocavirus can be cultured in differentiated human airway epithelial cells [J]. *J Virol*, 2009, 83(15):7739-7748.

(本文编辑:黄 榕)