

4. ボルナウイルス

朝長 啓造

京都大学 ウイルス研究所 ヒトがんウイルス研究分野

モノネガウイルス目に属するボルナウイルス科ボルナウイルス属には、哺乳類に感染するボルナ病ウイルスと鳥類に感染する鳥ボルナウイルスが同定されている。ボルナウイルスは神経系組織に好んで感染することが知られており、自然感染した動物ではさまざまな神経疾患を発症することが明らかとなっている。ボルナ病ウイルスはウマやヒツジの伝染性脳脊髄炎（ボルナ病）の原因であり、中枢神経系への持続感染が特徴である。一方、鳥ボルナウイルスは腺胃拡張症と呼ばれる難治性の消耗性疾患を引き起こす。これまで、ボルナウイルスは遺伝的に良く保存されていると考えられていたが、鳥ボルナウイルスには少なくとも9つの遺伝子型が存在することが報告され、ボルナウイルス属の多様性が明らかになってきている。ボルナウイルスは、細胞核での持続感染や宿主ゲノムへの内在化など、他のRNAウイルスではみられない多くの特徴を有している。本稿では、ボルナウイルスによる疾患に加えて、これまでの研究で明らかとなったユニークなウイルス学的性状について紹介する。

1. はじめに

ボルナウイルスは非分節の一本鎖マイナス鎖のRNAをゲノムにもつモノネガウイルス目(Mononegavirales)に属するウイルスである。現在、ボルナウイルス科(Bornaviridae)ボルナウイルス属(Bornavirus)には、哺乳類に感染するボルナ病ウイルス(Borna disease virus: BDV)と鳥類、主にオウム目に感染する鳥ボルナウイルス(Avian Bornavirus: ABV)が同定されている(表1)。これらボルナウイルス属のウイルスは、神経系組織に好んで感染することが知られており、自然感染した動物ではさまざまな神経疾患を発症する^{1,2)}。

ボルナ病とは、ドイツ南東部を中心に発生が認められていた行動異常や運動失調をともなうウマの流行性脳炎である。病理組織学的な診断は非化膿性脳脊髄炎であり、BDVの感染を原因とするものである。ボルナの名前は、19世

紀末にこの疾患の大流行がみられたザクセン州北西部の町の名に由来している³⁾。ボルナ病がウイルスによる伝染性の疾患であることは、1926年 Wilhelm Zwickらの細菌濾過膜を用いた研究により確認された³⁾。一方、2008年に腺胃拡張症(proventricular dilatation disease: PDD)を発症したオウムよりBDVに類似した塩基配列が同定され、ABVと名づけられた^{4,5)}。その後、ABVがPDDの原因ウイルスであることが証明されるとともに、カナダガンやハクチョウなどの渡り鳥にも感染が確認され^{6,7)}、ABVが世界中に分布していることが明らかとなってきている。現在、ABVには少なくとも9つの遺伝子型が同定されている(表1)。ボルナウイルスは特定の動物種に明らかな病原性を示すことがわかっている。しかしながら、ヒトをはじめとする多くの宿主に対する病原性は不明である^{2,8-10)}。

BDVを中心としたこれまでの研究から、ボルナウイルスは他のRNAウイルスではみられない多くの特徴をもつことが明らかとなってきた。本稿では、ボルナウイルス感染とボルナウイルスのユニークなウイルス学的性状について概説するとともに、最近の研究より明らかとなったボルナウイルスの内在化についても紹介する。

2. ボルナウイルス科の分類と構造

1994年にBDVの全塩基配列が決定され、パラミクスウイルス科、フィロウイルス科、ラブドウイルス科と同じモ

連絡先

〒606-8507

京都府京都市左京区聖護院川原町53

京都大学ウイルス研究所 ヒトがんウイルス研究分野

TEL: 075-751-3997

FAX: 075-751-4000

E-mail: tomonaga@virus.kyoto-u.ac.jp

表1 ボルナウイルス属の分類

分類	遺伝子型	宿主	疾患
ボルナ病ウイルス	BDV	ウマ、ヒツジ、ウシ、ネコ、イヌ、その他哺乳動物	ボルナ病、スタッガリング病 (ネコ)
鳥ボルナウイルス	ABV1	オウム目	腺胃拡張症 毛引き症
	ABV2		
	ABV3		
	ABV4		
	ABV5		
	ABV6		
	ABV7		
	ABV canary	カナリア	
	ABV CG	カナダガン	
爬虫類ボルナウイルス	RBV ^{a)}	ガブーンバイパー (蛇)	?

a) RBV は遺伝子配列のみが確認されている

ノネガウイルス目に属することが判明した^{11, 12)}。ボルナウイルス属に属するウイルスは、ABV 以外にも爬虫類から見つかっている (表1)。筆者らがアフリカ大陸の中部から南部にかけて生息している蛇 (Gaboon Viper) の毒腺由来の cDNA ライブラリーを解析した結果、BDV に類似した遺伝子配列が同定された^{13, 14)}。同定された配列は蛇ゲノムにはコードされておらず、外来性のボルナウイルスに由来するものだと考えられ、爬虫類ボルナウイルス (Reptile bornavirus: RBV) と名づけられた。しかしながら、RBV の分離はなされていない。

ボルナウイルスはエンベロープに被われた直径が 100 から 130 nm の球状粒子である^{15, 16)}。ウイルス粒子内には RNA ゲノムがヌクレオカプシドとして含まれている。ゲノムは約 8.9 kb の非分節型のマイナス鎖一本鎖の RNA である (図1)。ゲノムの両末端には転写と複製に必須なプロモーター配列を含む約 50 から 80 塩基の非翻訳領域が存在している^{15, 16)}。両末端のプロモーター領域は相補性の高い末端反復配列となっており、ゲノム RNA は両末端の相補性によりパンハンドル構造を形成すると考えられている。特徴的なことは、BDV の末端反復配列は不完全な相補性配列をもつことである。感染細胞から分離された BDV のゲノムならびにアンチゲノム RNA はともに 5'末端側が数塩基欠損していることが明らかとなっている。

ゲノム内には、3つの転写開始配列と5つの転写終結配列が確認されている。また、5つのスプライシング関連配列がある。ゲノムには少なくとも6つのタンパク質をコードする open reading frame (ORF) がある (図1)。ゲノムの3'末端よりヌクレオプロテイン (N)、Xタンパク質、リン酸化タンパク質 (P)、マトリックス (M)、糖タンパク質 (G)、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (L) の順に配置されている。BDV は他のモノネガウイルス目のウイルスとは異なり、Nタンパク質以外はすべて polycistronic

mRNA として発現される (図1)。ABV のゲノムの長さならびに構造は BDV と同一である。しかしながら、ABV は遺伝的多様性に富んでおり、系統的に BDV により近い遺伝子型も存在している (図2)。RBV ならびに ABV のいくつかの遺伝子型では、N と X 遺伝子の間にある遺伝子間領域に 21 から 22 塩基の欠損がみられる^{6, 14, 17)}。

3. ボルナウイルスによる疾患

ウマやヒツジでみられる古典的なボルナ病では、数週間から数カ月の潜伏期ののちに微熱や軽度の行動異常が認められ、次第に痙攣、興奮、無動、麻痺などを呈した後、全身麻痺に陥り、約 80% が死亡する³⁾。ボルナ病は、細胞性免疫を介した散在性髄膜脳脊髄炎であり、実質への炎症性細胞の浸潤や広範な神経細胞侵食とグリオーシスも認められる¹⁸⁾。炎症反応は大脳辺縁系に強い傾向にあり、髄膜や脊髄ではわずかである。大型の神経細胞内に特徴的な好塩基性の核内封入体 (ボルナ小体 [ヨースト・デーゲン小体]) が認められる。慢性感染を引き起こした場合には運動器障害や行動異常などの慢性症状を呈すると考えられている。これまでの調査では、原因不明の運動器障害を呈したウマでは BDV の陽性率が高く、脳内での持続感染が認められている^{19, 20)}。

ボルナ病と類似の症状を示す疾患は Kopfkrankheit (head disease) として 18 世紀半ばに出版されたドイツのウマの獣医学書にすでに記載されている。しかしながら、脳脊髄炎をとまう他の疾患との鑑別は行われておらず、ボルナ病の発症がいつからみられていたのかについては不明である。信頼できる発症報告は、1879 年以降にドイツ東部の州ザクセンを中心に広がっていった流行以後と考えるとよい³⁾。ザクセン州の獣医学リポートによると、ボルナ病の発生は大流行の起きた 1890 年代をピークに徐々に減少しており、現在では年間数例の発症にとどまっている^{3, 21)}。

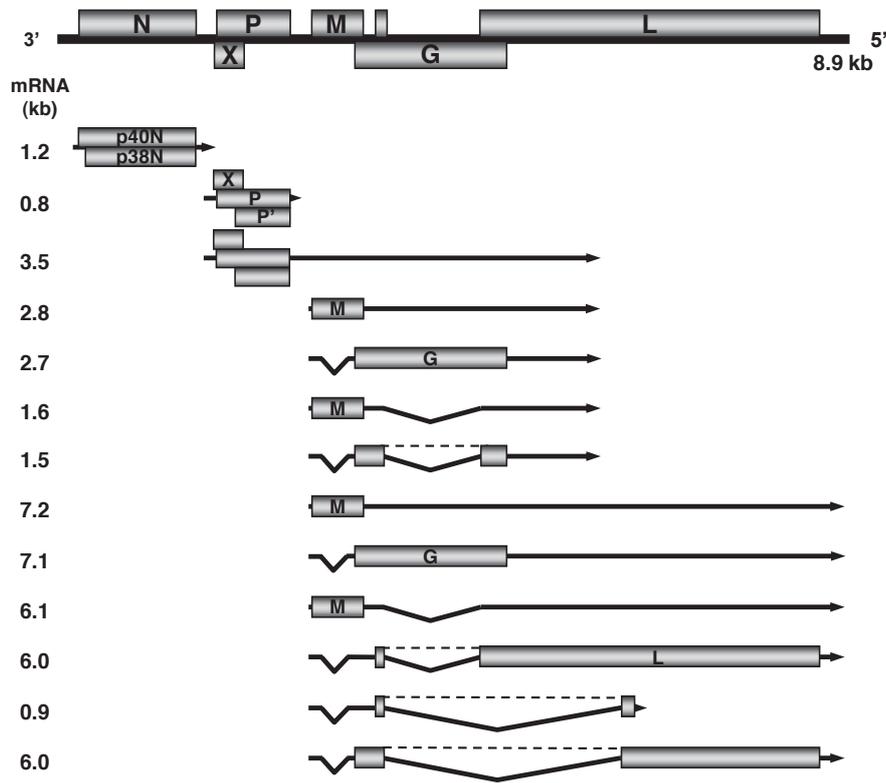


図1 ボルナ病ウイルスのゲノム構造と転写産物

8.9 kbのBDVゲノムには6つのタンパク質(N, X, P, M, G, L)がコードされている。転写産物の polycistronic な発現とスプライシングによる転写制御がBDVの特徴的である。

ボルナ病はドイツ国内やスイスなど、ザクセン州を中心とする流行地以外でも散発的な発症が確認されている。

ザクセン地方で流行したウマの流行性脳脊髄炎は世界的にも非常に有名であり、わが国でも19世紀末までにはボルナ病の存在は知られていた²²⁾。佐賀県と長崎県の両県で1894年(明治27年)から1897年の冬期から初夏にかけて流行したウマの流行性脳脊髄炎は、当時ボルナ病と診断でされている²³⁾。その後、1920年代までは北海道を含む各地で、同様の流行性脳脊髄炎が報告されている。ボルナ病の診断基準となっているヨースト・デーゲン小体が神経細胞に観察された症例もある。当時、他の流行性脳炎との詳細な類似鑑別はなされていない。しかしながら、発症時期が冬期からであり、3月から5月をピークに減少するなど、ドイツで発症したボルナ病と同様の流行状況を示している。また面白いことに、佐賀・長崎の両県で流行がみられた年は、ドイツのザクセン地方での流行年と見事に一致している。わが国におけるこのようなウマのボルナ病類似疾患の報告は、ドイツの流行地と同様に1920年代以降は減少している。近年では、北海道のウマやウシにおいて散発的なボルナ病の発症がみられることが明らかとなっている^{24,25)}。しかしながら、その発生はきわめてまれである。

ウシへの感染はウマやヒツジに比べてまれと考えられる

が、わが国においても感染が認められており、ボルナ病の発生例も報告されている²⁶⁾。また、最近の調査により、慢性感染を呈したウシでは受胎率が顕著に低下しているとの報告がなされている²⁷⁾。ネコでは、スタグリング病とよばれる神経疾患とBDVとの関連性が示されている²⁸⁾。運動失調、行動異常、固有位置感覚の欠陥は多くのネコの症例に共通した症状である。一方、微熱、不全麻痺、知覚過敏、躁病状態などの症状も観察されており、病態は複合的である。BDV感染は、その他の家畜やペット以外にも、ヨーロッパに生息するヤマネコ、アカキツネ、トガリネズミなどの野生動物や、わが国のニホンザルやアライグマにおいても確認されている²⁹⁻³⁵⁾。

ABVは、鳥類、主にオウム目の鳥にPDDを引き起こすことが示されている。PDDは中枢神経系と末梢神経の神経節へのリンパ球浸潤を主張とする致死性の神経疾患である³⁶⁾。消化管組織の平滑筋に関連する神経節がしばしば影響を受け、腺胃や小腸の膨張と運動障害を引き起こす。ABVがPDDの原因であることは実験感染において証明されている³⁷⁾。しかしながら、ABVのすべての遺伝子型がPDDの発症に関連しているのかについては不明な点が多い。見た目健康なカナダガンにもABV感染が確認されている⁶⁾。わが国においても、毛引き症を発症したインコか

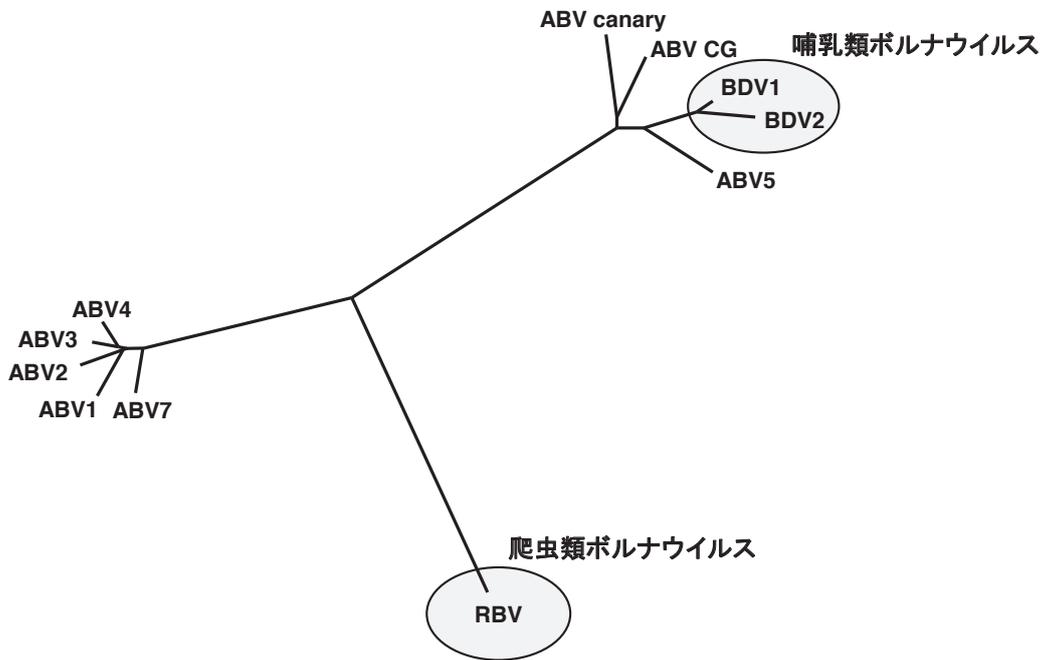


図2 ボルナウイルス属の遺伝子系統樹

ボルナウイルスのX遺伝子の配列を用いて作成した遺伝子系統樹。BDVはABVの遺伝子多様性の中に含まれていることがわかる。

らABV遺伝子が検出されている³⁸⁾。

ヒトにおけるBDV感染症は明らかになっていない。1985年にドイツと米国の研究チームにより、精神疾患患者においてBDVに対する抗体が高い割合で見つかることが報告された³⁹⁾。それ以降、抗BDV抗体やウイルスRNAの検出が世界各国で実施された⁴⁰⁻⁴²⁾。当初は、BDV感染と神経・精神疾患との関連性を支持する報告が相次いだ。しかし、きわめて低い抗体価と抗原親和性により、抗体検出の特異性が問題視されるようになってきた⁴³⁾。また、研究室におけるプラスミドDNAのコンタミネーションから、ウイルスRNA検出の信憑性にも疑問がもたれるようになった^{44, 45)}。ヒトにおけるBDVの陽性率は、論文によりかなりのばらつきが認められるとともに、ヒトからのウイルス分離も数例しか報告されていない^{46, 47)}。これらの理由から、BDVと精神疾患との関連性だけではなく、ヒトへの感染についても議論が続いている。2012年、ドイツと米国の研究チームにより、BDVとヒトの精神疾患との関連性について対照群を含む396名分の血清とリンパ球を用いて大規模な疫学研究の結果を報告した¹⁰⁾。それによると、抗BDV抗体とウイルスRNAともに陽性を示した検体は1例もなく、精神疾患とBDV感染との関連性については否定された。筆者らの結果を含め、これまでに世界各国で行われた研究を総合的に判断すると、割合は低いものの、ヒトにBDVあるいはBDVに類似したウイルスが感染していることは間違いないと考えられる。しかしなが

ら、神経・精神疾患発症への関与についてはきわめて懐疑的にならざるを得ないのが現状である。

4. ボルナウイルスの基本性状と細胞侵入

ボルナウイルスの性状については研究が進んでいるBDVを中心に説明する。BDVは初代神経細胞を含む培養細胞に感染する。感染可能な培養細胞の範囲は広く、神経系以外の細胞株にもよく感染する⁴⁸⁾。また、宿主範囲も広く、ヒトをはじめ多くの哺乳動物由来の細胞で増殖する。一方、ABVの2型と4型は哺乳類由来の細胞では増殖しない¹⁷⁾。ボルナウイルスの特徴は細胞傷害性を示さずに持続感染することにある。BDVが持続感染した細胞は見た目にも非感染の細胞と変わらない⁴⁸⁾。感染細胞からの感染性ウイルス粒子の放出が微量であるのもBDVの特徴である。そのため、BDVの培養細胞におけるウイルス伝播は主として細胞同士の接触によって伝播していると考えられている⁴⁹⁾。ABVのウイルス粒子産生能力については不明である。

ボルナウイルスの感染レセプターは同定されていない。しかしながら、MおよびGタンパク質に対する抗体は、BDVに対して中和活性をもつことから、これら2つのタンパク質が細胞への吸着や侵入に重要であることが予想されている⁵⁰⁾。組換えウイルスを用いた解析により、Gタンパク質のGPI領域が宿主細胞への吸着に関与していることが明らかとなっている(図3)^{51, 52)}。筆者らは、GPI

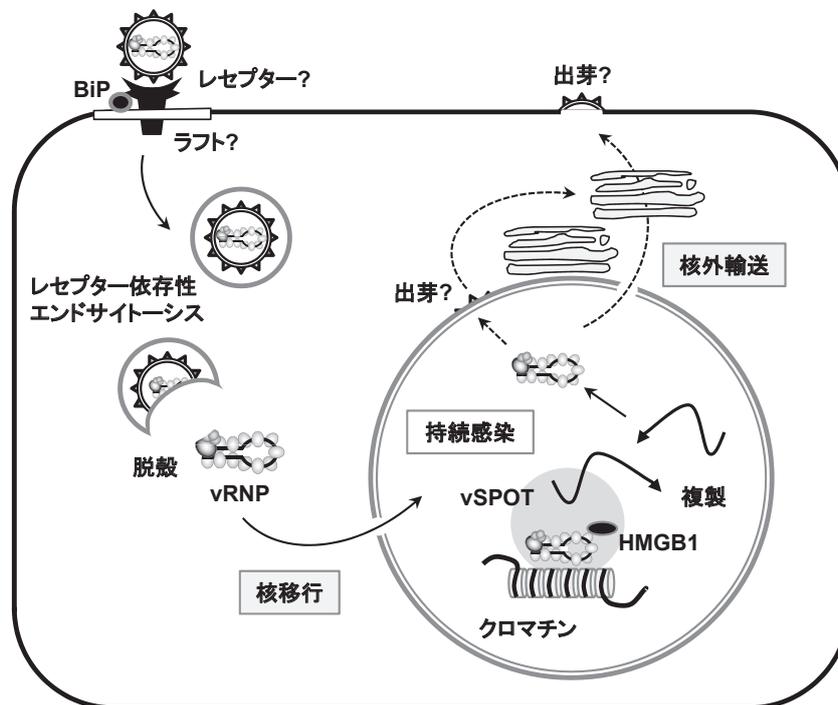


図3 ボルナウイルスの増殖サイクル

感染レセプターならびに子孫粒子の出芽機構に関しては明らかになっていない。

が宿主のシャペロンタンパク質である BiP (78 kDa glucose-regulated protein/GRP78) と細胞表面で結合していることを報告している⁵²⁾。BiP に対する抗体は BDV の感染性を減弱させるとともに、GP1 の細胞表面への吸着現象も低下させることが示されており、BiP が BDV の細胞表面への吸着に役割を果たしていることが示されている。また、ライソゾームに障害性を示す薬剤により BDV の感染が阻害されることから、BDV はレセプターを介して細胞に吸着したのち、エンドサイトーシスにより細胞質内へと侵入すると考えられている (図 3)⁵³⁾。コレステロールの欠乏により感染性が低下することも示され、細胞への侵入には脂質ラフトが重要な働きを果たしていることも示唆されている⁵⁴⁾。

5. BDV の核内複製機

ボルナウイルスは核内でゲノムの転写と複製を行う。そのため、細胞質に放出されたウイルスのリボヌクレオプロテイン (vRNP) は複製部位である細胞核へと移行しなくてはならない。これまでの研究から、vRNP を構成している N, P, L タンパク質がそれぞれに核移行シグナル (NLS) をもち、単独あるいは相互作用して vRNP を効率よく核へと運ぶと考えられている (図 3)⁵⁵⁻⁵⁷⁾。一方、N タンパク質にはロイシンとイソロイシンに富んだ典型的な核外輸送シグナル (NES) 配列が同定されている⁵⁸⁾。N タンパク質の NES 領域は P タンパク質との結合する領域と重

なっており、P タンパク質の存在下では N タンパク質の核外輸送は阻害される。X タンパク質も P タンパク質との相互作用において、vRNP の核外輸送に関与している⁵⁹⁾。単独で核内局在を示す P タンパク質は、X タンパク質の存在下で細胞質へと移行することから、P タンパク質は X タンパク質と結合することで核外に輸送されると考えられている (図 3)。筆者らの研究により、P タンパク質にはメチオニンに富んだ NES が存在すること示され、X タンパク質との結合による P タンパク質の構造変化が NES による核外輸送を促すと考えられた⁶⁰⁾。

これまでの研究により、BDV vRNP の核輸送の制御機構についても多くが示唆されている。ウイルスの増殖期においては、P と N タンパク質の相互作用により N タンパク質の核外輸送が阻害され、vRNP を核内に留めて複製を促す。一方、細胞核における P タンパク質の過剰発現は、BDV の転写活性を著しく低下させることが知られている。すなわち、P タンパク質の発現が閾値に達すると自律的な翻訳制御により X タンパク質の発現量が増加する。X 蛋白質は、核内の P タンパク質を細胞質へ運ぶとともに、核内での転写活性を制御することが知られている⁵⁹⁾。これまでに、X タンパク質の翻訳制御には宿主因子が関与していることが明らかとなっている。具体的には、細胞内で P タンパク質が蓄積するとリボソームを mRNA から引き離す役割をする RNA ヘリカーゼ (DDX21) の活性が阻害される⁶¹⁾。その結果、X タンパク質が優先的に翻訳され

ようになる。このように、BDVのXとPタンパク質は相互に干渉し合い細胞内での発現量を調整するとともに、持続感染の維持に関与していると考えられている。さらに、Pタンパク質の核外輸送に重要であるXタンパク質が70 kDaの熱ショックタンパク質(Hsc70)と相互作用することも明らかとなっている⁶²⁾。Hsc70は恒常的発現がみられるシャペロン分子であり、細胞質と核の間を移動している。Xタンパク質のHsc70との相互作用部位は、Pタンパク質との結合部位と完全に重なっていることが示されており、Hsc70はXとPタンパク質との結合を競合阻害することで、vRNPの細胞内局在を制御していると考えられている。一方で、ボルナウイルス粒子の形成と放出についてはよくわかっていない。

6. BDVの核内持続感染機構

核内で複製を行うRNAウイルスはインフルエンザウイルスとボルナウイルスのみである。しかしながら、インフルエンザウイルスとは異なり、ボルナウイルスは非傷害性に持続感染する^{48, 63, 64)}。このことから、ボルナウイルスは細胞核に寄生できる唯一のRNAウイルスと考えられている。BDVの複製最小単位であるvRNPは感染細胞核内に特徴的なドット状構造物(viral speckles of transcript: vSPOT)を形成する(図3)⁶⁵⁾。vSPOTには、ゲノムRNAの他にアンチゲノムRNAも含まれており、ウイルス複製の場と考えられている。BDVは核内で持続感染を維持するためのさまざまな機構を有している。核内で持続感染しているBDVは、細胞分裂時に各娘細胞へゲノムを安定に分配しなくてはならない。興味深いことに、分裂した染色体が両極に分かれる分裂後期の細胞では、vRNPが娘染色体とともにそれぞれの細胞核へと運ばれることが示されている⁶⁵⁾。宿主染色体をキャリアーとしてウイルスゲノムを娘細胞へと安全に侵入させる方法は、核内で安定した感染を維持するためのきわめて有効な手段であると考えられる。さらに、vRNPのクロマチンへの接合にはヒストンが重要な働きをしていることも示されている(図3)。これらのことから、BDVは核内でのゲノム維持のために宿主染色体の安定性を利用していると考えられている。

それでは、クロマチン上でのBDV vRNPの複製と代謝はどのように制御されているのであろうか。これまでに、筆者らは、Pタンパク質が宿主のクロマチン結合タンパク質であるHMGB1と結合していることを明らかにしている^{66, 67)}。HMGB1は、核内に大量に存在する非ヒストン性のクロマチン結合タンパク質であり、宿主DNAの転写に際してDNAの構造を緩めることで転写の促進に働いている^{68, 69)}。これまでの解析から、vRNPはHMGB1とPタンパク質の結合を介してクロマチンに運ばれていると考えられている(図3)。HMGB1をノックダウンさせた細胞では、BDVの転写が減少するとともに、クロマチンに局

在しているvRNP量も著減した⁶⁵⁾。このような細胞では、BDVは持続感染を維持できないことも示された。これらのことから、HMGB1がクロマチン上でのvRNPの複製と安定性に必要であると考えられている。

7. ボルナウイルスの内在化

BDVは細胞核で持続感染するというきわめて特異な性状をもつRNAウイルスである。近年、筆者らはBDV vRNPを形成するNタンパク質と高い相同性を有する2つの予測タンパク質がヒトゲノムにコードされていることを発見した^{13, 70, 71)}。これらのタンパク質は、Nタンパク質とアミノ酸で41%の相同性を示した。さらに、ORFの両末端にはBDVのN遺伝子にみられるシグナル配列と相同の配列も保存されていた。詳細な遺伝学的解析により、これらの遺伝子はBDVのNタンパク質と同じ起源をもつことが明らかとなり、内在性ボルナウイルス様ヌクレオプロテイン(endogenous bornavirus-like nucleoprotein: EBLN)と名づけられた¹³⁾。EBLN配列の情報をもとにデータベース解析を行った結果、ヒトゲノムでは少なくとも7箇所にEBLN配列が存在していることが明らかとなっている⁷²⁾。また、さまざまな哺乳動物(原猿を含む霊長類、リス科を含む齧歯類、オポッサムなどの有袋類そして象などのアフリカ獣上目など)のゲノムにもEBLN配列が存在することが判明している^{13, 72-74)}。系統樹解析の結果、哺乳類で見つかったEBLNはそれぞれの生物系統において独立して形成されたことが示された。ヒトでは、約4,000から4,500万年前に類人猿の共通祖先で形成されたと考えられている^{75, 76)}。興味深いのは、ジュウサンセンジリスのゲノムに見つかったEBLN配列が、現存する外来性ボルナウイルスのN遺伝子と系統樹上で同じクラスターを形成したことである。このことは、ジュウサンセンジリスのEBLNがきわめて近年に形成されたことを示唆している。さらに、一部の霊長類由来EBLNは、培養細胞ならびに特定臓器でmRNAを発現するとともに、その予測タンパク質と宿主因子との相互作用が報告されている⁷⁷⁾。すなわち、霊長類の一部のEBLNは機能性タンパク質として進化してきた可能性が示されている。

8. おわりに

ボルナウイルスは、現在、ヒトにおいて重要な感染症を引き起こさないと考えられている。しかしながら、その感染はさまざまな動物種で確認され、時に重篤な神経疾患を誘導することが知られている。ボルナウイルスの感受性と病原性はどのように決定されているのか、自然界における保有動物は何なのか、そして伝播様式はどのようにになっているのかなど、ボルナウイルスには明らかにしなければならない謎が多く残されている。一方、本稿でも紹介したように、ボルナウイルスは他のRNAウイルスでは見られな

い多くのユニークな性状をもっている。ボルナウイルス研究はウイルス学分野のみならず、さまざまな研究領域にも広がりを見せている。ボルナウイルスの研究により、今後とも未知なる感染現象や生命機能が明らかにされることを期待している。

参考文献

- 1) Ludwig H, Bode L: Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev Sci Tech* 19: 259-288, 2000.
- 2) Ikuta K, Hagiwara K, Taniyama H, Nowotny N: Epidemiology and infection of natural animal hosts. *In: Borna disease virus and its role in neurobehavioral disease*, ed. Carbone KM, pp. 87-123. ASM press, Washington, DC, 2002.
- 3) Dürrwald R, Ludwig H: Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography. *Zentralbl Veterinarmed B*. 44: 147-184, 1997.
- 4) Kistler AL, Gancz A, Clubb S, Skewes-Cox P, Fischer K, Sorber K, Chiu CY, Lublin A, Mechani S, Farnoushi Y, Greninger A, Wen CC, Karlene SB, Ganem D, DeRisi JL: Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. *Virology* 5: 88, 2008.
- 5) Honkavuori KS, Shivaprasad HL, Williams BL, Quan PL, Hornig M, Street C, Palacios G, Hutchison SK, Franca M, Egholm M, Briese T, Lipkin WI: Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg Infect Dis* 14: 1883-1886, 2008.
- 6) Payne S, Covalada L, Jianhua G, Swafford S, Baroch J, Ferro PJ, Lupiani B, Heatley J, Tizard I: Detection and characterization of a distinct bornavirus lineage from healthy Canada geese (*Branta canadensis*). *J Virol* 85: 12053-12056, 2011.
- 7) Delnatte P, Berkvens C, Kummrow M, Smith DA, Campbell D, Crawshaw G, Ojkic D, DeLay J: New genotype of avian bornavirus in wild geese and trumpeter swans in Canada. *Vet Rec* 169: 108, 2011.
- 8) Staeheli P, Sauder C, Hausmann J, Ehrensperger F, Schwemmler M: Epidemiology of Borna disease virus. *J Gen Virol* 81: 2123-2135, 2000.
- 9) Lipkin WI, Briese T, Hornig M: Borna disease virus - fact and fantasy. *Virus Res* 162: 162-172, 2011.
- 10) Hornig M, Briese T, Licinio J, Khabbaz RF, Altshuler LL, Potkin SG, Schwemmler M, Siemietzki U, Mintz J, Honkavuori K, Kraemer HC, Egan MF, Whybrow PC, Bunney WE, Lipkin WI: Absence of evidence for bornavirus infection in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 17: 486-493, 2012.
- 11) Briese T, Schneemann A, Lewis AJ, Park YS, Kim S, Ludwig H, Lipkin WI: Genomic organization of Borna disease virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 4362-4366, 1994.
- 12) Cubitt B, Oldstone C, de la Torre JC: Sequence and genome organization of Borna disease virus. *J Virol* 68: 1382-1396, 1994.
- 13) Horie M, Honda T, Suzuki Y, Kobayashi Y, Daito T, Oshida T, Ikuta K, Jern P, Gojobori T, Coffin JM, Tomonaga K: Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes. *Nature* 463: 84-87, 2010.
- 14) Fujino K, Horie M, Honda T, Nakamura S, Matsumoto Y, Francischetti I. M. B. and Tomonaga K: Evolutionarily conserved interaction between the phosphoproteins and X proteins of bornaviruses from different vertebrate species. *PLoS One* (in press), 2012.
- 15) Schwemmler M, Carbone KM, Tomonaga K, Garten W and Nowotny N. Bornaviridae. p615-622. In C. M. Fauquet et al. (ed.), *Virus Taxonomy*. Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego. 2005.
- 16) Schneider U: Novel insights into the regulation of the viral polymerase complex of neurotropic Borna disease virus. *Virus Res* 111: 148-160, 2005.
- 17) Rinder M, Ackermann A, Kempf H, Kaspers B, Korb R, Staeheli P: Broad tissue and cell tropism of avian bornavirus in parrots with proventricular dilatation disease. *J Virol* 83: 5401-5407, 2009.
- 18) Stitz L, Bilzer T, Richt JA, Rott R: Pathogenesis of Borna disease. *Arch Virol Suppl* 7: 135-151, 1993.
- 19) Gosztonyi G, Ludwig H: Borna disease of horses. An immunohistological and virological study of naturally infected animals. *Acta Neuropathol* 64: 213-221, 1984.
- 20) Hagiwara K, Momiyama N, Taniyama H, Nakaya T, Tsunoda N, Ishihara C, Ikuta K: Demonstration of Borna disease virus (BDV) in specific regions of the brain from horses positive for serum antibodies to BDV but negative for BDV RNA in the blood and internal organs. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 186: 19-24, 1997.
- 21) Richt JA, Rott R: Borna disease virus: a mystery as an emerging zoonotic pathogen. *Vet J* 161: 24-40, 2001.
- 22) 勝島 仙之介: 馬ノ流行性脳脊髄膜炎. 中央獣醫會雜誌 12: 1-7, 1899.
- 23) 時重 初熊: 佐賀長崎二縣下ニ流行セル馬疫ニ就テ. 中央獣醫會雜誌 . 11: 1-13, 1898.
- 24) Taniyama H, Okamoto M, Hirayama K, Hagiwara K, Kirisawa R, Kamitani W, Tsunoda N, Ikuta K: Equine Borna disease in Japan. *Vet Rec* 148: 480-482, 2001.
- 25) Hagiwara K, Okamoto M, Kamitani W, Takamura S, Taniyama H, Tsunoda N, Tanaka H, Iwai H, Ikuta K: Nosological study of Borna disease virus infection in race horses. *Vet Microbiol* 84: 367-374, 2002.
- 26) Okamoto M, Furuoka H, Hagiwara K, Kamitani W, Kirisawa R, Ikuta K, Taniyama H: Borna disease in a heifer in Japan. *Vet Rec* 150: 16-18, 2002.
- 27) Hagiwara K, Ando T, Koiwa M: The influence of Borna disease viral infection on dairy cow reproduction. *J Vet Med Sci* 74: 419-421, 2012.
- 28) Wensman JJ, Jaderlund KH, Gustavsson MH, Hansson-Hamlin H, Karlstam E, Lilliehook I, Ostrom IL, Belak S, Berg M, Holst BS: Markers of Borna disease virus infection in cats with staggering disease. *J Feline Med Surg* 14: 573-582, 2012.
- 29) Weissenböck H, Nowotny N, Caplazi P, Kolodziejek J,

- Ehrensperger F: Borna disease in a dog with lethal meningoencephalitis. *J Clin Microbiol* 36: 2127-2130, 1998.
- 30) Okamoto M, Kagawa Y, Kamitani W, Hagiwara K, Kirisawa R, Iwai H, Ikuta K, Taniyama H: Borna disease in a dog in Japan. *J Comp Pathol* 126: 312-317, 2002
 - 31) Dauphin G, Legay V, Sailleau C, Smondack S, Hammoui S, Zientara S: Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*). *J Gen Virol* 82: 2199-2204, 2001.
 - 32) Hilbe M, Herrsche R, Kolodziejek J, Nowotny N, Zlinszky K, Ehrensperger F: Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. *Emerg Infect Dis* 12: 675-677, 2006.
 - 33) Hagiwara K, Matoba Y, Asakawa M: Borna disease virus in Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J Vet Med Sci* 71: 1009-1015, 2009.
 - 34) Degiorgis MP, Berg AL, Hard Af Segerstad C, Morner T, Johansson M, Berg M: Borna disease in a free-ranging lynx (*Lynx lynx*). *J Clin Microbiol* 38: 3087-3091, 2000.
 - 35) Hagiwara K, Tsuge Y, Asakawa M, Kabaya H, Okamoto M, Miyasho T, Taniyama H, Ishihara C, de la Torre JC, Ikuta K: Borna disease virus RNA detected in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Primates* 49: 57-64, 2008.
 - 36) Rossi G, Crosta L, Pesaro S: Parrot proventricular dilation disease. *Vet Rec* 163: 310, 2008.
 - 37) Gancz AY, Kistler AL, Greninger AL, Farnoushi Y, Mechani S, Perl S, Berkowitz A, Perez N, Clubb S, DeRisi JL, Ganem D, Lublin A: Experimental induction of proventricular dilatation disease in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) inoculated with brain homogenates containing avian bornavirus 4. *Virol J* 6: 100, 2009.
 - 38) Horie M, Ueda K, Ueda A, Honda T, Tomonaga K: Detection of Avian bornavirus 5 RNA in *Eclectus roratus* with feather picking disorder. *Microbiol Immunol* 56: 346-349, 2012.
 - 39) Rott R, Herzog S, Fleischer B, Winokur A, Amsterdam J, Dyson W, Koprowski H: Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science* 228: 755-756, 1985.
 - 40) VandeWoude S, Richt JA, Zink MC, Rott R, Narayan O, Clements JE: A borna virus cDNA encoding a protein recognized by antibodies in humans with behavioral diseases. *Science* 250: 1278-1281, 1990.
 - 41) Bode L, Riegel S, Lange W, Ludwig H: Human infections with Borna disease virus: seroprevalence in patients with chronic diseases and healthy individuals. *J Med Virol* 36: 309-315, 1992.
 - 42) Fu ZF, Amsterdam JD, Kao M, Shankar V, Koprowski H, Dietzschold B: Detection of Borna disease virus-reactive antibodies from patients with affective disorders by western immunoblot technique. *J Affect Disord* 27: 61-68, 1993.
 - 43) Allmang U, Hofer M, Herzog S, Bechter K, Staeheli P: Low avidity of human serum antibodies for Borna disease virus antigens questions their diagnostic value. *Mol Psychiatry* 6: 329-333, 2001.
 - 44) Schwemmle M, Jehle C, Formella S, Staeheli P: Sequence similarities between human bornavirus isolates and laboratory strains question human origin. *Lancet* 354: 1973-1974, 1999.
 - 45) Kolodziejek J, Durrwald R, Herzog S, Ehrensperger F, Lussy H, Nowotny N: Genetic clustering of Borna disease virus natural animal isolates, laboratory and vaccine strains strongly reflects their regional geographical origin. *J Gen Virol* 86: 385-398, 2005.
 - 46) Nakamura Y, Takahashi H, Shoya Y, Nakaya T, Watanabe M, Tomonaga K, Iwahashi K, Ameno K, Momiyama N, Taniyama H, Sata T, Kurata T, de la Torre JC, Ikuta K: Isolation of Borna disease virus from human brain tissue. *J Virol* 74: 4601-4611, 2000.
 - 47) Planz O, Rziha HJ, Stitz L: Bornavirus isolates of human origin. *Lancet* 355: 656-657, 2000.
 - 48) Tomonaga K, Kobayashi T, Ikuta K: Molecular and cellular biology of Borna disease virus infection. *Microbes Infect* 4: 491-500, 2002.
 - 49) Clemente R, de la Torre JC: Cell-to-cell spread of Borna disease virus proceeds in the absence of the virus primary receptor and furin-mediated processing of the virus surface glycoprotein. *J Virol* 81: 5968-5977, 2007.
 - 50) Stitz L, Noske K, Planz O, Furrer E, Lipkin WI, Bilzer T: A functional role for neutralizing antibodies in Borna disease: influence on virus tropism outside the central nervous system. *J Virol* 72: 8884-8892, 1998.
 - 51) Makino A, Horimoto T, Kawaoka Y: Binding properties of GP1 protein of Borna disease virus. *J Vet Med Sci* 71: 243-246, 2009.
 - 52) Honda T, Horie M, Daito T, Ikuta K, Tomonaga K: Molecular chaperone BiP interacts with Borna disease virus glycoprotein at the cell surface. *J Virol* 83: 12622-12625, 2009.
 - 53) Clemente R, de la Torre JC: Cell entry of Borna disease virus follows a clathrin-mediated endocytosis pathway that requires Rab5 and microtubules. *J Virol* 83: 10406-10416, 2009.
 - 54) Clemente R, de Parseval A, Perez M, de la Torre JC: Borna disease virus requires cholesterol in both cellular membrane and viral envelope for efficient cell entry. *J Virol* 83: 2655-2662, 2009.
 - 55) Pypers JM, Gartner AE: Molecular basis for the differential subcellular localization of the 38- and 39-kilodalton structural proteins of Borna disease virus. *J Virol* 71: 5133-5139, 1997.
 - 56) Shoya Y, Kobayashi T, Koda T, Ikuta K, Kakinuma M, Kishi M: Two proline-rich nuclear localization signals in the amino- and carboxyl-terminal regions of the Borna disease virus phosphoprotein. *J Virol* 72: 9755-9762, 1998.
 - 57) Walker MP, Lipkin WI: Characterization of the nuclear localization signal of the borna disease virus polymerase. *J Virol* 76: 8460-8467, 2002.
 - 58) Kobayashi T, Kamitani W, Zhang G, Watanabe M, Tomonaga K, Ikuta K: Borna disease virus nucleoprotein requires both nuclear localization and export

- activities for viral nucleocytoplasmic shuttling. *J Virol* 75: 3404-3412, 2001.
- 59) Kobayashi T, Zhang G, Lee BJ, Baba S, Yamashita M, Kamitani W, Yanai H, Tomonaga K, Ikuta K: Modulation of Borna disease virus phosphoprotein nuclear localization by the viral protein X encoded in the overlapping open reading frame. *J Virol* 77: 8099-8107, 2003.
- 60) Yanai H, Kobayashi T, Hayashi Y, Watanabe Y, Ohtaki N, Zhang G, de la Torre JC, Ikuta K, Tomonaga K: A methionine-rich domain mediates CRM1-dependent nuclear export activity of Borna disease virus phosphoprotein. *J Virol* 80: 1121-1129, 2006.
- 61) Watanabe Y, Ohtaki N, Hayashi Y, Ikuta K, Tomonaga K: Autogenous translational regulation of the borna disease virus negative control factor x from polycistronic mRNA using host RNA helicases. *PLoS Pathog* 5: e1000654, 2009.
- 62) Hayashi Y, Horie M, Daito T, Honda T, Ikuta K, Tomonaga K: Heat shock cognate protein 70 controls Borna disease virus replication via interaction with the viral non-structural protein X. *Microbes Infect* 11: 394-402, 2009.
- 63) Planz O, Pleschka S, Wolff T: Borna disease virus: a unique pathogen and its interaction with intracellular signalling pathways. *Cell Microbiol* 11: 872-879, 2009.
- 64) Schwemmler M, Heimrich B: Viral interference with neuronal integrity: what can we learn from the Borna disease virus? *Cell Tissue Res* 344: 13-16, 2011.
- 65) Matsumoto Y, Hayashi Y, Omori H, Honda T, Daito T, Horie M, Ikuta K, Fujino K, Nakamura S, Schneider U, Chase G, Yoshimori T, Schwemmler M, Tomonaga K: Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. *Cell Host Microbe* 11: 492-503, 2012.
- 66) Kamitani W, Shoya Y, Kobayashi T, Watanabe M, Lee BJ, Zhang G, Tomonaga K, Ikuta K: Borna disease virus phosphoprotein binds a neurite outgrowth factor, amphotericin/HMG-1. *J Virol* 75: 8742-8751, 2001.
- 67) Zhang G, Kobayashi T, Kamitani W, Komoto S, Yamashita M, Baba S, Yanai H, Ikuta K, Tomonaga K: Borna disease virus phosphoprotein represses p53-mediated transcriptional activity by interference with HMGB1. *J Virol* 77: 12243-12251, 2003.
- 68) Bianchi ME, Agresti A: HMG proteins: dynamic players in gene regulation and differentiation. *Curr Opin Genet Dev* 15: 496-506, 2005.
- 69) Agresti A, Scaffidi P, Riva A, Caiolfa VR, Bianchi ME: GR and HMGB1 interact only within chromatin and influence each other's residence time. *Mol Cell* 18: 109-121, 2005.
- 70) Tomonaga K: Living fossil or evolving virus? *EMBO Rep* 11: 327, 2010.
- 71) Horie M, Tomonaga K: Non-retroviral fossils in vertebrate genomes. *Viruses* 3: 1836-1848, 2011.
- 72) Belyi VA, Levine AJ, Skalka AM: Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient bornavirus and ebolavirus/marburgvirus sequences in vertebrate genomes. *PLoS Pathog* 6: e1001030, 2010.
- 73) Katzourakis A, Gifford RJ: Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genet* 6: e1001191, 2010.
- 74) Holmes EC: The evolution of endogenous viral elements. *Cell Host Microbe* 10: 368-377, 2011.
- 75) Kobayashi Y, Horie M, Tomonaga K, Suzuki Y: No evidence for natural selection on endogenous borna-like nucleoprotein elements after the divergence of Old World and New World monkeys. *PLoS One* 6: e24403, 2011.
- 76) Johnson WE: Endless forms most viral. *PLoS Genet* 6: e1001210, 2010.
- 77) Ewing RM, Chu P, Elisma F, Li H, Taylor P, Climie S, McBroom-Cerajewski L, Robinson MD, O'Connor L, Li M, Taylor R, Dharsee M, Ho Y, Heilbut A, Moore L, Zhang S, Ornatsky O, Bukhman YV, Ethier M, Sheng Y, Vasilescu J, Abu-Farha M, Lambert JP, Duesel HS, Stewart, II, Kuehl B, Hogue K, Colwill K, Gladwish K, Muskat B, Kinach R, Adams SL, Moran MF, Morin GB, Topaloglou T, Figeys D: Large-scale mapping of human protein-protein interactions by mass spectrometry. *Mol Syst Biol* 3: 89, 2007.

Bornaviruses

Keizo TOMONAGA

Department of Viral Oncology, Institute for Virus Research, Kyoto University

Bornaviridae is an enveloped animal virus carrying an 8.9 kb non-segmented, negative-strand RNA genome. The genus bornavirus contains two members infecting vertebrates, Borna disease virus (BDV) and avian bornavirus (ABV), which could preferably infect the nervous systems. BDV causes classical Borna disease, a progressive meningoencephalomyelitis, in horses and sheep, and ABV is known to induce proventricular dilatation disease, a fatal disease characterized by a lymphocytic, plasmacytic inflammation of central and peripheral nervous tissues, in multiple avian species. Recent evidences have demonstrated that bornavirus is unique among RNA viruses as they not only establish a long-lasting, persistent infection in the nucleus, but also integrate their own DNA genome copy into the host chromosome. In this review, I outline the recent knowledge about the unique virological characteristics of bornaviruses, as well as the diseases caused by the infection of BDV and ABV.