

2. B ウイルス

山田 壮一

国立感染症研究所・ウイルス第一部

B ウイルスは、マカク属サルを宿主とするヘルペスウイルスである。ヒトに感染すると非常に強い神経病原性を示す。これまでの患者報告は、北米及び英国のマカク属サルを用いた研究従事者及び飼育者に限定されており、稀な感染症と言える。1997年以降、その患者報告は途絶えていたが、2019年に日本で、また2021年に中国でそれぞれ初となるBウイルス病患者が報告された。20年以上報告がなかったBウイルス病であるが、その潜在的脅威はずっと存在していたことになる。Bウイルスが示す、ヒトへの強い神経病原性に関わるウイルス因子はほとんど明らかになっていない。また、野生のマカク属サルとの接触による感染の報告は未だ無いが、その可能性は否定されていない。本稿では、そのウイルス学的性状、患者報告例から得られたBウイルス病に関する知見及びBウイルスの遺伝子型に関して述べる。

1. はじめに

Bウイルスは通称名であり、世界で初めてBウイルスが分離同定された患者のイニシャルW.Bから取られた名称である¹⁾。正式名称は、過去にはHerpes B virus, Cercopithecine herpesvirus 1, 更にMacacine herpesvirus 1となり、現在では、Macacine alphaherpesvirus 1 (MaHV-1)となっている (https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/herpesviridae/1613/genus-simplexvirus)。その他にも、herpesvirus simiae や monkey B virus 等の名称で呼ばれているが、本稿においては、Bウイルスとして記述する。

2. B ウイルス

Bウイルスは、アジアに生息するマカク属サル（アカゲザル (*Macaca mulatta*)、カニクイザル (*Macaca fascicularis*)、ニホンザル (*Macaca fuscata*) 等) が宿主であり、通常、

不顕性感染後、神経節に潜伏感染している。一方で、他の霊長類やヒトに感染すると致死的な病態を引き起こす。ヘルペスウイルス目、ヘルペスウイルス科、アルファヘルペスウイルス亜科のシプレックスウイルス属に属するウイルスであり、ウイルスの構造は、他のヘルペスウイルスと同様に、直鎖状2本鎖DNAをゲノムとし、ゲノムは正二十面体のカプシドに取り囲まれ、更にそれを脂質膜であるエンベロープが取り囲む構造を取っている^{2,3)}。カプシドとエンベロープの間にはテグメント蛋白が存在している。単純ヘルペスウイルス (HSV)-1と-2と同様、Bウイルスの複製サイクルは迅速で、感染後約6～8時間で細胞外の子孫ウイルスが出現する⁴⁾。また、Bウイルスタンパク質の合成は、初期/早期/後期の遺伝子発現カスケードに従っていると考えられる。ゲノム構造は、アルファヘルペスウイルスに典型的な構造を有しており、HSV-1及び-2と同様に、unique long (UL) 及びunique short (US) 領域の両端に、inverted long repeat (RL) とshort repeat (RS) 配列が存在する構造をとる (図1 (a))。

1971年、アカゲザルから分離されたBウイルスがウサギの初代細胞で複製できるようになり、この株 (E2490) が「標準」または「実験室」のBウイルス株として使用されるようになった^{5,6)}。E2490株のゲノム配列報告が、最初のBウイルス全ゲノム配列情報である^{7,8,9)}。最近では、様々なマカク種から得られた複数のBウイルス株のゲノム配列決定から^{10,11)}、そのゲノムサイズは、154,958から157,447bpの範囲であり、その違いは主に、ゲノムの特定

連絡先

〒162-8640

東京都新宿区戸山1-23-1

国立感染症研究所・ウイルス第一部

TEL: 03-5285-1111 (代)

FAX: 03-5285-1180

E-mail: syamada@niid.go.jp

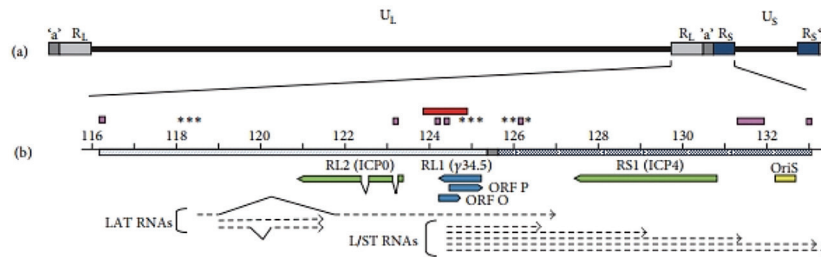


図 1 (a) B ウイルスのゲノム構成. (b) RL 領域と RS 領域の拡大図. 予測される ORF (緑), B ウイルスには存在しない HSV の ORF (青), RS 領域の DNA 複製起点 (黄), miRNA (アスタリスク), 繰り返し配列 (マゼンタ) 及び E90 Δ RL1 変異体で欠失した領域 (赤) を示した.

参考文献 [15] より引用.

の領域で繰り返される配列単位の反復回数の違いに起因している. G+C 含有率は約 75% と非常に高い. B ウイルスのゲノムは, その遺伝子構成が HSV2 および cercopithecine herpesvirus 2 (CeHV-2) と非常によく似ており, ほとんどすべての HSV 遺伝子のホモログが B ウイルスでは同じ順序と向きで存在している^{7,11,12,13}. 相同性のある B ウイルスおよび HSV-2 タンパク質の予測されるアミノ酸配列の相同性は平均 62.5% である¹¹.

一方で, RL1 (γ34.5) 遺伝子と ORF P 遺伝子の検出可能なホモログが, B ウイルスには存在しない (図 1 (b))^{12,13}. これらの遺伝子はいずれも HSV の神経病原性に参与していることが示されており, B ウイルスの神経病原性を考えると予想外であった. HSV の RL1 コーディング配列は, RL と RS 内部に存在する 'a' と表記されるリピート配列領域から約 200bp のところから始まる (図 1 (b)). しかし, どの B ウイルス株においても, 'a' リピート配列の 500bp 以内に ATG 開始コドンは見当たらない. HSV RL1 遺伝子 (または反対側の鎖にあるオーバーラップした ORF P 遺伝子) の識別可能なホモログがないにもかかわらず, RL2 開始コドンと B ウイルスゲノムの 'a' リピート配列の間の RL1 領域は, HSV とほぼ同じサイズである. このことから, B ウイルスゲノムのこの領域が何らかの機能を果たしていることが示唆されている. B ウイルスのこの領域には明確な ORF は無いが, 2つの繰り返し配列があり, この領域 (L/ST RNA の 5' 部分を含む) の RNA 構造解析により, ステムループ型の二次構造の可能性が多数示されている. この領域の配列は, アカゲザル由来の B ウイルス 15 株の間では高度に保存されているが, 異なるマカク種から分離された B ウイルス間では保存されていない¹⁴. 更に, RL1 領域の 1162bp を欠くが, RL2 (ICP0) の 5つの転写制御要素と 'a' リピート配列に隣接する 3つの miRNA のうち 2つを保持している B ウイルス変異体 (E90 Δ RL1) (図 1 (b)) を作成し, 細胞での増殖性とマウスで

の病原性が解析された¹⁴. この変異体は, Vero 細胞において親の野生型ウイルスと同様に増殖することから, ゲノムのこの領域は in vitro での B ウイルス複製に必須ではないことが示された. 一方で, 初代マウス皮膚線維芽細胞に低 MOI (0.3PFU/細胞) で感染させた場合, 感染後 24 時間までに小さなプラークを形成するが, 時間の経過とともに広がらなくなった. 低 MOI 感染後に産生される感染性ウイルスの量を測定したところ, E90 Δ RL1 変異体では, 複製は行われるものの, 感染 24 時間後に産生される感染性ウイルス量は, 野生型 B ウイルスが産生する量よりも有意に少ないことが分かった. また, 皮膚瘢痕化モデル (後述)^{15,16} を用いたマウス実験では, 変異体の LD₅₀ は親ウイルスの 104.4 PFU に対し, 変異体は 103.7 PFU であり, 感染したマウスが死亡/安楽死するまでの期間は, 両ウイルスとも同じであった (5.5-6 日). 以上のことから, B ウイルスの RL1 領域は, B ウイルスの神経病原性の主要な決定因子ではないと考えられている. また, 潜伏感染/再活性化に関わるとされる LAT は B ウイルスゲノム上には正確にはマッピングされていない. 一方で, LAT 内またはその近傍から生成されたと考えられる miRNA が次世代シーケンスを用いて検出されている^{17,18}. B ウイルスゲノム上には, 13 の miRNA がコードされている. そのうちの 4 つは, B ウイルスが潜伏感染していたカニクイザルの三叉神経節でも検出されており, これらの miRNA が B ウイルスの病原性に参与している可能性が示唆されている.

他の B ウイルス遺伝子産物の病原性への関与を調べた研究には, virion host shutoff (VHS) タンパク質をコードする UL41 遺伝子があるが, この遺伝子を欠失させても, マウスにおける B ウイルスの LD₅₀ に大きな影響は認められなかった¹⁵.

B ウイルスの細胞へのエントリーに関しては, HSV-1 で報告されている Nectin-1 がレセプターとして機能していることが報告されている¹⁹. B ウイルスと CeHV-2 から,

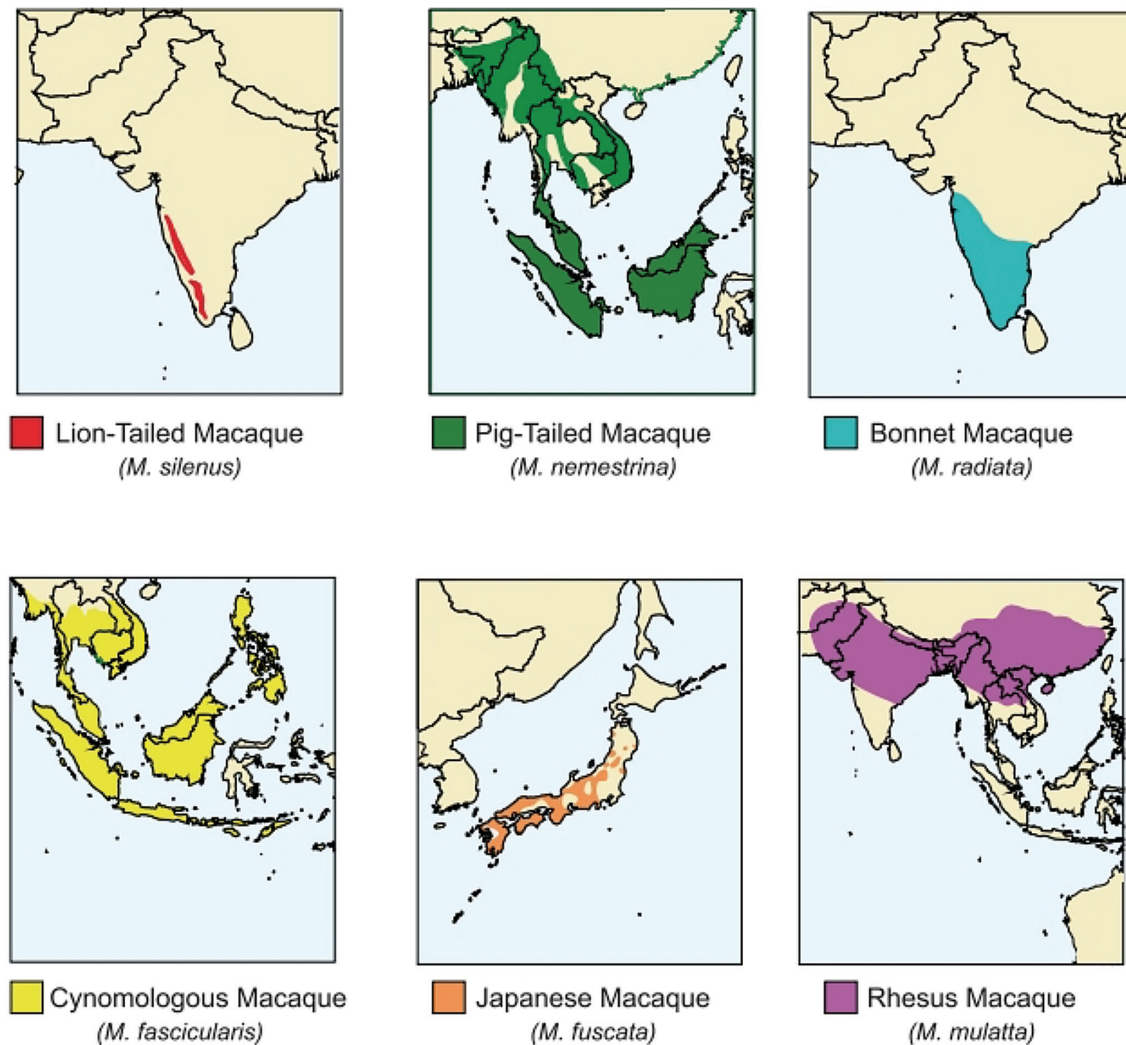


図2 アジアに生息するマカク属サル (Lion-tailed, Pig-tailed, Bonnet, Cynomologous, Japanese and Rhesus macaques) の生息域。参考文献 [49] からの引用。

HSV の融合に必要な4つの相同性のある糖タンパク質である glycoprotein B (gB), gD 及び gH/gL を用いた細胞融合アッセイにおいて, HSV-1 の gD 受容体である Nectin-1 が, B ウイルスと CeHV-2 の両方の糖タンパク質を発現する細胞の融合を仲介することが示された。しかし, もう一つの HSV-1 gD 受容体である herpesvirus entry mediator (HVEM) は, B ウイルスおよび CeHV-2 による細胞融合を促進しなかった。また, HSV-1 の gB と会合することにより膜融合を誘導する Paired Immunoglobulin-like type 2 Receptor α (PILR) も, 細胞融合を媒介しなかった。B ウイルスの感染は Nectin-1 を発現する細胞でのみ可能であったことから, HVEM と PILR はエントリー受容体として機能しないが, Nectin-1 がエントリーを仲介していることが示された。一方で, gD は, B ウイルスのマカク及びヒト細胞へのエントリーには必須ではなかった²⁰⁾。

B ウイルス感染症の動物モデルとしては, ウサギが歴史

的に使用されてきた。少し前まで, 薬剤の抗 B ウイルス活性の試験はすべてウサギを用いて行われていた^{21,22,23,24,25)}。しかし, ウサギは, その大きさ, 免疫学的試薬が比較的少ないこと, BSL4 レベルで収容し取り扱うことの難しさ, を考えると, 理想的な動物モデルとは言えない。乳児マウスは B ウイルスに感受性があり, このモデルを用いて B ウイルスが軸索-経シナプス的に伝播することが証明されている^{26,27)}。また, 若齢マウスに筋肉内 (i.m.) 注射 (噛み傷に似ている) で感染させると, アカゲザルから分離された B ウイルスのさまざまな株の神経病原性にかなりのばらつきがあることがわかったが, このモデルシステムの再現性は高くなかった²⁸⁾。しかし, 若齢の BALB/c マウスの左脇腹の毛を剃り, 18Gg 針で皮膚に軽く傷をつけ, その部位にウイルスを接種すると, ヒトに見られるものと非常に似た疾患が発生し, 再現性も高いことが分かった (皮膚癬痕化モデル)²⁹⁾。このマウスモデルは, 抗ウイル

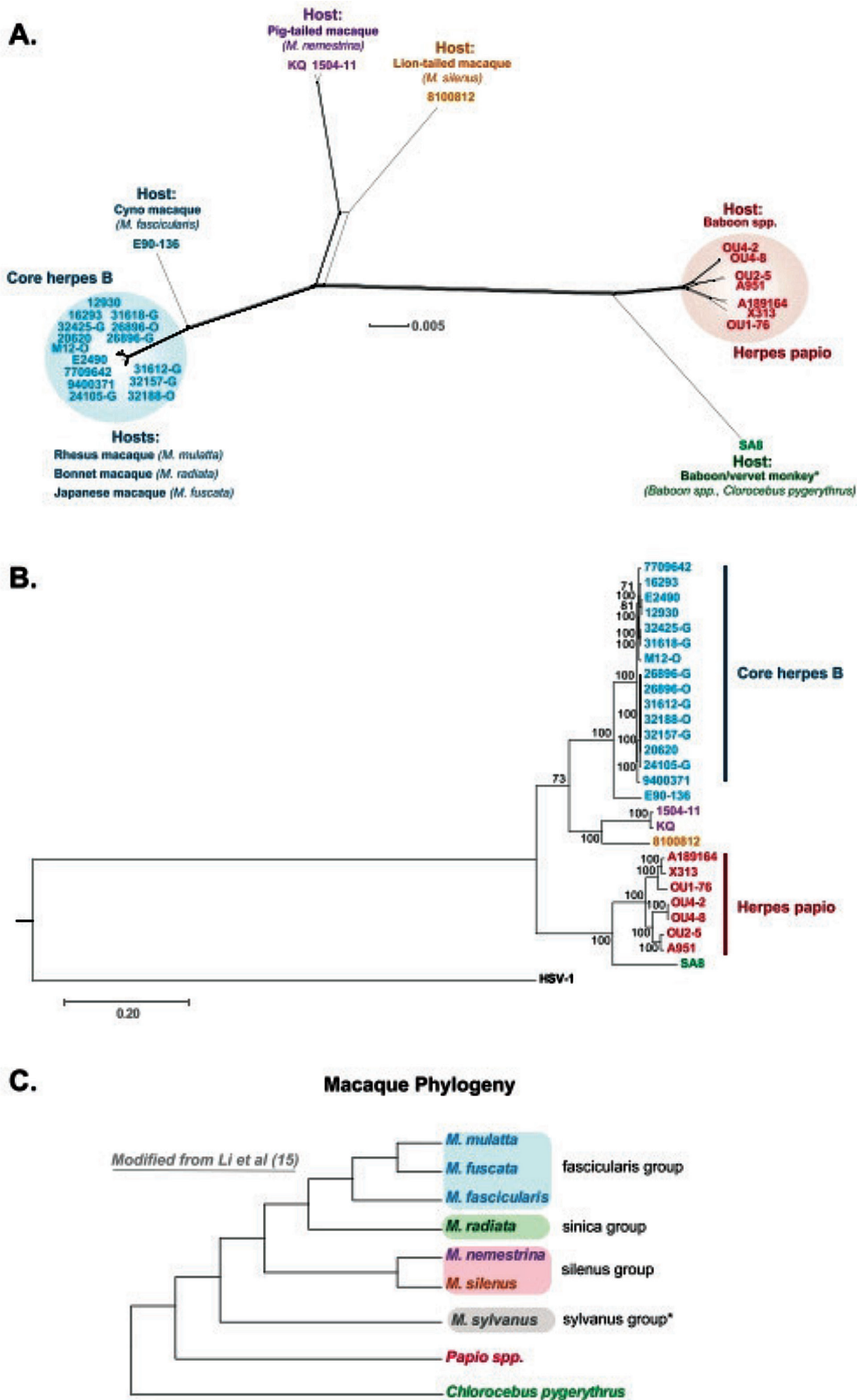


図3 旧世界ザル (OWM) 由来のシプレックスウイルスの系統解析. MAFFT ver.7.394 でアラインメントし, IQ-Tree で最適な置換モデルを算出した^{62,63}). A) SplitsTree ver.4.14 を用いてアラインメントから作成した系統樹ネットワーク. B) RAxMLGUI (GTRCATI; ver 1.3)⁶⁴) を用いて, HSV-1 をアウトグループとしたアラインメントから作成した最尤ツリー. C) マカクザルの系統樹⁴⁹). 参考文献 [50] より引用.

ス剤の有効性やBウイルスの分子学的研究に用いられている^{15,16)}。Bウイルスに感染したマウスの脳幹の病変は、単核細胞の血管周囲の凝結、神経細胞の壊死、グリオシス、網状管内の白質の破壊が特徴的であり、脊髄病変に見られるような大きな泡沫状のマクロファージを伴っていた。ウイルス抗原は神経細胞やグリア細胞内にも存在し、炎症の重症度はウイルス抗原の量に関連していた²⁸⁾。

3. Bウイルス病

Bウイルス病の症例報告は、世界で50例近く、論文報告だと28症例²⁹⁾が報告されている。Bウイルス病は、ポリオワクチンの検定やレトロウイルス及び肝炎ウイルスの研究等で、サルを用いた研究が盛んになった年代に報告が集中している。これまで、Bウイルス病の発症例報告に関連して3度の勧告が米国CDCのBウイルスワーキンググループより出されている³⁰⁾。その後、1997年の報告以降、日本での初症例まで、Bウイルス病の新規発症例報告は無かった(米国での検査報告例が1件あると言われるが、詳細は不明である)。以下に、最初の症例、ヒト-ヒト感染例及び日本と中国の症例を紹介する。

1932年の報告¹⁾が世界で初めてBウイルスが分離同定された症例である。1932年10月22日、Dr. William Bartlet Brebnerは実験中に外見上健康なアカゲザルに左手の2本の指(薬指と子指)を咬まれた。指の傷は表面的なもので、最初にヨードチンキで、次いでアルコールで消毒して、仕事を続けた。3日後、咬傷部に発赤、腫脹、痛みが見られ、リンパ管炎、所属リンパ節腫大が出現した。6日目に発熱、10日目に神経症状(上行性麻痺)が出現し、脳脊髄液の単核細胞上昇、蛋白質増加が認められた。外傷部の皮膚には水疱性病変も出現した。17日目に痙攣・昏睡状態となり、1932年11月9日に呼吸不全(呼吸筋麻痺)にて死亡した。剖検時、神経系組織には急性横断性脊髄炎と、前頭葉、橋、延髄にも炎症性変化が認められた。1933年に脳組織からウイルスが分離され、患者のイニシャルW.B.に因み、当初Wウイルスとも呼ばれたが、その後Bウイルスと呼ばれるようになった。

ヒト-ヒト感染に関しては1例のみが報告されている³¹⁾。37歳の男性が、左前腕部に、サルに噛まれたか引っ掻かれたかのような貫通傷を負った。負傷から5日後、傷口に疱疹状の小水疱ができた。病変部が痂皮化した後に皮膚科医の診察を受けたところ、病変部の擦過物(Tzanck preparation)から巨細胞が検出されたが、明瞭なウイルス封入体は検出されなかった。带状疱疹と単純疱疹との推定診断が下され、局所アシクロビルが処方されたが、患者はヒドロコルチゾンクリームで局所投与のみで対処した。その後、数日間わたって、左腕のしびれ、胸痛、呼吸困難、発熱、錯乱、嗜眠、複視、嚥下障害などの症状が認められ、何度か救急外来を受診した後、入院した。その日のうちに呼吸停止に

陥り、人工呼吸器が装着された。腰椎穿刺の結果、無菌性髄膜炎と診断され、アシクロビルの静脈内投与を受けた。入院翌日に採取した皮膚生検ではB型ウイルスが陽性であった。その後、状態が悪化し死亡した。この患者の妻は、夫の皮膚病変に使用されたヒドロコルチゾンクリームを自分の指の指輪の下の接触皮膚炎の部分にも塗っていた。この皮膚炎は非常に痒く、血が出るほど掻いていた。夫の発症後、皮膚科医の診察を受け、採取したサンプルの培養を行い、アシクロビルの内服薬を処方された。培養によりBウイルスに陽性であることが報告され、入院し、アシクロビルの点滴を受けた。皮膚炎は消失し、病状はそれ以上進行しなかった。その後、3~4日ごとに口腔内と結膜スワブの培養を行った。結膜炎の臨床的証拠は無かったが、結膜スワブの培養では18日間Bウイルスが検出された。

20年以上報告が無かったBウイルス病であったが、2019年に日本(2症例)で、2021年に中国(1症例)³²⁾で、それぞれ初となるBウイルス病症例が報告された。日本の1症例目は、2019年2月に動物実験施設でのサル実験従事者が頭痛、発熱等により医療期間を受診。同年11月に国立感染症研究所において、患者髄液を用いてBウイルス検査が行われ、Bウイルス病であることが確認された。2症例目は、1症例目の発生を受けて、同じ動物実験施設で疫学調査を行う中で確認された。過去にサルと直接的接触等があり、発症当時(2014年)採取されていた検体を改めて検査した結果、Bウイルス病が確認された症例であり、同年12月に、同様に患者髄液を用いてBウイルスの確定診断が行われた。両患者は現在も加療中である。両患者共、マカク属サルに関わる業務に従事していたが、明らかな暴露の機会は確認されていない(鹿児島市プレスリリースより)。中国では、霊長類の繁殖と実験研究を専門とする研究所に勤務する獣医外科医が2021年3月4日と6日に2匹の死んだサルを解剖し、その1ヵ月後に吐き気と嘔吐に続いて神経症状を伴う発熱を経験した。複数の病院を受診したが、最終的に、5月27日に死亡した。4月17日、この患者から脳脊髄液を採取し、次世代シーケンス(NGS)を実施したところ、アルファヘルペスウイルスの感染の可能性を示唆する285のリードが得られ、さらに、real-time PCRによるBウイルス³³⁾、水痘・带状疱疹ウイルス³⁴⁾、サル痘ウイルス及びオルトポックスウイルス³⁵⁾の検出を試み、Bウイルスのみが陽性(Cycle of threshold: 34)であった。

ヒトのBウイルス感染において重要なことは、咬傷や引っかき傷といった、明らかな暴露以外にも、当時は些細な接触と考えられていたことで感染していることである。上記以外に、ケージの掃除をしていたところ、サルの排泄物が目に入り発症した例³⁶⁾、サルの腎臓由来細胞のprimary cultureをしていた際のフラスコで負った傷から感染した例³⁷⁾等、様々な感染ルートによる感染例がある。

また、10年以上サルと関わっていないにも関わらず発症した例（潜伏感染?）³⁸⁾も報告されているが、これも発症直近のサルに関わる些細な接触（暴露）に気づいていない可能性もある。一方で、これまで、サルの末梢血への曝露がヒトへの感染を引き起こすことは確認されていない。

HSV-1に対する中和抗体がBウイルスの感染発症を防御している可能性が考えられていた。しかしながら、1957年のBウイルス病で死亡した症例³⁹⁾において、患者の血清から、HSV-1に対する中和抗体が検出されたが、病前、病中、死後に採取された血清において、その力価に変化はなかった。また、Bウイルスに対する抗体は、病気の経過中には検出されなかった。更に、分離されたウイルスは、患者血清を含むHSV-1抗血清によって中和されなかった。したがって、HSV-1に対する抗体は、Bウイルス感染に対する防御にはならないことが示唆されている。

Bウイルス病の治療に関しては、Bウイルス病発症後、呼吸停止や昏睡状態になる前にアシクロビルまたはガンシクロビルの静注で積極的な治療を受けた場合、回復する可能性が高い。一方で、患者が勝手にアシクロビル経口投与量を減らしたため、Bウイルス病が再燃した例があり³¹⁾、治療薬の投薬期間や中止時期に関する基準は定まってはいるが、症状が治まった後も、ある一定期間は抗ウイルス薬の投与を続ける必要がある。Bウイルス病から回復後、ウイルスの再活性化により再度発症した例が報告⁴⁰⁾されており、Bウイルスはヒトにおいても神経節に潜伏感染することが示唆される。そのため、治療後も、一定頻度でのフォローアップを行い、ウイルスの再活性化による再発には注意が必要である。

4. Bウイルスの遺伝子型

Bウイルスには遺伝子型が存在することがPCR-RFLP解析により報告されていた。アカゲザル由来株間ではRFLPプロファイルに差がないが⁴¹⁾、カニクイザル由来Bウイルスとの間ではRFLPプロファイルが異なる⁴²⁾こと、また、ある遺伝子領域に対するプライマー set を用いたPCRでは、特定のBウイルスを検出できないことが報告されていた⁴³⁾。その後、一部遺伝子領域(gG-gJ-gD)のシーケンスにより、それぞれのサル種に特異的なBウイルスが存在し、少なくとも3つの型、rhesus type（アカゲザル型）、cynomolgus type（カニクイザル型）及びpigtail type（ブタオザル型）に分類されることが報告された⁴⁴⁾。

ニホンザルは、自然の地理的範囲が他のどのマカク種とも重ならない種である（図2）。そのため、Bウイルスの遺伝子型が存在するとすれば、他のBウイルスの遺伝子型と最も乖離しているのではないかと予想されていた。しかしながら、米国に生息するニホンザル由来Bウイルス分離株7709642及び7709609株を用いた一部遺伝子領域(gG-gJ-gD)の系統解析の結果、ニホンザル由来Bウイルス

はアカゲザルから分離されたBウイルスと近縁であり、ブタオザルやライオンテールのマカクサルから分離されたBウイルスと離れており、アカゲザル型に分類された。この配置は、宿主となるマカク種の系統と一致している⁴⁵⁾。同様に、日本に生息しているニホンザルの三叉神経節からDNAを抽出し、一部の遺伝子UL27及びUL19の塩基配列解読による系統解析の報告でも、アカゲザルに近縁であることが示された⁴⁶⁾。ニホンザル由来BウイルスがアカゲザルのBウイルスと同じ遺伝子型であるかどうかを決定的に判断するためには、日本国内のニホンザルから分離されたBウイルスのフルゲノムの解析が必要である。また、ニホンザルは、南は九州の屋久島から北は本州の下北半島まで、日本全国に生息している。屋久島のニホンザル(*M. fuscata yakui*)は本州のニホンザル(*M. fuscata fuscata*)とは分類学的に区別されており、本州のニホンザルは地理的に孤立した数十の地域集団に分類されている⁴⁷⁾。日本の異なる地域で採取されたニホンザル由来のBウイルスの遺伝子配列や性状を解析することは、Bウイルスの分離株に、集団特異的な変異があるかどうかを知るために必要である。

Bウイルスの3つの遺伝子型のうち、ブタオザルのグループはアカゲザルとカニクイザルの遺伝子型よりも離れて分岐していた。最近の報告で、数種のマカク属サルから分離されたBウイルス19株の完全なゲノム配列を決定したところ、アカゲザルから分離されたBウイルス株間では、低いレベルの配列変異が認められるのみで、その変異は、反復配列または準反復配列の領域に位置していた。一方で、異なるマカク種から分離されたBウイルス間の配列変異ははるかに大きく、ゲノム全体に広がっていることが分かった¹¹⁾。また、ゲノム配列以外の性状として、マウスにおけるLD₅₀を調べたところ、ブタオザルとライオンテールマカク由来のウイルスのLD₅₀が、他と比べて異なることが示された。ブタオザルとライオンテールマカク由来のウイルスのLD₅₀値はともに10⁷PFU以上であったのに対し、残りのBウイルスのLD₅₀値は約10⁴PFUであった¹¹⁾。さらに、全ゲノムデータに基づく系統樹と最尤樹（図3A及びB）、および連結された(UL30/VP5/UL42)タンパク質配列に基づく系統樹は、Li⁴⁸⁾らの研究に基づくマカクの系統樹（図3C）に酷似していた⁴⁹⁾。このデータは、ブタオザルとライオンテールマカク由来のウイルスが宿主と共種であり、また、ゲノム配列及び病原性の違いから、ブタオザルとライオンテールマカク由来のウイルスが別々の、Bウイルスとは異なる新種のウイルスであることを示唆しており、現在ICTVに対して新しい分類の提案がなされている。

Bウイルス分離株は、系統発生的に異なるマカク種と平行した異なる遺伝子型に分離される。一方で、これまでフルゲノム解析が行われたアカゲザル以外のサルに由来するとされるBウイルス分離株3種（カニクイザル由来とさ

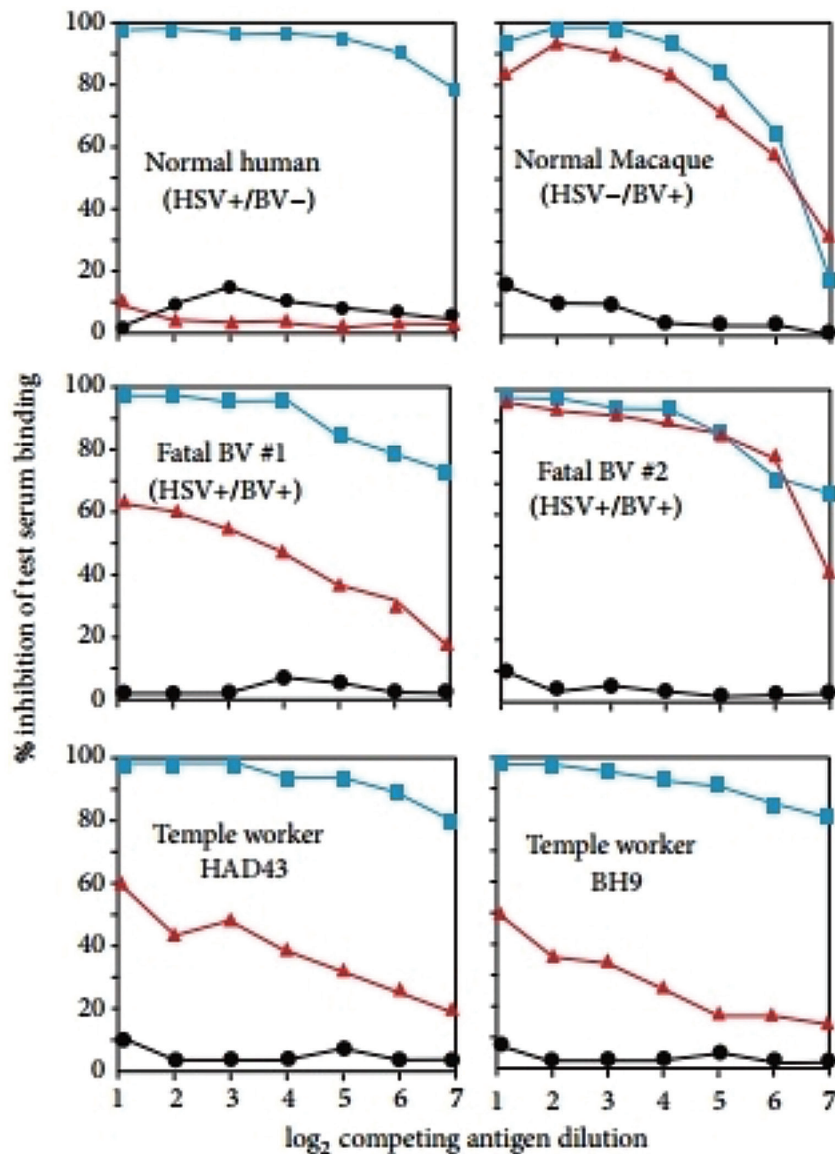


図4 monkey forest の労働者から得られた血清を用いた競合 ELISA. 可溶性抗原 (HSV-1 感染細胞 (青), BV 感染細胞 (赤), 非感染細胞 (黒) の抽出物) を用いて, HSV-1 抗原に対する競合 ELISA を行った. コントロールの HSV-1 陽性血清の結合 (上段左) は, 可溶性 HSV-1 抗原によってのみ阻害され, B ウイルス抗原やコントロール抗原によっては阻害されなかった. 固相 HSV-1 抗原に対する B ウイルス陽性のマカク血清 (HSV 陰性) の結合は, 可溶性 HSV-1 抗原と B ウイルス抗原によって同等に競合された (上段右). B ウイルス感染により死亡した 2 名の患者 (いずれも HSV1 陽性) の血清の結合は, HSV-1 と B ウイルスの両方の可溶性抗原によって競合されたが, B ウイルス抗原による競合は HSV-1 抗原による競合よりも少なかった (中段). monkey forest 労働者 2 名 (いずれも HSV-1 陽性) の血清は, B ウイルス患者の血清と同様の結合力を示した (下段). 参考文献 [15] より引用.

れる 9400371 株, ニホンザル由来とされる 7709642 株及びボンネットマカク由来とされる M12-O 株) がアカゲザル型として同定されている¹¹⁾. このうち, 9400371 株は, そもそも, その出自自体が, アカゲザル由来なのかカニクイザル由来なのかという疑問が存在している. また 7709642 株は上述したように, フルゲノムの解析が必要ではあるが, アカゲザル型に近縁であることが示されている. 一方で,

M12-O 株がアカゲザル型と同定されたことは, これらの分離株の由来となったマカクサルが, ある時点でアカゲザル型の B ウイルスに感染していたことを意味している. M12-O 株は, 2005 年に閉鎖されたコロニーで生まれた 23 歳のメスのボンネットマカクの口腔内病変から分離された⁵⁰⁾. ボンネットマカク由来の B ウイルスのゲノム情報が他に無いため, ボンネットマカクに常在する B ウイルスの遺

伝子配列がニホンザル由来のBウイルスと同様に、アカゲザル型のBウイルスと同じである可能性も考えられる。しかしながら、これまでに分離されたすべてのBウイルスの系統樹のトポロジーは、宿主であるマカク種のそれと平行しているため、マカク種の系統樹に基づけば⁴⁵⁾、ボンネットマカクに固有のBウイルスは、アカゲザル型とは異なる別のcladeに分類されると予想される。そのため、M12-Oはアカゲザル型Bウイルスによるボンネットマカクへの異種感染であることが考えられる。こうした、異種感染が起き、更にそれが潜伏感染しうることは、カニクイザルの神経節からアカゲザル型のBウイルスDNAが検出されたことから確認された⁵¹⁾。

マウスを用いた病原性解析から、アカゲザル由来のBウイルス(アカゲザル型)は、他(カニクイザル型、ブタオザル型)と比較して病原性が強いことが示唆されている。しかしながら、ヒトへの感染性や病原性との関連は明らかではなく、更なる研究が必要である。

5. おわりに

Bウイルスがヒトに感染することにより、強い神経病原性と致死性を示すことは、これまでの症例報告から明らかである。一方で、全てのマカク属サル由来のBウイルスが、同様にヒトへの感染性や病原性を有するのかわ不明である。Bウイルスの病原性や感染性に関わるウイルス因子はほとんど明らかになっていない。これには、症例数が少ないこと、分離株が少ないこと、及びBSL4を用いた解析が必要なことが影響している。今後、Bウイルスの病原性及びヒトへの感染性の実態を明らかにするためには、施設飼育下サル及びヒト症例から分離されたBウイルスの解析と共に、野生や動物園サルから分離されたBウイルスを用いて比較解析する必要がある。しかしながら、日本においては、今現在、Bウイルスを保有している施設はない。Bウイルスは、現時点においてマカク属サルを用いた研究従事者のみに、稀に報告される感染症である。一方で、その致死性と重篤な神経病原性のインパクト、また野生サルからの感染の報告が未だ無いとはいえ、その可能性が否定できない⁵²⁾ことから、サルに対するBウイルス抗体保有調査が様々なサファリパーク、動物園及び研究施設で行われている^{53,54,55)}。そして、その結果として、Bウイルス抗体陽性個体が出たサル集団全体の安楽殺処分が行われ、動物愛護の観点から、またそれにかかるコストから社会的な問題となっている。

ヒトへの無症候性のBウイルス感染症が発生する可能性に関しては明らかではない。限定的な研究では¹⁵⁾、東南アジアのmonkey forestで働いている人の血清^{56,57)}の相対的な反応性を、サルとの接触が知られていない人(陰性コントロール)およびBウイルス病で亡くなった患者(陽性コントロール)の血清を用いて、HSVおよびBウイル

ス抗原に対する競合ELISA法^{58,59)}で血清を検査したところ、2名(いずれもHSV-1陽性)の血清が、Bウイルス病患者の血清と同様の結合力を示した(図4)。典型的なBウイルス病(神経学的病変を伴う症状)と一致する病歴がないことから、これらの人々が無症候性Bウイルス感染症を経験している可能性がある。一方で、飼育されているマカクを扱う人を対象にしたBウイルス感染の血清学的証拠を調べた研究において(1件のみであるが)⁶⁰⁾、明らかな無症候性Bウイルス感染症は確認されていない。

20年近く報告が無かったBウイルス病ではあるが、その脅威に対する予防策の必要性は変わっていない。近年、Barkatiらは、サル飼育施設で働くヒトが、サルに関連した傷害を受けた際の、抗ウイルス予防の必要性を評価できるツールを報告した⁶¹⁾。また、北米とヨーロッパでマカクを使用している事実上すべての施設では、Bウイルス感染予防方針が定められている。サル(生死に関わらず)やその排出物及びケージ等を取り扱う際には、個人防護具(PPE)を適切に装着すると共に、適切な消毒を行う。サルからの排泄物に暴露(傷や眼等の粘膜への暴露)した場合は、すぐに暴露部位の洗浄を行い、医師の診察を受ける。定期的にサルの取り扱い手技やBウイルスに関しての教育を行う。ということ徹底することが、今後も重要である。

謝 辞

本総説執筆の機会をお与えいただきました荊和宏明先生をはじめ編集委員の先生方に深謝いたします。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

I have no potential conflicts of interest to declare.

参考文献

- 1) Sabin AB, Wright AM. Acute ascending myelitis following a monkey bite, with the isolation of a virus capable of reproducing the disease. *J Exp Med* 59(2):115-136 1934.
- 2) Roizman B, Pellett PE. The family Herpesviridae: a brief introduction. 2001 In: Knipe DM, Howley PM (eds) *Fields virology*. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 3) Whitely RJ, Hilliard JK. Cercopithecine herpesvirus (B virus). 2001 In: Knipe DM, Howley PM (eds) *Fields virology*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- 4) Hilliard JK, Eberle R, Lipper SL, Munoz RM, Weiss SA. Herpesvirus simiae (B virus): replication of the virus and identification of viral polypeptides in infected cells. *Arch Virol* 93:185-198 1987.
- 5) R. N. Hull and J. C. Nash. Immunization against b virus infection: Preparation of an experimental vaccine. *Am J Epidemiol* 71(1):15-28 1960.

- 6) R. N. Hull. B virus vaccine. *Lab Anim Sci* 21:1068–1071 1971.
- 7) Ludmila Perelygina, Li Zhu, Holley Zurkuhlen, Ryan Mills, Mark Borodovsky, Julia K Hilliard. Complete sequence and comparative analysis of the genome of herpes B virus (Cercopithecine herpesvirus 1) from a rhesus monkey. *J Virol* 77(11):6167–77, 2003.
- 8) K.Ohsawa, D.H.Black, H.Sato and R.Eberle. Sequence and genetic arrangement of the Us region of the monkey B virus (Cercopithecine Herpesvirus 1) genome and comparison with the Us regions of other primate herpesviruses. *J Virol* 76(3):1516–1520 2002.
- 9) K.Ohsawa, D.H.Black, H.Sato, K.Rogers and R.Eberle. Sequence and genetic arrangement of the UL region of the monkey B virus (Cercopithecine herpesvirus 1) genome and comparison with the UL region of other primate herpesviruses. *Arch Virol* 148(5):989–997,2003.
- 10) K. Ohsawa, D. Black, M. Ohsawa, and R. Eberle. Genome sequence of a pathogenic isolate of monkey B virus (species Macacine herpesvirus 1). *Arch Virol* 159(10):2819–2821 2014.
- 11) R.Eberle, L.K.Maxwell, S.Nicholson, D.Black and L.Jones-Engel. Genome sequence variation among isolates of monkey B virus (Macacine alphaherpesvirus 1) from captive macaques. *Virology* 508:26–35 2017.
- 12) A. Severini, S. D. Tyler, G. A. Peters, D. Black, and R. Eberle. Genome sequence of a chimpanzee herpesvirus and its relation to other primate alphaherpesviruses. *Arch Virol* 158(8):1825–1828 2013.
- 13) S. D. Tyler, G. A. Peters, and A. Severini. Complete genome sequence of cercopithecine herpesvirus 2 (SA8) and comparison with other simplexviruses. *Virology* 331(2):429–440 2005.
- 14) R. Eberle and L. Jones-Engel. Questioning the Extreme Neurovirulence of Monkey B Virus (Macacine alphaherpesvirus 1). *Adv Virol* 2018:5248420 doi:10.1155/2018/5248420 2018.
- 15) D. Black, J. Ritchey, M. Payton, and R. Eberle. Role of the virion host shutof protein in neurovirulence of monkey B virus (Macacine herpesvirus 1). *Virol Sin* 29(5):274–283, 2014.
- 16) Brush LA, Black DH, McCormack KA, Maxwell LK, Wright G, Ritchey JW, Payton ME, Eberle R. Papiine herpesvirus 2 as a predictive model for drug sensitivity of Macacine herpesvirus 1 (monkey B virus). *Compar Med*. 64:386–93 2014.
- 17) Melanie A. Amen and Anthony Griffiths. Identification and Expression Analysis of Herpes B Virus-Encoded Small RNAs. *J Virol* 85(14):7296–7311, 2011.
- 18) Michael I. Besecker, Mallory E. Harden, Guanglin Li, Xiu-Jie Wang, and Anthony Griffiths. Discovery of Herpes B Virus-Encoded MicroRNAs. *J Virol* 83(7):3413–3416, 2009.
- 19) Mugdha Vasireddi and Julia Hilliard. Herpes B Virus, Macacine Herpesvirus 1, Breaks Simplex Virus Tradition via Major Histocompatibility Complex Class I Expression in Cells from Human and Macaque Hosts. *J Virol* 86(23):12503–12511, 2012.
- 20) L. Perelygina, I. Patrusheva, M. Vasireddi, N. Brock, and J. Hilliard. Virus (Macacine herpesvirus 1) glycoprotein D is functional but dispensable for virus entry into macaque and humanskin cells. *J Virol* 89(10):5515–5524, 2015.
- 21) K.M.Rogers,J.W.Ritchey,M.Payton,D.H.Black,andR.Eberle. Neuropathogenesis of herpesvirus papio 2 in mice parallels infection with Cercopithecine herpesvirus 1 (B virus) in humans. *J Gen Virol* 87(2):267–276 2006.
- 22) A.M.Bennett,M.J.Slomka,D.W.G.Brown,G.Lloyd,andM.Mackett. Protection against herpes B virus infection in rabbits with a recombinant vaccinia virus expressing glycoprotein D. *J Med Virol* 57(1):47–56,1999.
- 23) E. A. Boulter and D. P. Grant. Latent infection of monkeys with B virus and prophylactic studies in a rabbit model of this disease. *J Antimicrob Chemother* 3:107– 113 1977.
- 24) E. A. Boulter, H. T. Zwartouw, and B. Tornton. Postexposure immunoprophylaxis against B virus (herpesvirus simiae) infection. *BMJ* 283(6305):1495 1981.
- 25) L. Perelygina, I. Patrusheva, H. Zurkuhlen, and J. K. Hilliard. Characterization of B virus glycoprotein antibodies induced by DNA immunization. *Arch Virol* 147(11):2057–2073 2002.
- 26) G. Gosztanyi, D. Falke, and H. Ludwig. Axonal and transsynaptic (transneuronal) spread of Herpesvirus simiae (B virus) in experimentally infected mice. *Histol Histopathol* 7(1):63–74 1992.
- 27) G. Gosztanyi, D. Falke, and H. Ludwig. Axonal-transsynaptic spread as the basic pathogenetic mechanism in B virus infection of the nervous system. *J Med Primatol* 21(1):42–43 1992.
- 28) J. W. Ritchey, M. E. Payton, and R. Eberle. Clinicopathological characterization of monkey B virus (cercopithecine herpesvirus 1) infection in mice. *J Comp Path* 132(2-3):202–217 2005.
- 29) R. Eberle and Lisa Jones-Engel. Low Incidence, High Lethality or Higher Incidence, Lower Lethality: What We Know and Don't Know About Zoonotic Macacine alphaherpesvirus 1 (Monkey B Virus). 2020 S. Knauf, L. Jones-Engel (eds.) *Neglected Diseases in Monkeys*. Springer Nature Switzerland.
- 30) Jeffrey I. Cohen, David S. Davenport, John A. Stewart, Scott Deitchman, Julia K. Hilliard, Louisa E. Chapman and the B Virus Working Group. Recommendations for Prevention of and Therapy for Exposure to B Virus (Cercopithecine Herpesvirus 1). *CID* 35:1191–203 2002.
- 31) B-virus infection in humans--Pensacola, Florida. *CDC MMWR* 36(19):289–90, 295–6 1987.
- 32) Wenling Wang, Wenjie Qi, Jingyuan Liu, Haijun Du, Li Zhao, Yang Zheng, Guoxing Wang, Yang Pan, Baoying Huang, Zhaomin Feng, Daitao Zhang, Peng Yang, Jun Han, Quanyi Wang, Wenjie Tan. First Human Infection Case of Monkey B Virus Identified in China. *China CDC weekly* 3(29):632–633, 2021.
- 33) Perelygina L, Patrusheva I, Manes N, Wildes MJ, Krug

- P, Hilliard JK. Quantitative real-time PCR for detection of monkey B virus (Cercopithecine herpesvirus 1) in clinical samples. *J Virol Methods* 109(2):245 – 51 2003.
- 34) Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Mizukami M, Morio T, Sugamoto Y, et al. Use of multiplex PCR and real-time PCR to detect human herpesvirus genome in ocular fluids of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 92(7):928–32 2008.
- 35) Ye F, Song JD, Zhao L, Zhang Y, Xia LX, Zhu LW, et al. Molecular evidence of human monkeypox virus infection, Sierra Leone. *Emerg Infect Dis* 25(6):1220 – 2 2019.
- 36) Fatal Cercopithecine herpesvirus 1 (B Virus) Infection Following a Mucocutaneous Exposure and Interim Recommendations for Worker Protection. *CDC MMWR* 47(49):1073-6, 1083 2012.
- 37) Hummeler K, Davidson WL, Henle W, LaBocchetta AC, Ruch HG. Encephalomyelitis due to infection with Herpesvirus simiae (herpes B virus): a report of two fatal, laboratory-acquired cases. *N Engl J Med* 261:64–8 1959.
- 38) Joshua Fierer and A.I. Braude, Herpes B virus encephalomyelitis presenting as ophthalmic zoster. *Ann Intern Med* 79:225-228 1973.
- 39) F. P. NAGLER, M.D. and M. KLOTZ, M.D. A fatal B virus infection in a person subject to recurrent herpes labialis. *Canada. M. A. J.* 79:743-745 1958.
- 40) Charles M. et al. Case Report: Reactivation of latent B virus (Macacine Herpesvirus 1) presenting as bilateral uveitis, retinal vasculitis and necrotizing herpetic retinitis. *iOVS* 52:2975 2011.
- 41) Slomka, M. J., L. Harrington, C. Arnold, J. P. N. Norcott, and D. W. G. Brown. Complete nucleotide sequence of the Herpesvirus simiae glycoprotein G gene and its expression as an immunogenic fusion protein in bacteria. *J Gen Virol.* 76:2161–2168 1995.
- 42) Black, D., and R. Eberle. Detection and differentiation of primate -herpes-viruses by PCR. *J. Vet. Diagn. Investig.* 9:225–231 1997.
- 43) Slomka, M. J., D. W. G. Brown, J. P. Clewley, A. M. Bennet, L. Harrington, and D. C. Kelly. Polymerase chain reaction for detection of Herpesvirus simiae (B virus) in clinical specimens. *Arch Virol.* 131:89–99 1993.
- 44) Autumn L. Smith, Darla H. Black, and R. Eberle. Molecular Evidence for Distinct Genotypes of Monkey B Virus (Herpesvirus Simiae) Which Are Related to the Macaque Host Species. *J Virol* 72(11):9224–9232 1998.
- 45) Fan P, Liu Y, Zhang Z, Zhao C, Li C, Liu W, Liu Z, Li M. Phylogenetic position of the white-cheeked macaque (*Macaca leucogenys*), a newly described primate from southeastern Tibet. *Molec Phylog Evol.* 107:80–89, 2017.
- 46) Kazutaka Ohsawa, Darla H. Black, Ryuzo Torii, Hiroshi Sato, and R. Eberle. Detection of a Unique Genotype of Monkey B Virus (Cercopithecine herpesvirus 1) Indigenous to Native Japanese Macaques (*Macaca fuscata*). *Comp Med* 52(6):555-559 2002.
- 47) Nozawa, K, T. Shotake, M. Minezawa, Y. Kawamoto, K. Hayashi, and S. Kawamoto. Population-genetic studies of the Japanese macaque, *Macaca fuscata*. 1996 p.1-36. In T. Shotake, and K. Wada (ed.), *Variations in the Asian macaques*. Tokai University Press, Tokyo.
- 48) Li J, Han K, Xing J, Kim HS, Rogers J, Ryder OA, Disotell T, Yue B, Batzer MA. Phylogeny of the macaques (Cercopithecidae: *Macaca*) based on Alu elements. *Gene* 448(2):242–9 2009.
- 49) Aaron W. Kolb and Curtis R. Brandt. Genomic nucleotide-based distance analysis for delimiting old world monkey derived herpes simplex virus species. *BMC Genomics* 21:436 <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06847-w> 2020.
- 50) Scharf BA, Wan CH, Bluth M, Eberle R, Videan EN, Smith E, Coplan J. Lethargy, ulcers, bronchopneumonia and death in two aged female bonnet macaques presumed to be caused by Cercopithecine herpesvirus 1. *J Med Primatol.* 37(Suppl 1):60–64, 2008.
- 51) 山田 壮一, 宇根 有美, 坂井 祐介, 森山亜紀子, 石嶋 慧多, 木下 一美, 原田志津子, 角崎 英志, 永田 良一, 森川 茂, 前田 健, 福士 秀悦, 西條 政幸. Genotyping of B virus infecting cynomolgus monkeys 第 68 回日本ウイルス学会学術集会 program book P1-5 p.300 2021.
- 52) Wisely SM, Sayler KA, Anderson CJ, Boyce CL, Klegarth AR, Johnson SA. Macacine herpesvirus 1 Antibody Prevalence and DNA Shedding among Invasive Rhesus Macaques, Silver Springs State Park, Florida, USA. *Emerg Infect Dis* 24:345–351 2018.
- 53) Anon. Monkeys with herpes B virus culled at a safari park. *Commun Dis Rep CDR Wkly*:102 2000.
- 54) Abbott A. French university under fire for culling macaques. *Nature* 455:145 2008.
- 55) Lee MH, Rostal MK, Hughes T, Sitam F, Lee CY, Japning J, Harden ME, Griffiths A, Basir M, Wolfe ND, Epstein JH, Daszak P. Macacine Herpesvirus 1 in Long-Tailed Macaques, Malaysia, 2009–2011. *Emerg Infect Dis* 21:1107–1113 2015.
- 56) G. A. Engel, L. Jones-Engel, M. A. Schillaci et al., Human exposure to herpesvirus B-seropositive Macaques, Bali, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 8(8):789–795 2002.
- 57) L. Jones-Engel, G. A. Engel, M. A. Schillaci et al., Primate-to-human retroviral transmission in Asia. *Emerg Infect Dis* 11(7):1028–1035 2005.
- 58) E. Luebecke, E. Dubovi, D. Black, K. Ohsawa, and R. Eberle, Isolation and characterization of a chimpanzee alphaherpesvirus. *J Gen Virol* 87(1):11–19 2006.
- 59) S. A. Tompson, J. K. Hilliard, D. Kittel et al., Retrospective analysis of an outbreak of B virus infection in a colony of DeBrazza's monkeys (*Cercopithecus neglectus*). *Comp Med* 50(6):649–657 2000.
- 60) A. G. Freifeld, J. Hilliard, J. Southers et al., A controlled seroprevalence survey of primate handlers for evidence of asymptomatic herpes b virus infection. *J Infect Dis* 171(4):1031–1034 1995.
- 61) Barkati S, Taher H, Beauchamp E, Yansouni CP, Ward

- BJ, Libman MD. Decision tool for herpes B virus antiviral prophylaxis after macaque-related injuries in research laboratory workers. *Emerg Infect Dis* 25(9): 1-6 2019.
- 62) Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30(4):772-80 2013.
- 63) Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TKF, von Haeseler A, Jermiin LS. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat Methods* 14(6):587-9 2017.
- 64) Berger SA, Krompass D, Stamatakis A. Performance, accuracy, and web server for evolutionary placement of short sequence reads under maximum likelihood. *Syst Biol.* 60(3):291-302 2011.

B virus

Souichi YAMADA

Department of Virology 1, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan.
E-mail:syamada@niid.go.jp

B virus is a herpes virus that naturally infects macaque monkeys. It is extremely neuropathogenic when infection occurs in humans. B virus infection has been reported only in laboratory workers and breeders of macaque monkeys in North America and the United Kingdom, and it is therefore recognized as a rare infectious disease. The first cases of B virus disease were reported in Japan in 2019 and in China in 2021, although no cases had been reported since 1997. Although B virus disease has not been reported for more than 20 years, the potential threat has always existed. The viral factors responsible for the strong neuropathogenicity of B virus to humans has not been identified. There are no reports of infection by contact with wild macaque monkeys, but the possibility can not be ruled out. In this paper, we describe its virological properties, findings from B virus disease from patient-reported cases, and the genotype of B virus.

