

3. エボラウイルスに対するワクチンおよび治療法

高 田 礼 人

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

フィロウイルス（エボラウイルスおよびマールブルグウイルス）はヒトを含む霊長類に重篤な出血熱をひきおこす病原体として知られている。ワクチンおよび抗ウイルス薬は実用化されていない。しかし、2014 年に西アフリカで起きた大規模なエボラ出血熱の流行によって、予防・治療法の実用化に向けた動きは加速されるとともに、未承認ながら幾つかの治療薬が感染者に投与された。本稿では、エボラウイルスに対するワクチンおよび治療法開発のための研究と現状を紹介する。

はじめに

フィロウイルス科 (Family *Filoviridae*) に含まれるウイルスは進化系統学的に、マールブルグウイルス属 (Genus *Marburgvirus*)、エボラウイルス属 (Genus *Ebolavirus*) およびキュエヴァウイルス属 (Genus *Cuevavirus*) に分類される¹⁾ (図 1)。現在のところ、マールブルグウイルス属およびキュエヴァウイルス属にはそれぞれ 1 種のみが知られているのに対し、エボラウイルス属は 5 種 (*Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus*, *Bundibugyo ebolavirus* および *Reston ebolavirus*) に分けられている。これらのウイルスは抗原的にも異なっており、フィロウイルスに対する予防・診断・治療法の開発にとって避けて通れない問題となっている。マールブルグウイルスおよびエボラウイルス (*Reston ebolavirus* を除く) はアフリカで見つかっており、ヒトおよびサルに急性で致死率の高い出血熱を惹き起こす病原体として知られている。*Reston ebolavirus* はフィリピンおよび中国で見つかっており、サルに対しては病原性を示すがヒトに対しては不顕性感染のみ報告されている。病原性が強いこと、そして効果的な予防・治療法が実用化されていないことから、マールブル

グおよびエボラウイルスは Biosafety Level 4 (BSL-4) 施設で取り扱わなければならない病原体である。キュエヴァウイルス属の *Lloviu cuevavirus* は、ヨーロッパの食虫コウモリから検出されたが、ヒトおよびサルに対する病原性は不明である^{2,3)}。

フィロウイルスによる感染症の流行

最初に見つかったフィロウイルスはマールブルグウイルスである。1967 年に、ウガンダからヨーロッパ（ドイツと旧ユーゴスラビア）に研究用として輸入されたアフリカミドリザルの検体を扱った研究者、技術者が出血熱症状を呈し、感染者からウイルスが分離された。エボラウイルスは 1976 年に見つかった。同年のほぼ同じ時期にコンゴ民主共和国（旧ザイール）およびスーダンで致死率の高い出血熱の流行が確認され、マールブルグウイルスと同じ粒子形態だが異なるウイルスによるものである事が明らかとなり、エボラウイルスと命名された。コンゴ民主共和国とスーダンで見つかったウイルスは別種であり (*Zaire ebolavirus* および *Sudan ebolavirus*)、2 種のエボラウイルスによる独立した流行であった。その後も 2013 年までに、新種のウイルスによる発見を含め (*Tai Forest ebolavirus* および *Bundibugyo ebolavirus*)、マールブルグウイルスおよびエボラウイルスによる感染症は、コンゴ民主共和国、スーダン、ガボン、コンゴ共和国、ウガンダ、コートジボアール、ケニア、アンゴラ等のアフリカ諸国で散発的に発生が報告され続けていた (表 1)。2014 年には、それまで発生報告がなかったギニア、リベリアおよびシエラレオネで、過去に例を見ない大規模なエボラ出血熱（現在はエボラウイルス病と呼ばれることが多くなってきた）の流行が起こり⁴⁾、発生国以外の近隣アフリカ諸国にも感染が拡大した。

連絡先

〒 001-0020

北海道札幌市北区北 20 条西 10 丁目

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

TEL: 011-706-9502

FAX: 011-706-7310

E-mail: atakada@czc.hokudai.ac.jp

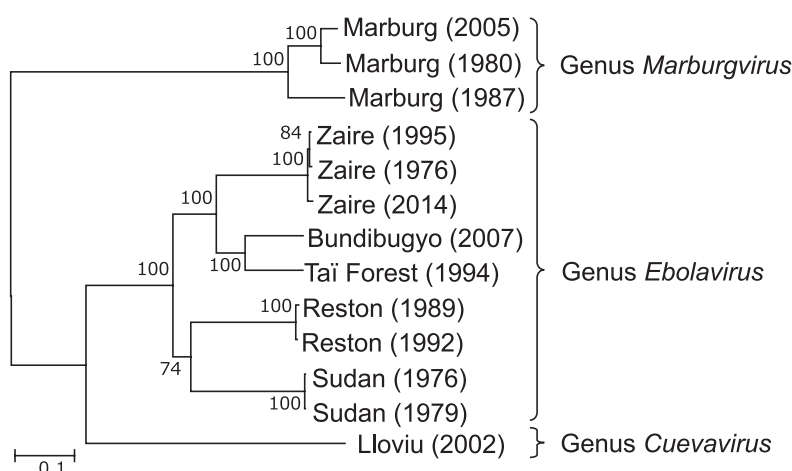


図1 フィロウィルスの表面糖蛋白質のアミノ酸配列による進化系統樹

また、流行地で診療に携わった医療従事者等への感染も多く報告され、一部はアメリカおよびヨーロッパに帰国後に発症し、世界的な問題となった。この歴史的な大流行は、本来アフリカの風土病であったフィロウイルスによる感染症が、地球規模の公衆衛生上の脅威と成り得ることを世界に知らしめた。

フィロウィルスの性状と増殖メカニズム

フィロウイルス粒子は、エンベロープに包まれたフィラメント状で、直径はほぼ一定（約 80 nm）であるが長さは多様であり、環状、分枝状、U 型、6 字型等様々な形態をとる（図 2a）。ウイルスゲノムはマイナス鎖の非分節一本鎖 RNA であり（図 2b）、少なくとも 7 つの構造蛋白質をコードしている（図 2c）。エボラウイルスの糖蛋白質遺伝子は RNA editing により、レセプターへの結合と宿主細胞膜との膜融合を担う表面糖蛋白質 GP⁵⁾ と分泌型の sGP および ssGP をコードする^{6,8)}。GP はフィロウイルスが有する唯一の表面糖蛋白質であるため、宿主特異性、組織指向性、病原性などの重要な決定因子である。sGP および ssGP の機能は不明であるが、少なくとも、GP に対する中和抗体を引きつける図として作用する可能性が示唆されている⁹⁾。マールブルグウイルスゲノムからの分泌型糖蛋白質の発現は報告されていない。フィロウイルスの細胞内増殖過程を図 3a に示す。マクロピノサイトーシス等によって細胞内に取り込まれたウイルス粒子は、エンドゾーム内で膜融合を起こし、ウイルス蛋白質（NP、VP35、VP30 および L 蛋白質）と RNA ゲノムの複合体が細胞質内に放出される。これらの蛋白質はウイルスゲノムの転写および複製に関与する¹⁰⁾。VP40 はマトリックス蛋白質としてウイルス粒子形成を担う¹¹⁻¹³⁾。VP24 と VP35 は NP と共にヌクレオカプシドの形成に関与していると考えられている。エボラウイルスの VP24 および VP35、マールブルグウイルスの

VP40 には、インターフェロン（IFN）の作用を阻害する機能がある¹⁴⁻¹⁶⁾。

GP の構造とフィロウィルスの細胞侵入過程

フィロウイルスに対する中和抗体の唯一の標的は GP である。GP 単量体は宿主プロテアーゼによって開裂されたサブユニット（GP1 および GP2）から成り、GP1/GP2 が杯型の 3 量体を形成してエンベロープ上に存在する¹⁷⁾。また、GP には非常に多くの糖鎖付加部位が存在し、特に N 型と O 型糖鎖付加部位の両方が集中している mucin-like region (MLR) は、GP の立体構造上非常に大きな領域を占めると考えられている。GP の糖鎖に結合する宿主レセプターとして C 型レクチンが知られており（図 3b）、このレセプターへの親和性がフィロウイルスの組織特異性に関与していると考えられている¹⁸⁻²³⁾。しかし、C 型レクチンは GP との結合に関与するが、その結合のみでは膜融合には至らない^{20,24)}。一方、MLR を欠失させた GP をもつウイルスも感染可能であることから、MLR はフィロウイルスの GP の本質的な機能には必須ではないことが示されている。また、C 型レクチンをほとんど発現していない細胞もフィロウイルスに対して感受性があることから、様々な細胞に広く発現する吸着レセプターが存在する。例えば、GP を介さない吸着レセプターとして T-cell Ig and mucin domain 1 (TIM-1) 分子が報告されている²⁵⁻²⁸⁾。TIM-1 はウイルスエンベロープに含まれるホスファチジルセリン (PtdSer) に結合し、ウイルスの細胞への吸着に関与している（図 3b）。いずれの経路の場合でも、GP はカセプシン等の宿主プロテアーゼによってエンドゾーム内で分解された後に^{29,30)}、膜融合レセプター Niemann-Pick C1 (NPC1) 分子と結合すると考えられている³¹⁻³³⁾（図 3c）。したがって、GP に対する中和抗体の殆どは、ウイルスの細胞への吸着を阻害するのではなく、プロテアーゼ

表1 フィロウィルスによる感染症の発生

属	種	年	発生国	患者数（死亡者数）
<i>Marburgvirus</i>	<i>Marburg marburgvirus</i>	1967	ドイツ、旧ユーゴスラビア	31(7) ^{a)}
		1975	南アフリカ	3 (1) ^{a)}
		1980	ケニア	2 (1)
		1987	ケニア	1 (1)
		1990	ロシア	1 (1)
		1998-2000	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	154 (128)
		2004-2005	アンゴラ	252 (227)
		2007	ウガンダ	4 (1)
		2008	アメリカ	1 (0) ^{a)}
		2008	オランダ	1 (1) ^{a)}
		2012	ウガンダ	15 (4)
		2014	ウガンダ	1 (1)
<i>Ebolavirus</i>	<i>Zaire ebolavirus</i>	1976	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	318 (280)
		1977	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	1 (1)
		1994	ガボン	52 (31)
		1995	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	315 (250)
		1996	ガボン	37 (21)
		1996-1997	ガボン	60 (45)
		1996	南アフリカ	2 (1) ^{a)}
		2001-2002	ガボン、コンゴ共和国	122 (96)
		2002-2003	コンゴ共和国	178 (158)
		2005	コンゴ共和国	12 (9)
		2007	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	264 (187)
		2008-2009	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	32 (15)
		2014	ギニア、リベリア、シエラレオネ他	26044 (10808) ^{b)}
		2014	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	66 (49)
	<i>Sudan ebolavirus</i>	1976	スーダン	284 (151)
		1976	イギリス	1 (0) ^{c)}
		1979	スーダン	34 (22)
		2000-2001	ウガンダ	425 (224)
		2004	スーダン	17 (7)
		2011	ウガンダ	1 (1)
		2012a	ウガンダ	24 (17)
		2012b	ウガンダ	7 (4)
	<i>Tai Forest ebolavirus</i>	1994	コートジボアール	1 (0)
	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	2007-2008	ウガンダ	149 (37)
		2012	コンゴ民主共和国（旧ザイール）	77 (36)
	<i>Reston ebolavirus</i>	1989	アメリカ	0 (0) ^{a)d)}
		1990	アメリカ	4 (0) ^{a)e)}
		1989-1990	フィリピン	3 (0) ^{e)}
		1992	イタリア	0 (0) ^{a)d)}
		1996	アメリカ、フィリピン	0 (0) ^{a)d)}
		2008	フィリピン	6 (0) ^{f)}

a) 輸入例。

b) 2015年4月22日現在。疑い例含む。

c) 研究室で針刺し事故で感染。

d) 発症したのはサルのみ。

e) 発症したのはサルのみ。感染したサルを取り扱った関係者（無症状）に血中抗体の上昇が認められた。

f) 豚生殖器・呼吸器症候群のブタから分離されたが、レストンエボラウイルスの感染と疾病との因果関係は不明。感染したブタと接触した関係者（無症状）にウイルスに対する抗体が検出された。

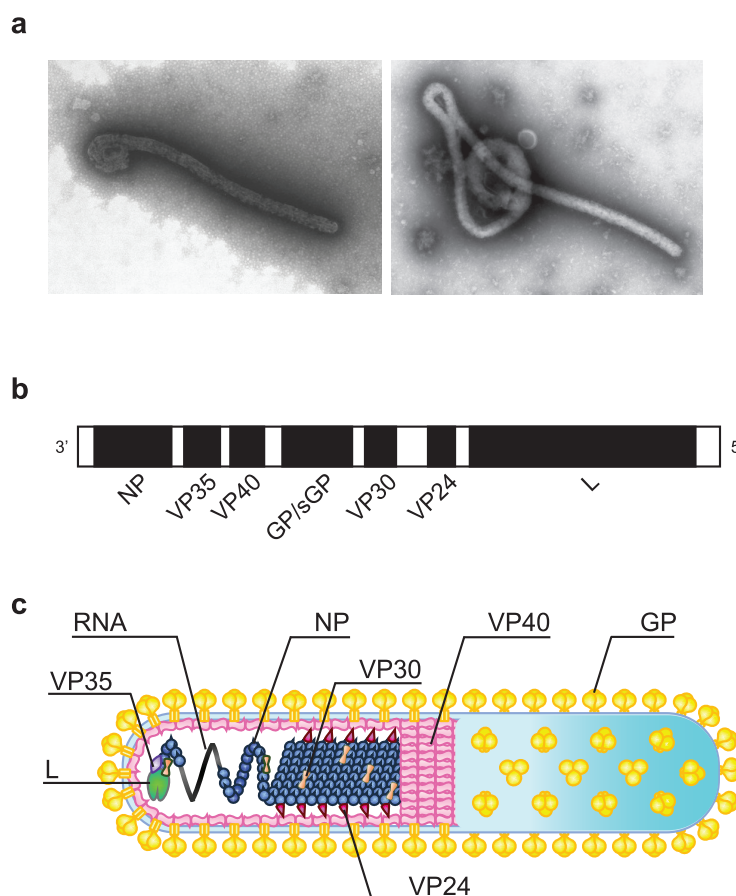


図2 フィロウイルスおよびその遺伝子の構造

による GP の分解あるいは膜融合を阻害するものであると考えられる^{34,35)}。一方で、フィロウイルスの GP に対する抗体の中には、通常の中和活性は持たないが、感染細胞の外側から GP に結合しウイルスの出芽を抑えるものが存在することが明らかとなり、抗体によるウイルス増殖阻害活性の新しいメカニズムが示されている³⁷⁾。

ワクチン

現在までに、実用化されているエボラ出血熱ワクチンは無い。不活化ワクチン等の古典的なアプローチは、げっ歯類モデルを用いた系では効果を示すものの、よりヒトの感染に近い病態を示すサルモデルで効果が認められない³⁸⁾。しかし、ウイルスベクターを用いたワクチンの有効性が霊長類を用いた実験で示されている。例えば、エボラウイルス蛋白質の一部（表面糖蛋白質 GP 等）を発現する vesicular stomatitis virus (VSV), adenovirus, human parainfluenza virus type 3 あるいは Venezuelan equine encephalitis virus をサルに接種すると、致死的なウイルス攻撃に対して感染防御効果を示す³⁹⁻⁴²⁾。特に、組換え VSV ワクチンはウイルス曝露後の投与でも防御効果を発揮することが報告されている^{43,44)}。VSV および chimpanzee adenovi-

rus をベースとしたワクチンは西アフリカでのエボラ出血熱流行時に使用され、臨床試験によりある程度の安全性が確認されており、早急な改良と実用化が期待される⁴⁵⁻⁴⁷⁾。これらのワクチンはウイルスベクターを用いているので、細胞内でウイルス遺伝子が複製されウイルス抗原を発現する。そのため、効率よく自然免疫応答を誘導するとともに、細胞障害性 CD8(+)T 細胞を誘導するので、それらが感染防御免疫に重要である可能性がある。一方、不活化全粒子ワクチンやサブユニットワクチンなどはこれらの免疫応答の誘導能が弱いと、効果が低いのかもしれない。また最近、VP30 遺伝子のみを欠損させたエボラウイルス粒子を過酸化水素で不活化したワクチンの効果が、サルモデルで確認された⁴⁸⁾。このワクチンは GP に加え、他のウイルス蛋白質および RNA 遺伝子も含んでいるため、より高い免疫効果が期待されるが、感染防御メカニズムは詳細に明らかになっていない。

エボラウイルスの GP を発現する VSV ワクチンの実験から、CD4(+)T 細胞と抗体産生も重要であることが示唆されている⁴⁹⁾。しかし、フィロウイルスの GP に対して誘導される抗体の一部は、in vitro でウイルスの感染性を増強することが示されている^{50,51)}。この現象は抗体依存性感

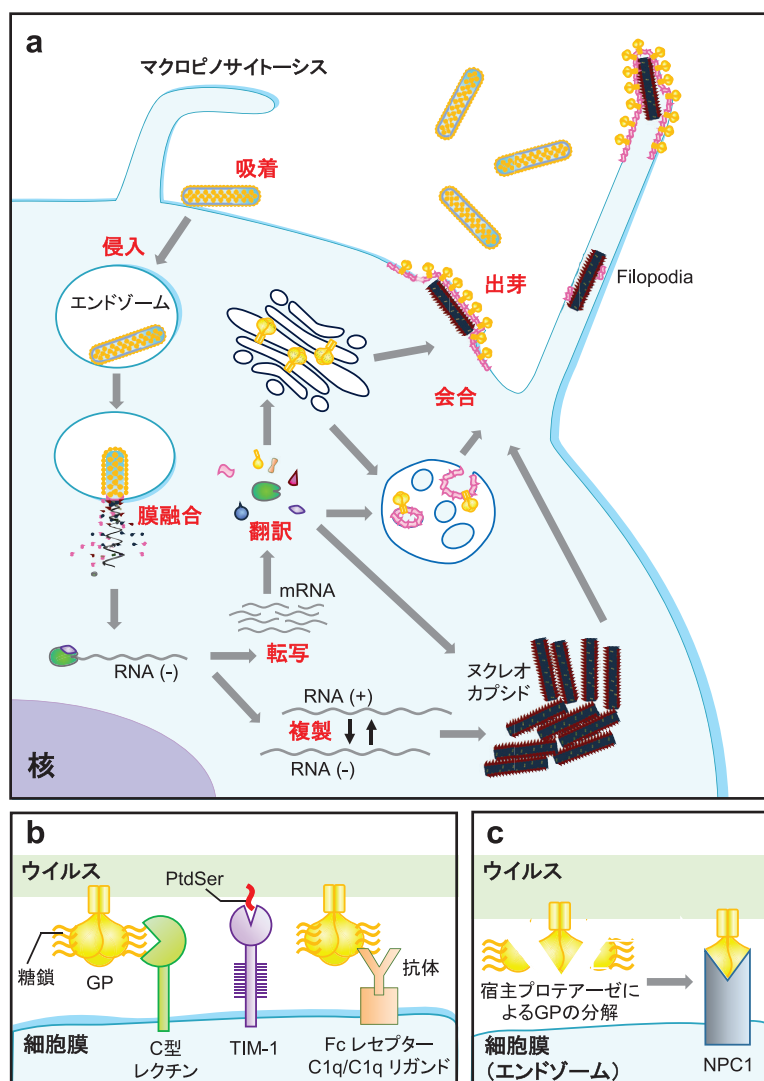


図3 フィロウィルスの細胞内増殖過程 (a) および細胞への吸着 (b) と膜融合 (c) に関する宿主因子

染増強 (ADE) と呼ばれ、抗体がウイルスと細胞を架橋しウイルスの感染効率を高める複数のメカニズムが知られている⁵²⁾ (図 3b)。ADE 抗体の *in vivo* における重要性は明らかとなっていないが、実際の感染やワクチンによって血清中に誘導される抗体には、中和抗体、ADE 抗体および中和も ADE も起こさない抗体が混在しており、ADE 抗体の存在は、少なくとも血清中の *in vitro* 中和活性を相殺することが分かっている⁵³⁾。

ワクチン開発におけるもう一つの大きな問題は、エボラウイルス種間の抗原性の違いである。GP の抗原性は 5 種のエボラウイルスで大きく異なっており、それぞれのウイルスに対する抗血清中の抗体は殆ど交差反応性を示さない^{53,54)}。上述のワクチンの殆どは Zaire エボラウイルスの遺伝子を用いて作られているが、他の種のエボラウイルスには殆ど効果がないと考えられる。将来的には、交差反応性免疫を誘導する方法の確立が望まれる。

治療法

エボラ出血熱に対して承認された治療法が無いため、補液を中心とする古典的な支持療法が行われてきた。一方、サル感染モデルを用いた実験では、ある程度の感染防御効果が血液凝固系の破綻を制御する薬物である *nematode anticoagulant protein c2* および敗血症の治療薬として欧米を始め多くの国で認可されている活性型プロテイン C でも認められていたが⁵⁵⁻⁵⁷⁾、臨床応用には至っていなかった。しかし、2014 年の西アフリカにおけるエボラ出血熱の大流行を契機に、新たな予防・治療薬の実用化に向けた研究開発が世界中で加速している。

例えば、抗体療法が挙げられる。エボラ出血熱から回復したヒトの血清あるいは馬抗血清等による受動免疫の効果が実際の症例または実験用動物を用いた感染実験で試されてきたが、その有効性は不明瞭であった^{36,58)}。GP に対す

る中和抗体の投与による感染防御効果がエボラおよびマールブルグウイルス感染サルモデルで確認されたのは近年になってからである。1種類の中和モノクローナル抗体の投与では感染防御が全く成立しなかったが⁵⁹⁾、複数の異なる中和抗体の投与によってエボラウイルスの致死的な感染に対して防御効果が認められることが相次いで報告された⁶⁰⁻⁶³⁾。特に、異なるエピトープを認識する3つの単クローン抗体のカクテルである ZMapp は、発症後（感染5日目）の投与でもサルに対して100%の防御効果を示した⁶⁴⁾。ヒトに対する効果については更に検証が必要だが、2014年の西アフリカでのエボラ出血熱の流行の際に、7名の感染者の治療に使用され、5人が回復した⁶⁵⁾。感染から回復した人の血清を用いた受動免疫も検討されているが、十分な抗体の力価がない血清の場合、上述の分泌型 sGP/ssGP の存在および ADE 抗体が問題となる可能性がある³⁶⁾。したがって、sGP や ssGP に吸収されず、かつ ADE を起こさない中和抗体のみを利用できるという点でモノクローナル抗体による治療法が理想的である。

2014年の西アフリカでのエボラ出血熱流行時には、他の感染症の治療薬として開発されている低分子化合物である Brincidofovir, Lamivudine および Favipiravir が実際に治療に用いられた。特に、核酸類似体である Favipiravir（アビガン®錠）が、すぐに日本から供給可能で効果が期待できる薬剤として注目された。もともと抗インフルエンザウイルス薬として開発されたファビピラビルは、フィロウイルスを含む広域な RNA ウイルスに対する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害剤であり^{66,67)}、マウスを用いた感染実験によりエボラウイルスに対する防御効果が確認されていたからである^{68,69)}。しかし、エボラウイルス感染サルモデルにおける防御効果は確認されていない。ギニアにおける臨床試験の結果、感染初期のファビピラビル投与により致死率が低く抑えられたことが報告されているが⁷⁰⁾、これらの患者は他にも高度な対症療法を受けているため、Favipiravir の治療効果の判定にはさらに詳細な検証が必要である。ファビピラビルと同様に核酸類似体である BCX4430 は、フィロウイルスの RNA ポリメラーゼ（L 蛋白質）に作用し、エボラおよびマールブルグウイルスの両方の増殖を *in vitro* で抑制し、マウスモデルでエボラおよびマールブルグウイルスの両方に対して高い治療効果が認められている⁷¹⁾。マールブルグウイルスに対しては、BCX4430 の治療効果はサルモデルでも確認されている⁷¹⁾。その他、L, VP24 および VP35 を標的とした siRNA の投与も、サルに対してある程度の治療効果を示すことが報告されている⁷²⁾。この薬剤は臨床試験（Phase I）がすでに行われており安全性が確認されているが⁷³⁾、2014年の流行時には使用されていない。

終わりに

上に述べたように、エボラウイルス種間での中和抗体の交差反応性は殆ど無い。現状では、どの地域でどの種のエボラウイルスによる出血熱が発生するのかを予測することは困難であるため、全てのエボラウイルス種に対するワクチンあるいは中和抗体を個別に確立しておく必要がある。全てのエボラウイルス種に共通の中和エピトープを認識する抗体を用いた抗体療法およびそのような交差反応性抗体を選択的に誘導するワクチンが理想的だが、現在のところそれらの開発には至っていない。今後は、抗体療法とともに作用点の異なる数種類の方法を組み合わせる治療法の検討が期待される。

参考文献

- 1) Bukreyev AA, Chandran K, Dolnik O, Dye JM, Ebihara H, Leroy EM, Muhlberger E, Netesov SV, Patterson JL, Paweska JT, Saphire EO, Smith SJ, Takada A, Towner JS, Volchkov VE, Warren TK, Kuhn JH. Discussions and decisions of the 2012-2014 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Filoviridae Study Group, January 2012-June 2013. *Arch Virol* 159:821-830, 2014.
- 2) Negredo A, Palacios G, Vázquez-Morón S, González F, Dopazo H, Molero F, Juste J, Quetglas J, Savji N, de la Cruz Martínez M, Herrera JE, Pizarro M, Hutchison SK, Echevarria JE, Lipkin WI, Tenorio A. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog* 7:e1002304, 2011.
- 3) Maruyama J, Miyamoto H, Kajihara M, Ogawa H, Maeda K, Sakoda Y, Yoshida R, Takada A. Characterization of the envelope glycoprotein of a novel filovirus, Lloviu virus. *J Virol* 88(1): 99-109, 2014.
- 4) Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, Soropogui B, Sow MS, Keita S, De Clerck H, Tiffany A, Dominguez G, Loua M, Traoré A, Kolié M, Malano ER, Heleze E, Bocquin A, Mély S, Raoul H, Caro V, Cadar D, Gabriel M, Pahlmann M, Tappe D, Schmidt-Chanasit J, Impouma B, Diallo AK, Formenty P, Van Herp M, Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Eng J Med* 371:1418-1425, 2014.
- 5) Takada A, Robison C, Goto H, Sanchez A, Murti KG, Whitt MA, Kawaoka Y. A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14764-14769, 1997.
- 6) Volchkov VE, Becker S, Volchkova VA, Ternovoj VA, Kotov AN, Netesov SV, Klenk HD. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. *Virology* 214:421-430, 1995.
- 7) Sanchez A, Trappier SG, Mahy BW, Peters CJ, Nichol ST. The virion glycoproteins of Ebola viruses are encoded in two reading frames and are expressed through transcriptional editing. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:3602-3607, 1996.

- 8) Mehedi M, Falzarano D, Seebach J, Hu X, Carpenter MS, Schnittler HJ, Feldmann H. A new Ebola virus nonstructural glycoprotein expressed through RNA editing. *J Virol* 85:5406-5414, 2011.
- 9) Ito H, Watanabe S, Takada A, Kawaoka Y. Ebola virus glycoprotein: proteolytic processing, acylation, cell tropism, and detection of neutralizing antibodies. *J Virol* 75:1576-1580, 2001.
- 10) Mühlberger E, Weik M, Volchkov VE, Klenk HD, Becker S. Comparison of the transcription and replication strategies of marburg virus and Ebola virus by using artificial replication systems. *J Virol* 73:2333-2342, 1999.
- 11) Timmins J, Scianimanico S, Schoehn G, Weissenhorn W. Vesicular release of ebola virus matrix protein VP40. *Virology* 283:1-6, 2001.
- 12) Noda T, Sagara H, Suzuki E, Takada A, Kida H, Kawaoka Y. Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP. *J Virol* 76(10):4855-4865, 2002.
- 13) Bharat TA, Noda T, Riches JD, Kraehling V, Kolesnikova L, Becker S, Kawaoka Y, Briggs JA. Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:4275-4280, 2012.
- 14) Basler CF, Wang X, Mühlberger E, Volchkov V, Paragas J, Klenk HD, García-Sastre A, Palese P. The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:12289-12294, 2000.
- 15) Reid SP, Leung LW, Hartman AL, Martinez O, Shaw ML, Carboneille C, Volchkov VE, Nichol ST, Basler CF. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J Virol* 80:5156-5167, 2006.
- 16) Valmas C, Grosch MN, Schumann M, Olejnik J, Martinez O, Best SM, Kräling V, Basler CF, Mühlberger E. Marburg virus evades interferon responses by a mechanism distinct from ebola virus. *PLoS Pathog* 6:e1000721, 2010.
- 17) Lee JE, Fusco ML, Hessel AJ, Oswald WB, Burton DR, Saphire EO. Structure of the Ebola virus glycoprotein bound to an antibody from a human survivor. *Nature* 454:177-182, 2008.
- 18) Takada A. Filovirus tropism: cellular molecules for viral entry. *Front Microbiol* 3:34, 2012.
- 19) Becker S, Spiess M, Klenk HD. The asialoglycoprotein receptor is a potential liver-specific receptor for Marburg virus. *J Gen Virol* 76:393-399, 1995.
- 20) Simmons G, Reeves JD, Grogan CC, Vandenberghe LH, Baribaud F, Whitbeck JC, Burke E, Buchmeier MJ, Soilleux EJ, Riley JL, Doms RW, Bates P, Pöhlmann S. DC-SIGN and DC-SIGNR bind ebola glycoproteins and enhance infection of macrophages and endothelial cells. *Virology* 305:115-123, 2003.
- 21) Marzi A, Gramberg T, Simmons G, Möller P, Rennekamp AJ, Krumbiegel M, Geier M, Eisemann J, Turza N, Saunier B, Steinkasserer A, Becker S, Bates P, Hofmann H, Pöhlmann S. DC-SIGN and DC-SIGNR interact with the glycoprotein of Marburg virus and the S protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol* 78:12090-12095, 2004.
- 22) Takada A, Fujioka K, Tsuiji M, Morikawa A, Higashi N, Ebihara H, Kobasa D, Feldmann H, Irimura T, Kawaoka Y. Human macrophage C-type lectin specific for galactose and N-acetylgalactosamine promotes filovirus entry. *J Virol* 78:2943-2947, 2004.
- 23) Matsuno K, Kishida N, Usami K, Igarashi M, Yoshida R, Nakayama E, Shimajima M, Feldmann H, Irimura T, Kawaoka Y, Takada A. Different potential of C-type lectin-mediated entry between Marburg virus strains. *J Virol* 84:5140-5147, 2010.
- 24) Matsuno K, Nakayama E, Noyori O, Marzi A, Ebihara H, Irimura T, Feldmann H, Takada A. C-type lectins do not act as functional receptors for filovirus entry into cells. *Biochem Biophys Res Commun* 403:144-148, 2010.
- 25) Kondratowicz AS, Lennemann NJ, Sinn PL, Davey RA, Hunt CL, Moller-Tank S, Meyerholz DK, Rennert P, Mullins RF, Brindley M, Sandersfeld LM, Quinn K, Weller M, McCray PB Jr, Chiorini J, Maury W. T-cell immunoglobulin and mucin domain 1 (TIM-1) is a receptor for Zaire Ebolavirus and Lake Victoria Marburgvirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:8426-8431, 2011.
- 26) Jemielity S, Wang JJ, Chan YK, Ahmed AA, Li W, Monahan S, Bu X, Farzan M, Freeman GJ, Umetsu DT, Dekruyff RH, Choe H. TIM-family proteins promote infection of multiple enveloped viruses through virion-associated phosphatidylserine. *PLoS pathogens* 9:e1003232, 2013.
- 27) Moller-Tank S, Kondratowicz AS, Davey RA, Rennert PD, Maury W. Role of the phosphatidylserine receptor TIM-1 in enveloped-virus entry. *Journal of virology* 87:8327-8341, 2013.
- 28) Morizono K., Chen IS. Role of phosphatidylserine receptors in enveloped virus infection. *Journal of virology* 88:4275-4290, 2014.
- 29) Chandran K, Sullivan NJ, Felbor U, Whelan SP, Cunningham JM. Endosomal proteolysis of the Ebola virus glycoprotein is necessary for infection. *Science* 308:1643-1645, 2005.
- 30) Brecher M, Schornberg KL, Delos SE, Fusco ML, Saphire EO, White JM. Cathepsin cleavage potentiates the Ebola virus glycoprotein to undergo a subsequent fusion-relevant conformational change. *J Virol* 86:364-372, 2012.
- 31) Miller EH, Obernosterer G, Raaben M, Herbert AS, Deffieu MS, Krishnan A, Ndungo E, Sandesara RG, Carette JE, Kuehne AI, Ruthel G, Pfeffer SR, Dye JM, Whelan SP, Brummelkamp TR, Chandran K. Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular receptor. *EMBO J* 31:1947-1960, 2012.
- 32) arette JE, Raaben M, Wong AC, Herbert AS, Obernosterer G, Mulherkar N, Kuehne AI, Kranzusch PJ, Griffin AM, Ruthel G, Dal Cin P, Dye JM, Whelan SP, Chandran K, Brummelkamp TR. Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick

- C1. *Nature* 477:340-343, 2011.
- 33) Côté M, Misasi J, Ren T, Bruchez A, Lee K, Filone CM, Hensley L, Li Q, Ory D, Chandran K, Cunningham J. Small molecule inhibitors reveal Niemann-Pick C1 is essential for Ebola virus infection. *Nature* 477:344-348, 2011.
- 34) Shedlock DJ, Bailey MA, Popernack PM, Cunningham JM, Burton DR, Sullivan NJ. Antibody-mediated neutralization of Ebola virus can occur by two distinct mechanisms. *Virology* 401:228-235, 2010.
- 35) Dias JM, Kuehne AI, Abelson DM, Bale S, Wong AC, Halfmann P, Muhammad MA, Fusco ML, Zak SE, Kang E, Kawaoka Y, Chandran K, Dye JM, Saphire EO. A shared structural solution for neutralizing ebolaviruses. *Nat Struct Mol Biol* 18:1424-1427, 2011.
- 36) Takada A. Do therapeutic antibodies hold the key to an effective treatment for Ebola hemorrhagic fever? *Immunotherapy* 5:441-443, 2013.
- 37) Kajihara M, Marzi A, Nakayama E, Noda T, Kuroda M, Manzoor R, Matsuno K, Feldmann H, Yoshida R, Kawaoka Y, Takada A. Inhibition of Marburg virus budding by nonneutralizing antibodies to the envelope glycoprotein. *J Virol* 86:13467-13474, 2012.
- 38) Nakayama E, Takada A. Ebola and Marburg Viruses. *J Disaster Res* 6:381-389, 2011.
- 39) Sullivan NJ, Sanchez A, Rollin PE, Yang ZY, Nabel GJ. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature* 408:605-609, 2000.
- 40) Jones SM, Feldmann H, Ströher U, Geisbert JB, Fernando L, Grolla A, Klenk HD, Sullivan NJ, Volchkov VE, Fritz EA, Daddario KM, Hensley LE, Jahrling PB, Geisbert TW. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat Med* 11:786-790, 2005.
- 41) Bukreyev A, Rollin PE, Tate MK, Yang L, Zaki SR, Shieh WJ, Murphy BR, Collins PL, Sanchez A. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. *J Virol* 81:6379-6388, 2007.
- 42) Herbert AS, Kuehne AI, Barth JF, Ortiz RA, Nichols DK, Zak SE, Stonier SW, Muhammad MA, Bakken RR, Prugar LI, Olinger GG, Groebner JL, Lee JS, Pratt WD, Custer M, Kamrud KI, Smith JF, Hart MK, Dye JM. Venezuelan equine encephalitis virus replicon particle vaccine protects nonhuman primates from intramuscular and aerosol challenge with ebolavirus. *J Virol* 87:4952-4964, 2013.
- 43) Feldmann H, Jones SM, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Ströher U, Grolla A, Bray M, Fritz EA, Fernando L, Feldmann F, Hensley LE, Geisbert TW. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog* 3:e2, 2007.
- 44) Geisbert TW, Hensley LE, Geisbert JB, Leung A, Johnson JC, Grolla A, Feldmann H. Postexposure treatment of Marburg virus infection. *Emerg Infect Dis* 16:1119-1122, 2010.
- 45) Rampling T, Ewer K, Bowyer G, Wright D, Imoukhuede EB, Payne R, Hartnell F, Gibani M, Bliss C, Minhinick A, Wilkie M, Venkatraman N, Poulton I, Lella N, Roberts R, Sierra-Davidson K, Krähling V, Berrie E, Roman F, De Ryck I, Nicosia A, Sullivan NJ, Stanley DA, Ledgerwood JE, Schwartz RM, Siani L, Colloca S, Folgori A, Di Marco S, Cortese R, Becker S, Graham BS, Koup RA, Levine MM, Moorthy V, Pollard AJ, Draper SJ, Ballou WR, Lawrie A, Gilbert SC, Hill AV. A Monovalent Chimpanzee Adenovirus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med* (in press).
- 46) ClinicalTrials.gov. A study to find out if the new Ebola vaccine is safe and stimulates immunity that might protect adults in Kilifi, Kenya. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02296983>, 2015.
- 47) Ebola test vaccines appear safe in Phase 2 Liberian clinical trial. <http://www.nih.gov/news/health/mar2015/niid-26a.htm>, 2015.
- 48) Marzi A, Halfmann P, Hill-Batorski L, Feldmann F, Shupert WL, Neumann G, Feldmann H, Kawaoka Y. Vaccines. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science* 348:439-442, 2015.
- 49) Marzi A, Engelmann F, Feldmann F, Haberthur K, Shupert WL, Brining D, Scott DP, Geisbert TW, Kawaoka Y, Katze MG, Feldmann H, Messaoudi I. Antibodies are necessary for rVSV/ZEBOV-GP-mediated protection against lethal Ebola virus challenge in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:1893-1898, 2013.
- 50) Takada A, Feldmann H, Ksiazek TG, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J Virol* 77:7539-7544, 2003.
- 51) Nakayama E, Tomabeche D, Matsuno K, Kishida N, Yoshida R, Feldmann H, Takada A. Antibody-dependent enhancement of Marburg virus infection. *J Infect Dis Suppl* 3:S978-985, 2011.
- 52) Takada A, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications. *Rev Med Virol* 13:387-398, 2003.
- 53) Takada A, Ebihara H, Feldmann H, Geisbert TW, Kawaoka Y. Epitopes required for antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J Infect Dis* 196 Suppl 2:S347-356, 2007.
- 54) Nakayama E, Yokoyama A, Miyamoto H, Igarashi M, Kishida N, Matsuno K, Marzi A, Feldmann H, Ito K, Saijo M, Takada A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin Vaccine Immunol* 17:1723-1728, 2010.
- 55) Geisbert TW, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Young HA, Formenty P, Fritz EA, Larsen T, Hensley LE. Marburg virus Angola infection of rhesus macaques: pathogenesis and treatment with recombinant nematode anticoagulant protein c2. *J Infect Dis* 196 Suppl 2:S372-381, 2007.
- 56) Geisbert TW, Hensley LE, Jahrling PB, Larsen T, Geisbert JB, Paragas J, Young HA, Fredeking TM, Rote WE, Vlasuk GP. Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. *Lancet* 362:1953-1958, 2003.
- 57) Hensley LE, Stevens EL, Yan SB, Geisbert JB, Macias WL, Larsen T, Daddario-DiCaprio KM, Cassell GH, Jahrling PB, Geisbert TW. Recombinant human acti-

- vated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 196 Suppl 2:S390-399, 2007.
- 58) Matsuno K, Takada A. Antibody Therapy as a future treatment option for Ebola virus infection. *Future Virol* 2:607-614, 2007.
 - 59) Oswald WB, Geisbert TW, Davis KJ, Geisbert JB, Sullivan NJ, Jahrling PB, Parren PW, Burton DR. Neutralizing antibody fails to impact the course of Ebola virus infection in monkeys. *PLoS Pathog* 3:e9, 2007.
 - 60) Dye JM, Herbert AS, Kuehne AI, Barth JF, Muhammad MA, Zak SE, Ortiz RA, Prugar LI, Pratt WD. Postexposure antibody prophylaxis protects nonhuman primates from filovirus disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:5034-5039, 2012.
 - 61) Marzi A, Yoshida R, Miyamoto H, Ishijima M, Suzuki Y, Higuchi M, Matsuyama Y, Igarashi M, Nakayama E, Kuroda M, Saijo M, Feldmann F, Brining D, Feldmann H, Takada A. Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of Ebola hemorrhagic fever. *PLoS One* 7:e36192, 2012.
 - 62) Qiu X, Audet J, Wong G, Pillet S, Bello A, Cabral T, Strong JE, Plummer F, Corbett CR, Alimonti JB, Koberinger GP. Successful treatment of ebola virus-infected cynomolgus macaques with monoclonal antibodies. *Sci Transl Med* 4:138ra81, 2012.
 - 63) Olinger GG Jr, Pettitt J, Kim D, Working C, Bohorov O, Bratcher B, Hiatt E, Hume SD, Johnson AK, Morton J, Pauly M, Whaley KJ, Lear CM, Biggins JE, Scully C, Hensley L, Zeitlin L. Delayed treatment of Ebola virus infection with plant-derived monoclonal antibodies provides protection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:18030-18035, 2012.
 - 64) Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, Fausther-Bovendo H, Wei H, Aviles J, Hiatt E, Johnson A, Morton J, Swope K, Bohorov O, Bohorova N, Goodman C, Kim D, Pauly MH, Velasco J, Pettitt J, Olinger GG, Whaley K, Xu B, Strong JE, Zeitlin L, Koberinger GP. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 514:47-53, 2014.
 - 65) McCarthy M. US signs contract with ZMapp maker to accelerate development of the Ebola drug. *BMJ* 349:g5488, 2014.
 - 66) Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, Sangawa H, Uehara S, Kozaki K, Nomura N, Egawa H, Shiraki K. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother* 49:981-986, 2005.
 - 67) Sangawa I, Komeno T, Nishikawa H, Yoshida A, Takahashi K, Nomura N, Furuta Y. Mechanism of action of T-705 ribosyl triphosphate against influenza virus RNA polymerase. *Antimicrob Agents Chemother* 57:5202-5208, 2013.
 - 68) Smither SJ, Eastaugh LS, Steward JA, Nelson M, Lenk RP, Lever MS. Postexposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Res* 104:153-155, 2014.
 - 69) Oestereich L, Ludtke A, Wurr S, Rieger T, Munoz-Fontela C, Gunther S. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res* 105:17-21, 2014.
 - 70) Kupferschmidt K, Cohen J. Infectious diseases. Ebola drug trials lurch ahead. *Science* 347:701-702, 2015.
 - 71) Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA, Dong L, Retterer CJ, Eaton BP, Pegoraro G, Honnold S, Bantia S, Kotian P, Chen X, Taubenheim BR, Welch LS, Minning DM, Babu YS, Sheridan WP, Bavari S. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* 508:402-405, 2014.
 - 72) Geisbert TW, Lee AC, Robbins M, Geisbert JB, Honko AN, Sood V, Johnson JC, de Jong S, Tavakoli I, Judge A, Hensley LE, Maclachlan I. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet* 375:1896-1905, 2010.
 - 73) Heald AE, Iversen PL, Saoud JB, Sazani P, Charleston JS, Axtelle T, Wong M, Smith WB, Vutikullird A, Kaye E. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against ebola virus and marburg virus: results of two single-ascending-dose studies. *Antimicrob Agents Chemother* 58:6639-6647, 2014.

Ebola vaccine and treatment

Ayato TAKADA

Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control

Filoviruses (Ebola and Marburg viruses) cause severe hemorrhagic fever in humans and nonhuman primates. No effective prophylaxis or treatment for filovirus diseases is yet commercially available. The recent outbreak of Ebola virus disease in West Africa has accelerated efforts to develop anti-Ebola virus prophylaxis and treatment, and unapproved drugs were indeed used for the treatment of patients during the outbreak. This article reviews previous researches and the latest topics on vaccine and therapy for Ebola virus disease.