

3. ヒト・メタニューモウイルス

菊田 英明

東栄病院, 小児科

ヒト・メタニューモウイルス (human metapneumovirus: hMPV) は, 2001年に発見されたウイルスで, パラミクソウイルス科, ニューモウイルス亜科, メタニューモウイルス属に分類された。hMPVの遺伝子は, 8個の遺伝子を持ち, N-P-M-F-M2-SH-G-Lの遺伝子配列を示す。hMPVのアミノ酸配列は, トリに感染するトリ・ニューモウイルスに最も類似している。ヒトのウイルスの中で遺伝子が一番類似しているウイルスは, 臨床症状も似ているRSウイルスである。hMPVは, 2つのグループ, さらにそれぞれ2つのサブグループに分れる。ウイルス表面には, F, G, SH蛋白が存在する。血清中に存在するhMPVに対する主な抗体は, F蛋白に対する抗体で, 中和活性を持ち, 2つのグループ間に交差反応性がある。ウイルス性の呼吸器感染症の中で小児では5~10%, 成人では2~4%は, hMPVが原因と推測されている。乳幼児で喘鳴をきたす急性呼吸器感染症の原因ウイルスであることが多く, 乳幼児, 高齢者, 免疫不全状態の患者では重症化の危険がある。本邦における流行のピークは, 春である。再感染を防ぐための十分な終生免疫が一回の感染では得られず, 幼小児期においても何度も再感染を受け症状を呈する。診断は, 現在RT-PCRによるhMPV RNAの検出が最も感度が高い検査法である。

はじめに

呼吸器感染症の原因ウイルスとして, RSウイルス (respiratory syncytial virus: RSV), パラインフルエンザウイルス, インフルエンザウイルス, コロナウイルス, ライノウイルス, アデノウイルスなど知られているが, 原因不明とされる呼吸器感染症が数10%存在していた。しかし, 2001年, 呼吸器感染症をおこすウイルスとして, ヒト・メタニューモウイルス (human metapneumovirus: hMPV) が発見された¹⁾。その後, 2003年に重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome: SARS) の病原体としてSARSコロナウイルスが発見され^{2), 3)} さらに, 2004年から現在まで, コロナウイルスNL63, コロナウイルスHKU1, ヒト・ボカウイルスが呼吸器感染症をお

こすウイルスとして次々と発見された⁴⁾⁻⁷⁾。SARSコロナウイルス以外の新たに発見されたウイルスは, 最近新たにヒトに感染したウイルスではなく, 以前からヒトの間で普遍的に存在し, 世界中に存在してきたウイルスであったが, ウイルス分離が困難であったため, 今まで発見されなかったウイルスである。これらウイルスの発見により, 数年前まで, 原因不明とされていた呼吸器感染症の約半分近くが明らかになったと推測され, 今後も新たなウイルスの発見が期待される。今回は, 新たに発見された呼吸器感染ウイルスの中からhMPVに関して概説する。

発見

hMPVは, 2001年オランダの研究グループにより, 猿の継代3代目腎臓細胞を使用し, 28人のRSVと同様の症状を呈する小児の呼吸器感染症 (急性上気道炎, 急性細気管支炎, 肺炎など)の鼻咽頭から発見されたウイルスである¹⁾。彼らはウイルスが分離された28人中27人が5歳未満であり, 血清疫学的に5歳以上ではhMPVに対する抗体を保有していたことから, オランダでは大多数が5歳までに初感染を受けると推測した。また, 1958年に収集した血清の抗体を検査し, 全例が陽性という結果から, hMPVは少なくとも43年間はヒトの間で流行してきたウイルスであると報

連絡先

〒007-0841 札幌市東区北41条東16丁目3-14
東栄病院, 小児科
TEL: 011-782-0111
FAX: 011-782-9986
E-mail: hide-ki@touei.or.jp

告した。その後、世界中の急性呼吸器感染症の患者から hMPV が同定されている。

ウイルス学的特徴

1. 分類

hMPV は 13.35kb の一本鎖(-)RNA ウイルスで、大きさは 150 ~ 600 nm、形状は多形性もしくは球形でエンベロープを有し 13 ~ 17 nm の突起構造を持つ。パラミクソウイルス科に属し、赤血球凝集能やノイラミニダーゼ活性を欠くことから、ニューモウイルス亜科に分類され、塩基配列の類似性からメタニューモウイルス属に分類された¹⁾。メタニューモウイルス属にはトリに感染するトリ・ニューモウイルス (avian pneumovirus: APV) があるが、今回発見されたウイルスはヒトに感染する初めてのメタニューモウイルスである。APV には 4 つのタイプ (A, B, C, D) が存在するが、hMPV のアミノ酸配列は、そのうちのタイプ C に最も類似している。van den Hoogen らは、hMPV との類似性を N 蛋白で比較した時、麻疹などのパラミクソウイルス亜科のウイルスでは類似性が 10 % 前後であるのに対し、APV タイプ C とは 88 %、RSV の A 型とは 41 % と高い類似性があるが、SH 蛋白 (small hydrophobic protein) や G 蛋白の類似性は APV タイプ C とともに低いと報告した¹⁾。現在までに発見されているウイルスの中で遺伝子が一番類似しているヒトのウイルスは、臨床症状も似ている RSV である。

2. 遺伝子構造

RSV の遺伝子は、3'側から NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L の配列を示す。一方、hMPV の遺伝子は RSV に存在する 2 個の抗インターフェロン活性のある非構造蛋白を欠き、APV と同様に 8 個の遺伝子を持ち、N-P-M-F-M2-SH-G-L の遺伝子配列を示す^{1), 8)-10)}。ウイルス表面には、F, G, SH の 3 個の糖蛋白が存在する。F 蛋白はタイプ 1, G 蛋白はタイプ 2 の膜蛋白である。RSV では F 蛋白は融合蛋白で細胞膜が融合し合胞体の形成に、G 蛋白はレセプターとの吸着に関連する。hMPV は G 蛋白が存在しなくとも、感染が成立することから G 蛋白を介さない感染経路の存在が推測される¹¹⁾。RSV と hMPV の F 蛋白にはアミノ酸として 33% 相同性があるが、抗原性として交差反応性はなく、中和に関連するエピトープが存在する^{12), 13)}。また、F 蛋白は、他のパラミクソウイルスの F 蛋白と同様に前駆体 F0 が F1 と F2 に開裂を起こすことが必要と推測され、hMPV の多くは、培養時に開裂を起こすためにトリプシンを添加する必要である。F 蛋白の 101 番目のアミノ酸がセリンからプロリンに変化することにより、培養時にトリプシンが存在しなくとも増殖が可能となる¹⁴⁾。また、培養時におけるトリプシン依存性の有無の差により、動物実験における毒性に差は見られなかったという報告がある¹⁵⁾。SH 蛋白は RSV より大きい、その機能は不明である。ウイルスの

中央にはウイルス RNA とコンプレックスを形成する N, P, L 蛋白が存在し、N 蛋白は核蛋白でウイルス RNA とヌクレオカプシドを形成する。P 蛋白と L 蛋白それぞれ phosphoprotein と large polymerase protein のことで、転写酵素活性を持つと推測される。エンベロープとヌクレオカプシドの間には matrix protein である M 蛋白と M2 蛋白が存在する。M2 には M2-1 と M2-2 の ORF が存在する。M2-2 遺伝子は、ウイルス遺伝子の転写からウイルス増殖への RNA polymerase のスイッチを制御していると考えられ、M2-2 遺伝子の欠損した hMPV がワクチンの 1 つの候補にあがっている¹⁶⁾。

遺伝子の系統樹解析から、RSV と同様に大きく 2 つのグループ (グループ A, B) に分れる。さらに、それぞれのグループが 2 つのサブグループ (1, 2) に分れ、結局 4 つのサブグループに分れる (A1, A2, B1, B2)。塩基配列から予想される N, P, M, F, M2 蛋白のアミノ酸の配列は 2 つのグループ内でよく保存されている。SH, G 蛋白のアミノ酸配列はグループ内では大きな差異が存在するが、サブグループ内では差異は少ない^{1), 8), 9), 17)-20)}。G 蛋白のアミノ酸配列の差異がウイルス表面に出ている部位に集中していることを考えると、その変異は生体内で免疫学的選択を受けた結果、獲得されたものと推定される。

動物モデルからみた病態

hMPV は、鳥類には感染しないが、霊長類では、チンパンジー、サル、小動物ではラット、ハムスター、シロイタチ、マウス、マウス、ギニアピッグなどに感染する。

1. 感染経路

動物への感染は hMPV の経鼻接種で成立していることから、ヒトへの感染は飛沫感染、手指を介した接触感染により、鼻粘膜への感染により成立すると推測される。

2. 感染細胞

動物で hMPV に感染している細胞は、主に上気道、下気道の睫毛上皮細胞であり、稀にタイプ 1 型肺胞細胞、マクロファージである²¹⁾。ヒトでは、患者の鼻咽頭スワブの上皮細胞と思われる細胞に hMPV 抗原を検出できることから、感染細胞は上気道、下気道の上皮細胞と推測される。また、肺炎を起こした患者の II 型肺胞細胞に hMPV が感染していることが報告されている²²⁾。動物実験からも、ウイルス増殖は呼吸器に限られ、hMPV はウイルス血症を起こさないと考えられるが、hMPV による上気道炎の後、脳炎/脳症を引き起こし、剖検で肺と脳組織から hMPV RNA が証明された 1 歳の幼児が報告され、その後 2 例の同様な報告がある²³⁾。今後、原因不明の脳炎/脳症の原因の 1 つに hMPV も考慮しなければならない。

3. ウイルス増殖

動物への感染実験によると、hMPVの経気道感染により、2～4日後から上気道、下気道でのウイルス増殖が始まり、10～14日間持続し、ピークは4～7日であると報告されている²⁴⁾⁻²⁶⁾。動物実験の結果は、hMPV感染症の患者における4～6日の潜伏期間、7～14日間のウイルス排泄期間と一致している²⁷⁾。

4. 病理

動物では、鼻腔、気管、細気管支の睫毛上皮細胞の糜爛、破壊、細胞構築の乱れ、細胞間の浮腫、気道の周辺に好中球の細胞浸潤、細気管支腔や肺胞内へのマクロファージの浸潤、血管周囲へのリンパ球の浸潤などが認められる^{21), 26), 28)}。ヒトでは、鼻腔、気管、細気管支の睫毛上皮細胞の糜爛、破壊、細胞構築の乱れ、細胞間の浮腫、気道の周辺に好中球の細胞浸潤、肺胞内への細胞浸潤など認められる。ヒトにおける肺炎では、アデノウイルスで見られる smudge cells に類似したクロマチン増加した不鮮明な核を持つ大きなII型肺胞細胞、ヒアリン・メンブラン形成が見られることがあるが、多核細胞は見られない²²⁾。

5. 気道過敏性

動物へのhMPV感染では1～2日後に気道閉塞が起き、感染4日後にメタコリンに対して気道過敏性が生じることは、hMPV感染症での喘鳴の発症、気管支喘息の増悪などを示唆する所見である^{28), 29)}。

6. 免疫応答

BALB/Cマウスでは、60日間、感染性hMPVが肺に存在し、180日以上、肺からReverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)でhMPV RNA検出されたという報告があるが、ヒトでは潜伏感染を起こさないウイルスと考えられた³⁰⁾。しかし、最近、呼吸器感染症の症状を示さない幹細胞移植21例の患者中、16例の鼻咽頭液からhMPVが26～94日の長期間にわたりhMPVが検出されたという報告がある³¹⁾。これらの患者は、呼吸器感染症の症状を示さないが、持続感染を示していると考えられ、興味深い。乳幼児、高齢者、白血病、移植(骨髄、臓器)患者などの免疫不全状態の患者では、重症の下気道感染症となる危険がある³³⁾⁻³⁶⁾。

1) 中和抗体

動物へのhMPV感染では、7～14日後から抗体が検出され始め、14～28日後に抗体はピークとなる²⁴⁾⁻²⁶⁾。これは、ヒトのhMPV初感染の患者において7～14日後に抗体が陽転化することに一致している²⁷⁾。動物実験から、中和活性を持つ抗体はウイルス表面に存在するF、G、SH蛋白の中で主にF蛋白に対する抗体であることが報告されて

いる^{24), 30), 37)}。また、F蛋白に対する単クローン抗体で中和活性を持つものがあり、F蛋白に対する抗体が液性免疫で重要な役割を果たしていると推測される^{12), 13)}。

2) hMPV 特異的細胞傷害性 T 細胞

NK細胞、T細胞を欠損させたマウスでは、ウイルスの排泄期間が長く、T細胞、NK細胞はhMPVの増殖抑制に関与しているという報告がある²⁵⁾。マウスへのhMPV感染では、hMPVに対するhMPV特異的細胞傷害性T細胞(CTL)は、RSV、インフルエンザウイルスより28日と遅く誘導され、N、M2-2、SH、G蛋白はCTLのエピトープとなることが報告されている³⁸⁾。

3) その他

マウスへの感染実験で、肺、肺胞洗浄液(BAL)中のIL-4、IFN- γ が上昇するという報告²⁸⁾、hMPVはRSVよりBAL中にIFN- α を強く誘導するという報告^{39), 40)}、BALの細胞内サイトカインは感染3～10日にはTh1タイプのサイトカインを優位に誘導し、感染7～28日にはIL-10を中心としたTh2タイプのサイトカインの誘導があるという報告がある³⁰⁾。一方、ヒトではhMPV感染症患者の鼻汁中のサイトカインは、IL-8は高いが、RANTESは低いという報告⁴¹⁾、鼻汁中の炎症性サイトカイン(IL-12、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-8、IL-10)は、RSV、インフルエンザウイルス感染症と比較して少ないという報告がある⁴²⁾。hMPVは、ヒト樹状細胞からIFN- α を誘導するという報告⁴³⁾、hMPVは成人末梢単核球からRSVよりIL-6を強く誘導するが、IFN- γ 、IL-10、CCL5の誘導は弱いという報告がある⁴⁴⁾。

臨床像

1. 気道感染

hMPVは、乳幼児の呼吸器感染症として知られており、小児のウイルスによる呼吸器感染症の5～10%がhMPVによるものと考えられる。多くは、1週間程度で臨床症状は改善する。しかし、一度の感染では、再感染を防ぐために十分な終生免疫が得られず、乳幼児期においても再感染を頻繁に起こすと推測される。感染の回数がふえるにつれ、次第に軽微化していくと考えられるが、成人においてもウイルスによる呼吸器感染症の2～4%が、hMPVが原因と報告されている。年長児、健康成人は上気道感染症であると推測されるが、乳幼児や高齢者は重症な下気道呼吸器感染症(細気管支炎、喘息様気管支炎、肺炎など)となる⁴⁵⁾⁻⁵⁰⁾。気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患の患者の急性増悪にhMPVが関与するという報告もある^{51), 52)}。2つのグループ間で、臨床症状の重症度に差を認めないという報告が多い。今後、RSVと同様に、乳幼児だけでなく成人の急性呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な位置を占めるものと推測され、特に、院内感染、老人施設での集団感染にも注意が必要で

ある³⁶⁾。

本邦において、1年間に収集した呼吸器感染症の小児の鼻咽頭スワブ426検体でのhMPVの検出率は8.8%であり、hMPVが検出された呼吸器感染症の児は1～2歳が最も多く、平均年齢は2歳6ヶ月であった²⁷⁾。hMPVを検出した61例の患児の臨床診断は、喘鳴を伴う気管支炎いわゆる喘息様気管支炎が38%と一番多く、その他、上気道炎、気管支炎、肺炎であった。臨床症状は、発熱、咳嗽、鼻汁がいずれも90%以上の患児でみられ、その他、呼吸困難、嘔吐、下痢、頭痛がみられた。合併症として、急性中耳炎、熱性痙攣、急性胃腸炎などがある。

2. 流行時期

hMPVの流行時期は、本邦においては3～6月の限られた時期である。ただし、夏にも検出される症例もあり通年性に存在する可能性がある。同年の流行時に日本の札幌と広島という異なった地区で、複数のサブグループのhMPV株が同時に流行していた²⁷⁾。また、ある地区における優位な流行株が数年毎により異なるという報告がある^{53),54)}。血清中に一番多く存在する抗体は、中和活性を持つF蛋白に対する抗体であるが、この抗体は2つのグループ間に交差反応性がある。そのため、優位な流行株が数年毎により異なるためには、グループ別に異なった免疫が存在する必要があるが、現在これを説明できる報告はない。グループ間のG蛋白の多様性により再感染を起こす可能性が推測されるが、G蛋白に対する抗体には中和活性は少なく、今後の研究が待たれる。

3. RSVとの比較、関連

RSV感染症は1歳以下に多い(特に6ヶ月前はRSVが多い)のに対し、hMPV感染症は1～2歳に多く、RSVより少し遅れて初感染を受ける⁵⁵⁾。hMPVの流行のピークは、RSVの流行のピーク後にくることが多い。個々の症例においてhMPV感染症とRSV感染症を臨床的に鑑別できないが、hMPV感染症はRSV感染症より、高熱で発熱期間が長いことが特徴と考えられる²⁷⁾。入院患者における重症度は、ほぼ同等と考えられる。しかし、hMPV感染症とRSV感染症と臨床症状は類似しているが、hMPVとRSVに対する免疫応答が異なることが示唆されている^{56),57)}。hMPVとRSVが重感染を起こすと、重症化すると報告が多いが、RSV感染症の重症化にhMPVの重感染は影響を及ぼさないという報告もあり、今後の検討が必要と考えられる^{58),59)}。

血清学的疫学

1. 抗体検査法

hMPVの血清学的診断は感染細胞を使用した蛍光抗体間接法、F、Nのレコンビナント蛋白を用いた蛍光抗体法と

酵素免疫法、中和反応などが報告されている。

1) hMPV感染LLC-MK2細胞を用いた蛍光抗体間接法

hMPV感染LLC-MK2細胞を抗原とし蛍光抗体法で抗体価を測定している。1つグループのhMPVを感染させた細胞を抗原として使用した時と、他のグループのhMPVを感染させた細胞を抗原として使用した時とで抗体価に差はみられていない。このことは血清中に存在する主な抗体は、グループ間で交叉反応性があることを示している。また、RSVとの交叉反応性はない。

2) レコンビナント蛋白を用いた蛍光抗体間接法

F、Gなどの遺伝子を組み込んだバキュロウイルスをTn5細胞に感染させ各蛋白を発現させ、この細胞を使用し蛍光抗体間接法によりヒト血清中の各蛋白に対する抗体価を測定した。その結果、血清中に一番多く存在する主な抗体は、F蛋白に対する抗体であった^{60),61)}。このバキュロウイルスを用いた方法は、従来のhMPV感染LLC-MK2細胞を用いた蛍光抗体間接法と比較し、短時間で感染細胞を準備することができ、感度が高く、三菱化学BCLで検査が可能である。

2. 血清疫学

1) 血清抗体保有率

本邦では、IgG抗体陽性率は6ヶ月未満では67%、移行抗体が消失する6ヶ月～1歳未満では17%と最も低く、その後は1～2歳で48%、2～5歳で77%、5～10歳で93%と年齢に従い上昇し、10歳以上では全例陽性であった。このことは、本邦では6ヶ月頃から感染が始まり、遅くとも10歳までに一度は全員が感染すると推測される⁶²⁾。母親からの移行抗体が消失する頃から感染が始まっているように見えるが、実際に移行抗体が感染防御に働いているか否かは明らかではない。ヒトは幼小児期にhMPVの初感染を受けるが、その後、獲得免疫が十分ではなく、再感染を防ぐに十分な免疫が一回の感染では得られなく何度も再感染を受けると推測される⁶³⁾。

2) hMPV感染症患者の抗体反応

RT-PCRでhMPVが検出された呼吸器感染症の血清26例中、約半数は急性期に既にIgG抗体が存在し再感染、残り半分は急性期に陰性であるが、回復期に陽性となり初感染と推測された²⁷⁾。このことは、乳幼児期においても再感染を頻繁に起こしていることを示している。IgM抗体は初感染、再感染いずれでも検出されることがあり、初感染、再感染の鑑別には使用できない。初感染、再感染の鑑別には血清学的診断が必要である。

ウイルス検出法

1. 抗原検出

抗原検出は、鼻咽頭スワブの細胞を、単クローン抗体を使用し蛍光抗体間接法で行うことが可能である。陽性例では、上皮細胞と思われる細胞に hMPV 抗原が検出され、鼻咽頭粘膜の上皮細胞でウイルスが増殖していると推測される⁶⁴⁾。特異性は高いが、感度は低く、技術、蛍光顕微鏡が必要であり、一般臨床の場でのウイルス検出法としては適していない。現在、hMPV 感染症を迅速に診断できる酵素抗体法や免疫クロマト法などの検査法はなく、一般臨床の場で使用可能な迅速診断キットの開発が必要と考えられる。

2. hMPV RNA 検出および遺伝子解析

hMPV の検出が最も鋭敏な検査法は、鼻咽頭スワブから RNA を取り cDNA を合成し、N, L 遺伝子などの良く保存された部位の遺伝子増幅を行う RT-PCR 法で、ウイルス RNA を検出することである。更に PCR 産物の塩基配列を決定し系統樹解析をおこない、グループ、サブグループを決定する。

3. ウイルス分離

研究開始時は、アカゲザルの腎臓からコラゲナーゼ処理により浮遊細胞を採取し、継代3代目の腎臓細胞を使用してウイルス分離を行っていた。その後、LLC-MK2 細胞でもウイルス増殖が良好であることから、現在この細胞株を使用するのが一般的である。ウイルス分離が難しい理由は、細胞変性効果 (CPE) の判断が難しいこと、高力価のウイルス接種では7～10日でCPEが出現するが、鼻咽頭スワブなど検体では2～3週間を要することが稀でないことなどが原因と考えている。

現在、ウイルスの証明にはウイルス抗原の検出、ウイルス分離ではなく、RT-PCR 法による hMPV の検出が最も鋭敏な検査法である²⁷⁾。最近、ヒト気管上皮細胞株 (16HBE140 細胞株) で hMPV の増殖が良好であることが報告され⁶⁵⁾、今後この細胞を使用し分離率が上がることが期待される。

治療

hMPV 感染症は、上気道感染症から下気道感染症まで起こすため、その重症度にあった対症療法が基本となる。ステロイドは動物実験で hMPV 感染に伴う炎症を抑える作用があることが報告されている⁶⁶⁾。抗ウイルス剤であるリバビリンは試験管内、動物実験ではウイルス増殖抑制作用があるが、臨床的に使用された報告はない⁶⁶⁾。RSV 感染症の発症後に免疫グロブリンを投与しても無効であるが、hMPV 感染症に関して、動物実験でウイルス増殖抑制作用があることが示されている³⁰⁾。臨床的に有効性の報告はないが、

中和抗体が含まれているため、hMPV 感染症の重症例には免疫グロブリンを試しても良いと思われる。

ワクチン

現在、hMPV のワクチンとして、パラインフルエンザ3型のワクチンに hMPV の F 遺伝子を付けたワクチン、SH, G, M2-2 などを欠損させた hMPV が、動物実験で感染を減少させると報告されている^{11), 16), 67), 68)}。これらのワクチンにより、中和抗体、CTL が誘導されることも示されている。この結果は、F 蛋白に対する単クローン抗体が2つのグループの hMPV に中和活性を持っていることと一致している^{12), 13)}。

文 献

- 1) van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, Osterhaus ADME.: A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 7: 719-724, 2001.
- 2) Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, Nicholls J, Yee WK, Yan WW, Cheung MT, Cheng VC, Chan KH, Tsang DN, Yung RW, Ng TK, Yuen KY. SARS study group: Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 361: 1319-1325, 2003.
- 3) Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S, Urbani C, Comer JA, Lim W, Rollin PE, Dowell SF, Ling AE, Humphrey CD, Shieh WJ, Guarner J, Paddock CD, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang JY, Cox N, Hughes JM, LeDuc JW, Bellini WJ, Anderson LJ. SARS Working Group: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 348: 1953-1966, 2003.
- 4) van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, Wertheim-van Dillen PM, Kaandorp J, Spaargaren J, Berkhout B.: Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 10: 368-373, 2004.
- 5) Fouchier RA, Hartwig NG, Bestebroer TM, Niemeyer B, de Jong JC, Simon JH, Osterhaus AD.: A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 6212-6216, 2004.
- 6) Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, Wong BH, Poon RW, Cai JJ, Luk WK, Poon LL, Wong SS, Guan Y, Peiris JS, Yuen KY.: Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 79: 884-895, 2005.
- 7) 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. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 12891-12896, 2005.
- 8) van den Hoogen BG, Bestebroer TM, Osterhaus AD,

- Fouchier RA.: Analysis of the genomic sequence of a human metapneumovirus. *Virology* 295: 119-132, 2002.
- 9) Biacchesi S, Skiadopoulos MH, Boivin G, Hanson CT, Murphy BR, Collins PL, Buchholz UJ.: Genetic diversity between human metapneumovirus subgroups. *Virology* 315: 1-9, 2003.
 - 10) Bastien N, Normand S, Taylor T, Ward D, Peret TC, Boivin G, Anderson LJ, Li Y.: Sequence analysis of the N, P, M and F genes of Canadian human metapneumovirus strains. *Virus Res* 93: 51-62, 2003.
 - 11) Biacchesi S, Skiadopoulos MH, Yang L, Lamirande EW, Tran KC, Murphy BR, Collins PL, Buchholz UJ.: Recombinant human metapneumovirus lacking the small hydrophobic SH and/or attachment G glycoprotein: Deletion of G yields a promising vaccine candidate. *J Virol* 78: 12877-12887, 2004.
 - 12) Ma X, Endo R, Ebihara T, Ishiguro N, Ishiko H, Kikuta H.: Production and characterization of neutralizing monoclonal antibodies against human metapneumovirus F protein. *Hybridoma* 24: 201-205, 2005.
 - 13) Ulbrandt ND, Ji H, Patel NK, Riggs JM, Brewah YA, Ready S, Donacki NE, Folliot K, Barnes AS, Senthil K, Wilson S, Chen M, Clarke L, MacPhail M, Li J, Woods RM, Coelingh K, Reed JL, McCarthy MP, Pfarr DS, Osterhaus ADME, Fouchier RAM, Kiener PA, Suzich JA.: Isolation and characterization of monoclonal antibodies which neutralize human metapneumovirus in vitro and in vivo. *J Virol* 80: 7799-7806, 2006.
 - 14) Schickli JH, Kaur J, Ulbrandt N, Spaete RR, Tang RS.: An S101P substitution in the putative cleavage motif of the human metapneumovirus fusion protein is a major determinant for trypsin-independent growth in Vero cells and does not alter tissue tropism in hamsters. *J Virol* 79: 10678-10689, 2005.
 - 15) Biacchesi S, Pham QN, Skiadopoulos MH, Murphy BR, Collins PL, Buchholz UJ.: modification of the trypsin-dependent cleavage activation site of the human metapneumovirus fusion protein to be trypsin independent does not increase replication or spread in rodents or nonhuman primates. *J Virol* 80: 5798-5806, 2006.
 - 16) Buchholz UJ, Biacchesi S, Pham QN, Tran KC, Yang L, Luongo CL, Skiadopoulos MH, Murphy BR, Collins PL.: Deletion of M2 gene open reading frames 1 and 2 of human metapneumovirus: Effects on RNA synthesis, attenuation, and immunogenicity. *J Virol* 79: 6588-6597, 2005.
 - 17) Ishiguro N, Ebihara T, Endo R, Ma X, Kikuta H, Ishiko H, Kobayashi K.: High genetic diversity of the attachment (G) protein of human metapneumovirus. *J Clin Microbiol* 42: 3406-3414, 2004.
 - 18) van den Hoogen BG, Herfst S, Sprong L, Cane PA, Forleo-Neto E, de Swart RL, Osterhaus ADME, Fouchier RAM.: Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerg Infect Dis* 10: 658-666, 2004.
 - 19) Skiadopoulos MH, Biacchesi S, Buchholz UJ, Riggs JM, Surman SR, Amaro-Carambot E, McAuliffe JM, Elkins WR, St Claire M, Collins PL, Murphy BR.: The two major human metapneumovirus genetic lineages are highly related antigenically, and the fusion (F) protein is a major contributor to this antigenic relatedness. *J Virol* 78: 6927-6937, 2004.
 - 20) Peret TC, Abed Y, Anderson LJ, Erdman DD, Boivin G.: Sequence polymorphism of the predicted human metapneumovirus G glycoprotein. *J Gen Virol* 85: 679-686, 2004.
 - 21) Kuiken T, van den Hoogen BG, van Riel DAJ, Laman JD, van Amerongen G, Sprong L, Fouchier RAM, Osterhaus ADME.: Experimental human metapneumovirus infection of *Cynomolgus* Macaques (*Macaca fascicularis*) results in virus replication in ciliated epithelial cells and pneumocytes with associated lesions throughout the respiratory tract. *Am J Pathol* 164: 1893-1900, 2004.
 - 22) Sumino KC, Agapov E, Pierce RA, Trulock EP, Pfeifer JD, Ritter JH, Gaudreault-Keener M, Storch GA, Holtzman MJ.: Detection of severe human metapneumovirus infection by real-time polymerase chain reaction and histopathological assessment. *J Infect Dis* 192: 1052-1060, 2005.
 - 23) Schildgen O, Glatzel T, Geikowski T, Scheibner B, Matz B, Bindl L, Born M, Viazov S, Wilkesmann A, Knöpfle G, Roggendorf M, Simon A.: Human metapneumovirus RNA in encephalitis patient. *Emerg Infect Dis* 11: 467-470, 2005.
 - 24) MacPhail M, Schickli JH, Tang RS, Kaur J, Robinson C, Fouchier RAM, Osterhaus ADME, Spaete RR, Haller AA.: Identification of small-animal and primate models for evaluation of vaccine candidates for human metapneumovirus (hMPV) and implications for hMPV vaccine design. *J Gen Virol* 85: 1655-1663, 2004.
 - 25) Alvarez R, Harrod KS, Shieh WJ, Zaki S, Tripp RA.: Human metapneumovirus persists in BALB/c mice despite the presence of neutralizing antibodies. *J Virol* 78: 14003-14011, 2004.
 - 26) Hamelin M-È, Yim K, Kuhn KH, Cragin RP, Boukhvalova M, Blanco JCG, Prince GA, Boivin G.: Pathogenesis of human metapneumovirus lung infection in BALB/c mice and cotton rats. *J Virol* 79: 8894-8903, 2005.
 - 27) Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Ishiko H, Hara M, Takahashi Y, Kobayashi K.: Human metapneumovirus infection in Japanese children. *J Clin Microbiol* 42: 126-132, 2004.
 - 28) Darniot M, Petrella T, Aho S, Pothier P, Manoha C.: Immune response and alteration of pulmonary function after primary human metapneumovirus (hMPV) infection of BALB/c mice. *Vaccine* 23: 4473-4480, 2005.
 - 29) Hamelin ME, Prince GA, Gomez AM, Kinkead R, Boivin G.: Human metapneumovirus infection induces long-term pulmonary inflammation associated with airway obstruction and hyperresponsiveness in mice. *J Infect Dis* 193: 1634-1642, 2006.
 - 30) Alvarez R, Tripp RA.: The immune response to human metapneumovirus is associated with aberrant immunity and impaired virus clearance in BALB/c mice. *J*

- Virology 79: 5971-5978, 2005.
- 31) Debiaggi M, Canducci F, Sampaolo M, Marinuzzi MC, Parea M, Terulla C, Colombo AA, Alessandrino EP, Bragotti LZ, Arghittu M, Goglio A, Migliavacca R, Romero E, Clementi M.: Persistent symptomless human metapneumovirus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 194: 474-478, 2006.
 - 32) Pelletier G, Déry P, Abed Y, Boivin G.: Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis* 8: 976-978, 2002.
 - 33) Cane PA, van den Hoogen BG, Chakrabarti S, Fegan CD, Osterhaus ADME.: Human metapneumovirus in a haematopoietic stem cell transplant recipient with fatal lower respiratory tract disease. *Bone Marrow Transplant* 31: 309-310, 2003.
 - 34) Ulloa-Gutierrez R, Skippen P, Synnes A, Seear M, Bastien N, Li Y, Forbes JC.: Life-threatening human metapneumovirus pneumonia requiring extracorporeal membrane oxygenation in a preterm infant. *Pediatrics* 114: e517-e519, 2004.
 - 35) Franquet T, Rodriguez S, Martino R, Salinas T, Gimenez A, Hidalgo A.: Human metapneumovirus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients: High-resolution computed tomography findings. *J Comput Assist Tomogr* 29: 223-227, 2005.
 - 36) Honda H, Iwahashi J, Kashiwagi T, Imamura Y, Hamada N, Anraku T, Ueda S, Kanda T, Takahashi T, Morimoto S.: Outbreak of human metapneumovirus infection in elderly inpatients in Japan. *J Am Geriatr Soc* 54: 177-180, 2006.
 - 37) Skiadopoulos MH, Biacchesi S, Buchholz UJ, Amaro-Carambot E, Surman SR, Collins PL, Murphy BR.: Individual contributions of the human metapneumovirus F, G, and SH surface glycoproteins to the induction of neutralizing antibodies and protective immunity. *Virology* 345: 492-501, 2005.
 - 38) Herd KA, Mahalingam S, Mackay IM, Nissen M, Sloots TP, Tindle RW.: Cytotoxic T-lymphocyte epitope vaccination protects against human metapneumovirus infection and disease in mice. *J Virol* 80: 2034-2044, 2006.
 - 39) Guerrero-Plata A, Baron S, Poast JS, Adegboyega PA, Casola A, Garofalo RP.: Activity and regulation of alpha interferon in respiratory syncytial virus and human metapneumovirus experimental infections. *J Virol* 79: 10190-10199, 2005.
 - 40) Guerrero-Plata A, Casola A, Garofalo RP.: Human metapneumovirus induces a profile of lung cytokines distinct from that of respiratory syncytial virus. *J Virol* 79: 14992-14997, 2005.
 - 41) Jartti T, van den Hoogen B, Garofalo RP, Osterhaus AD, Ruuskanen O.: Metapneumovirus and acute wheezing in children. *Lancet* 360: 1393-1394, 2002.
 - 42) Laham FR, Israele V, Casellas JM, Garcia AM, Prugent CML, Hoffman SJ, Hauer D, Thumar B, Name MI, Pascual A, Taratutto N, Ishida MT, Balduzzi M, Maccarone M, Jackli S, Passarino R, Gaivronsky RA, Karron RA, Polack NR, Polack FP.: Differential production of inflammatory cytokines in primary infection with human metapneumovirus and with other common respiratory viruses of infancy. *J Infect Dis* 189: 2047-2056, 2004.
 - 43) Guerrero-Plata A, Casola A, Suarez G, Yu X, Spetch L, Peeples ME, Garofalo RP.: Differential response of dendritic cells to human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34: 320-329, 2006.
 - 44) Douville RN, Bastien N, Li Y, Pochard P, Simons FE, Hayglass KT.: Human metapneumovirus elicits weak IFN- γ memory responses compared with respiratory syncytial virus. *J Immunol* 176: 5848-5855, 2006.
 - 45) Boivin G, Abed Y, Pelletier G, Ruel L, Moisan D, Cote S, Peret TC, Erdman DD, Anderson LJ.: Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis* 186: 1330-1334, 2002.
 - 46) van den Hoogen BG, van Doornum GJJ, Fockens JC, Cornelissen JJ, Beyer WEP, de Groot R, Osterhaus ADME, Fouchier RAM.: Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis* 188: 1571-1577, 2003.
 - 47) van den Hoogen BG, Osterhaus DM, Fouchier RA.: Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 23: S25-S32, 2004.
 - 48) Kahn JS.: Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin Microbiol Rev* 19: 546-557, 2006.
 - 49) Williams JV, Wang CK, Yang CF, Tollefson SJ, House FS, Heck JM, Chu M, Brown JB, Lintao LD, Quinto JD, Chu D, Spaete RR, Edwards KM, Wright PF, Crowe JE Jr.: The role of human metapneumovirus in upper respiratory tract infections in children: A 20-year experience. *J Infect Dis* 193: 387-395, 2006.
 - 50) Falsey AR, Criddle MC, Walsh EE.: Detection of respiratory syncytial virus and human metapneumovirus by reverse transcription polymerase chain reaction in adults with and without respiratory illness. *J Clin Virol* 35: 46-50, 2005.
 - 51) Williams JV, Crowe JE Jr, Enriquez R, Minton P, Peebles RS Jr, Hamilton RG, Higgins S, Griffin M, Hartert TV.: Human metapneumovirus infection plays an etiologic role in acute asthma exacerbations requiring hospitalization in adults. *J Infect Dis* 192: 1149-1153, 2005.
 - 52) Rohde G, Borg I, Arinir U, Kronsbein J, Rausse R, Bauer TT, Bufe A, Schultze-Werninghaus G.: Relevance of human metapneumovirus in exacerbations of COPD. *Respir Res* 6: 150, 2005.
 - 53) Agapov E, Sumino KC, Gaudreault-Keener M, Storch GA, Holtzman MJ.: Genetic variability of human metapneumovirus infection: Evidence of a shift in viral genotype without a change in illness. *J Infect Dis* 193: 396-403, 2006.
 - 54) Huck B, Scharf G, Neumann-Haefelin D, Puppe W,

- Weigl J, Falcone V.: Novel human metapneumovirus sublineage. *Emerg Infect Dis* 12: 147-150, 2006.
- 55) Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Ishiko H, Kobayashi K.: Comparison of seroprevalences of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus. *J Med Virol* 72: 304-306, 2004.
- 56) Bosis S, Esposito S, Niesters HG, Crovari P, Osterhaus AD, Principi N.: Impact of human metapneumovirus in childhood: Comparison with respiratory syncytial virus and influenza viruses. *J Med Virol* 75: 101-104, 2005.
- 57) Mahalingam S, Schwarze J, Zaid A, Nissen M, Sloots T, Tauro S, Storer J, Alvarez R, Tripp RA.: Perspective on the host response to human metapneumovirus infection: What can we learn from respiratory syncytial virus infections? *Microbes Infect* 8: 285-293, 2006.
- 58) Lazar I.: Human metapneumovirus and severity of respiratory syncytial virus disease. *Emerg Infect Dis* 10: 1318-1320, 2004.
- 59) Foulongne V, Guyon G, Rodiere M, Segondy M.: Human metapneumovirus infection in young children hospitalized with respiratory tract disease. *Pediatr Infect Dis J* 25: 354-359, 2006.
- 60) Ishiguro N, Ebihara T, Endo R, Ma X, Shiotsuki R, Ochiai S, Ishiko H, Kikuta H: Immunofluorescence assay for detection of human metapneumovirus-specific antibodies by means of baculovirus-expressed fusion protein. *Clin Diagn Lab Immunol* 12: 202-205, 2004.
- 61) Ishiguro N, Ebihara T, Endo R, Ma X, Kawai E, Ishiko H, Kikuta H.: Detection of antibodies against human metapneumovirus by western blot analysis using recombinant nucleocapsid and matrix proteins. *J Med Virol* 78: 1091-1095, 2006.
- 62) Ebihara T, Endo R, Kikuta H, Ishiguro N, Yoshioka M, Ma X, Kobayashi K.: Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan. *J Med Virol* 70: 281-283, 2003.
- 63) Ebihara T, Endo R, Ishiguro N, Nakayama T, Sawada H, Kikuta H.: Early reinfection with human metapneumovirus in an infant. *J Clin Microbiol* 42: 5944-5946, 2004.
- 64) Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H: Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent antibody test. *J Clin Micro* 43: 1138-1141, 2005.
- 65) Ingram RE, Fenwick F, McGuckin R, Tefari A, Taylor C, Toms GL.: Detection of human metapneumovirus in respiratory secretions by reverse-transcriptase polymerase chain reaction, indirect immunofluorescence, and virus isolation in human bronchial epithelial cells. *J Med Virol* 78: 1223-1231, 2006.
- 66) Hamelin ME, Prince GA, Boivin G.: Effect of ribavirin and glucocorticoid treatment in a mouse model of human metapneumovirus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 774-777, 2006.
- 67) Tang RS, Schickli JH, MacPhail M, Fernandes F, Bicha L, Spaete J, Fouchier RAM, Osterhaus ADME, Spaete R, Haller AA.: Effects of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus antigen insertion in two 3' proximal genome positions of bovine/human parainfluenza virus type 3 on virus replication and immunogenicity. *J Virol* 77: 10819-10828, 2003.
- 68) Tang RS, Mahmood K, Macphail M, Guzzetta JM, Haller AA, Liu H, Kaur J, Lawlor HA, Stillman EA, Schickli JH, Fouchier RA, Osterhaus AD, Spaete RR.: A host-range restricted parainfluenza virus type 3 (PIV3) expressing the human metapneumovirus (hMPV) fusion protein elicits protective immunity in African green monkeys. *Vaccine* 23: 1657-1667, 2005.

Human metapneumovirus

Hideaki KIKUTA

Touei Hospital, Pediatric Clinic
N-41, E-16, Higashi-ku, Sapporo 007-0841

Human metapneumovirus (hMPV), first isolated in the Netherlands in 2001, is a member of the genus *Metapneumovirus* of the sub-family *Pneumovirinae* of the family *Paramyxoviridae*. The genomic organization of hMPV is 3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5'. hMPV resembles the sole member of this genus, avian pneumovirus. hMPV is the most closely related human pathogen to respiratory syncytial virus. Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences indicated that there were two genetic groups. Furthermore, each group could be subdivided into two subgroups. hMPV encodes three surface proteins, F, G and SH proteins. The majority of antibodies to hMPV in serum were antibody against F protein, which mediates cross-group neutralization and protection. The incidences of hMPV-associated respiratory infection estimate 5 to 10% in children and 2 to 4% in adults. hMPV generally causes upper respiratory tract infection and flu-like illness, the virus can be associated with lower tract infections, such as wheezy bronchitis, bronchitis, bronchiolitis and pneumonia, in very young children, elderly persons, and immunocompromised patients. hMPV has a seasonal peak during the spring in Japan. Reinfection with hMPV frequently occurs in children, implying that the host immune response induced by natural infection provides incomplete protection. The RT-PCR test is the most sensitive test for detection of hMPV.

