

# エボラウイルス —予防・治療薬開発の現状—

高田礼人

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

## 要約

エボラウイルスは、マールブルグウイルスとともにフィロウイルス科に属し、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、エボラウイルスの病原性および予防・治療法開発に向けた研究の現状を紹介する。

## 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*) およびキューエヴァウイルス属 (Genus *Cuevavirus*) に分類される。現在のところ、マールブルグウイルス属およびキュー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。*Reston ebolavirus* 以外のエボラウイルスはアフリカで見つかり、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。*Reston ebolavirus* はフィリピンおよび中国で見つかり、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。病原性が強いことおよび効果的な予防・治療法が実用化されていないことから、これらのウイルスは Biosafety Level 4 施設で取り扱わなければならない病原体である。

### 1. フィロウイルスによる感染症の流行

マールブルグウイルスは1967年にドイツのマールブルグ大学で発見された。ウガンダから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。一方、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伴い (*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る。2014年にギニア、リベリアおよびシエラレオネで発生したエボラ出血熱は過去に例を見ない大きな流行となり、発生国以外の近隣アフリカ諸国にも感染が拡大した。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。

### 2. 病原性

エボラウイルスの病原性は極めて高く、致死率は時に90%近くに達する。感染初期には、発熱、悪寒、倦怠、食欲不振、吐き気、下痢、呼吸速拍および筋



肉痛等の風邪に似た症状を起こす。その後、血液凝固不全に伴う点状出血、斑状出血あるいは粘膜からの出血等の症状を呈する。血液、粘液および嘔吐物等を介して粘膜や傷口から体内に侵入したエボラウイルスの最初の標的細胞は、自然免疫応答の主体である樹状細胞やマクロファージ等の抗原提示細胞と考えられている [1]。エボラウイルスの感染により、これらの細胞が機能障害あるいは異常反応を起こすことが病原性に深く関与している。また、リンパ系組織におけるリンパ球のアポトーシスも認められ、獲得免疫応答が正常に誘導されない事も高い病原性に関わっていると考えられている。感染後期には、ウイルスが全身に広がり各臓器の機能を破壊すると同時に、サイトカインストーム、血液凝固障害および血管内皮細胞機能障害などによる多臓器不全となる。エボラウイルスを実験的に接種したサルでは、感染したマクロファージが血液凝固系活性化の引き金である tissue factor を過剰に発現する [2]。その結果、播種性血管内凝固症候群 (DIC) となり、出血傾向に陥ると考えられている。また、感染したマクロファージから過剰分泌される tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin (IL)-1 $\beta$  あるいは IL-6 等のサイトカインは非感染マクロファージあるいは血管内皮細胞における tissue factor の発現量をさらに増加させる。同時に、TNF- $\alpha$  は血管内皮細胞の透過性を促進する [3]。ウイルスが直接感染する事による血管内皮細胞の障害によって、血液凝固・線溶系の破綻を引き起こす可能性もある。以上のような血液凝固制御系の異常および血管内皮細胞機能障害が「出血熱」という特徴的な症状を引き起こすと考えられている。一方、2014年の西アフリカにおける流行の病因となったエボラウイルス (*Zaire ebolavirus*) の症例では、典型的な出血症状が見られない例が多く [4]、最近ではエボラウイルス病と (*Ebola virus disease*) 呼ばれるようになってきた。

### 3. 動物モデル

エボラウイルスによる出血熱のモデル動物として、アカゲザルあるいはカニクイザル等の霊長動物が用いられてきた。これらの動物に、ヒトから分離されたウイルスを実験的に感染させると、ヒトにおける感染と同様の病態 (出血症状を含む) を示す。一方、霊長類以外では、齧歯類の感染モデルが用いられてきた [5]。しかし、ヒトから分離されたウイルスを直接モルモットやマウスに接種しても、不顕性感染を起こすが発症には至らない。ウイルスをこれらの動物で継代し馴化させると、数箇所の遺伝子変異を伴っ

たウイルスが選択され、齧歯類にも致死感染を引き起こすようになる。よって、致死感染と不顕性感染の違いは、エボラウイルスの増殖力/免疫回避能力と宿主免疫反応の微妙なバランスによって制御されており、ごく限られたアミノ酸変異で決定されていると考えられる [6]。しかし、マウスおよびモルモットモデルでは、血液凝固障害関連病態が霊長類におけるものと異なっており、ワクチンや治療薬の試験に適しているとは言えない側面がある [5]。実際に、マウスで効果が認められた治療法でもサルでの効果は限定的である場合がある。一方、マウスに馴化したウイルスをハムスターに感染させると、霊長類のエボラ出血熱と類似した病態を引き起こすことが確認されている [7]。

### 4. ワクチン

不活化ワクチン等の古典的な手法は、げっ歯類のエボラウイルス感染モデル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 [8]。しかし、ウイルスベクターを用いたワクチンの有効性がサルモデルでも示されている。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 [9-12]。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 [13, 14]。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。VSV および chimpanzee adenovirus 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 [15-18]。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 [19]。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。一方、ワクチン開発における大きな問題は、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 [20, 21]。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。

## 5. 治療法

エボラ出血熱に対して承認された治療薬が無いため、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 [22–24]、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。

抗体療法がその一つである。近年、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実証された。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 [25]。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 [26]。しかし、抗体療法にとってもエボラウイルス種間の高原性の違いが問題となる。これまでの研究では、エボラウイルスのプロトタイプである Zaire ウイルスが使用されてきたが、エボラウイルス 5 種の抗原性が大きく異なっているため [20, 21]、現在までに世界中で作出されたモノクローナル抗体の殆どが Zaire ebolavirus 特異的なものである。アフリカでは、Sudan ebolavirus あるいは Bundibugyo ebolavirus による流行も頻繁に報告されているが、これらの異なる種のウイルスには現在開発されている抗体は効果が無い。

2014 年の西アフリカでの流行時には、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 も治療に用いられた。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 Favipiravir は、フィロウイルスを含む広域な RNA ウイルスに對

する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害剤である事が期待され、マウスモデル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 [27, 28]。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が、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 [29]。しかし、これらの患者は他にも高度な支持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。同じく核酸類似体である 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 [30]。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<sup>71)</sup>。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 [31]。

## おわりに

エボラウイルスの予防・治療法開発には BSL-4 施設が必要である。しかし、日本にはサルを用いた大規模な動物実験が可能な BSL-4 施設が存在しないため、病原性解析等の基礎研究を十分に推進出来ないばかりか、自国で開発したワクチンや治療法の効果判定試験をも他国の BSL-4 施設に委ねなければならない状態である。日本がアジアの先進国として感染症対策における役割を果たすためにも大規模な動物実験が可能な BSL-4 施設の設置が必須である。

## 引用文献

1. Geisbert, T.W. and Hensley, L.E. 2004. Ebola virus: new insights into disease aetiopathology and possible therapeutic interventions. *Expert. Rev. Mol. Med.* 6: 1–24.
2. Geisbert, T.W., Young, H.A., Jahrling, P.B., Davis, K.J., Kagan, E., and Hensley, L.E. 2003. Mechanisms underlying coagulation abnormalities in ebola hemorrhagic fever: overexpression of tissue factor in primate monocytes/macrophages is a key event. *J. Infect. Dis.* 188: 1618–1629.
3. Feldmann, H., Bugany, H., Mahner, F., Klenk, H.D., Drenckhahn, D., and Schnittler, H.J. 1996. Filovirus-induced endothelial leakage triggered by infected



- monocytes/macrophages: *J. Virol.* 70: 2208–2214.
4. Schieffelin, J.S., Shaffer, J.G., Goba, A., Gbokie, M., Gire, S.K., Colubri, A., Sealfon, R.S., Kanneh, L., Moigboi, A., Momoh, M., Fullah, M., Moses, L.M., Brown, B.L., Andersen, K.G., Winnicki, S., Schaffner, S.F., Park, D.J., Yozwiak, N.L., Jiang, P.P., Kargbo, D., Jalloh, S., Fonnies, M., Sinnah, V., French, I., Kovoma, A., Kamara, F.K., Tucker, V., Konuwa, E., Sellu, J., Mustapha, I., Foday, M., Yillah, M., Kanneh, F., Saffa, S., Massally, J.L., Boisen, M.L., Branco, L.M., Vandi, M.A., Grant, D.S., Happi, C., Gevao, S.M., Fletcher, T.E., Fowler, R.A., Bausch, D.G., Sabeti, P.C., Khan, S.H., and Garry, R.F.; KGH Lassa Fever Program; Viral Hemorrhagic Fever Consortium; WHO Clinical Response Team. 2014. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N. Engl. J. Med.* 371: 2092–2100.
  5. Nakayama, E. and Saijo, M. 2013. Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Front. Microbiol.* 4: 267, 2013.
  6. Ebihara, H., Takada, A., Kobasa, D., Jones, S., Neumann, G., Theriault, S., Bray, M., Feldmann, H., and Kawaoka, Y. 2006. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2: e73.
  7. Ebihara, H., Zivcec, M., Gardner, D., Falzarano, D., LaCasse, R., Rosenke, R., Long, D., Haddock, E., Fischer, E., Kawaoka, Y., and Feldmann, H. 2013. A Syrian golden hamster model recapitulating ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 207: 306–318.
  8. Nakayama, E. and Takada, A. 2011. Ebola and Marburg Viruses. *J. Disaster Res.* 6: 381–389.
  9. Sullivan, N.J., Sanchez, A., Rollin, P.E., Yang, Z.Y., and Nabel, G.J. 2000. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature* 408: 605–609.
  10. Jones, S.M., Feldmann, H., Ströher, U., Geisbert, J.B., Fernando, L., Grolla, A., Klenk, H.D., Sullivan, N.J., Volchkov, V.E., Fritz, E.A., Daddario, K.M., Hensley, L.E., Jahrling, P.B., and Geisbert, T.W. 2005. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat. Med.* 11: 786–790.
  11. Bukreyev, A., Rollin, P.E., Tate, M.K., Yang, L., Zaki, S.R., Shieh, W.J., Murphy, B.R., Collins, P.L., and Sanchez, A. 2007. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. *J. Virol.* 81: 6379–6388.
  12. Herbert, A.S., Kuehne, A.I., Barth, J.F., Ortiz, R.A., Nichols, D.K., Zak, S.E., Stonier, S.W., Muhammad, M.A., Bakken, R.R., Prugar, L.I., Olinger, G.G., Groebner, J.L., Lee, J.S., Pratt, W.D., Custer, M., Kamrud, K.I., Smith, J.F., Hart, M.K., and Dye, J.M. 2013. Venezuelan equine encephalitis virus replicon particle vaccine protects nonhuman primates from intramuscular and aerosol challenge with ebolavirus. *J. Virol.* 87: 4952–4964.
  13. Feldmann, H., Jones, S.M., Daddario-DiCaprio, K.M., Geisbert, J.B., Ströher, U., Grolla, A., Bray, M., Fritz, E.A., Fernando, L., Feldmann, F., Hensley, L.E., and Geisbert, T.W. 2007. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog.* 3: e2.
  14. Geisbert, T.W., Hensley, L.E., Geisbert, J.B., Leung, A., Johnson, J.C., Grolla, A., and Feldmann, H. 2010. Postexposure treatment of Marburg virus infection. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 1119–1122.
  15. Zhu, F.C., Hou, L.H., Li, J.X., Wu, S.P., Liu, P., Zhang, G.R., Hu, Y.M., Meng, F.Y., Xu, J.J., Tang, R., Zhang, J.L., Wang, W.J., Duan, L., Chu, K., Liang, Q., Hu, J.L., Luo, L., Zhu, T., Wang, J.Z., and Chen W. 2015. Safety and immunogenicity of a novel recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in China: preliminary report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet* 385: 2272–2279.
  16. Ledgerwood, J.E., Sullivan, N.J., and Graham, B.S. 2015. Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine—Preliminary Report. *N Engl J Med.* 373: 776.
  17. Huttner, A., Dayer, J.A., Yerly, S., Combescure, C., Auderset, F., Desmeules, J., Eickmann, M., Finckh, A., Goncalves, A.R., Hooper, J.W., Kaya, G., Krähling, V., Kwilas, S., Lemaître, B., Matthey, A., Silvera, P., Becker, S., Fast, P.E., Moorthy, V., Kieny, M.P., Kaiser, L., and Siegrist, C.A. 2015. VSV-Ebola Consortium. The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomised double-blind, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect. Dis.* 15: 1156–1166.
  18. Henao-Restrepo, A.M., Longini, I.M., Egger, M., Dean, N.E., Edmunds, W.J., Camacho, A., Carroll, M.W., Doumbia, M., Draguez, B., Duraffour, S., Enwere, G., Grais, R., Gunther, S., Hossmann, S., Kondé, M.K., Kone, S., Kuisma, E., Levine, M.M., Mandal, S., Norheim, G., Riveros, X., Soumah, A., Trelle, S., Vicari, A.S., Watson, C.H., Kéïta, S., Kieny, M.P., and Röttingen, J.A. 2015. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing

- Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *Lancet* 386: 857–866.
19. Marzi, A., Halfmann, P., Hill-Batorski, L., Feldmann, F., Shupert, W.L., Neumann, G., Feldmann, H., and Kawaoka, Y. 2015. Vaccines. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science* 348: 439–442.
  20. Takada, A., Ebihara, H., Feldmann, H., Geisbert, T.W., and Kawaoka, Y. 2007. Epitopes required for antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 196 Suppl. 2: S347–356.
  21. Nakayama, E., Yokoyama, A., Miyamoto, H., Igarashi, M., Kishida, N., Matsuno, K., Marzi, A., Feldmann, H., Ito, K., Saijo, M., and Takada A. 2010. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 17: 1723–1728.
  22. Geisbert, T.W., Daddario-DiCaprio, K.M., Geisbert, J.B., Young, H.A., Formenty, P., Fritz, E.A., Larsen, T., and Hensley, L.E. 2007. Marburg virus Angola infection of rhesus macaques: pathogenesis and treatment with recombinant nematode anticoagulant protein c2. *J. Infect. Dis.* 196 Suppl. 2: S372–381.
  23. Geisbert, T.W., Hensley, L.E., Jahrling, P.B., Larsen, T., Geisbert, J.B., Paragas, J., Young, H.A., Fredeking, T.M., Rote, W.E., and Vlasuk, G.P. 2003. Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. *Lancet* 362: 1953–1958.
  24. Hensley, L.E., Stevens, E.L., Yan, S.B., Geisbert, J.B., Macias, W.L., Larsen, T., Daddario-DiCaprio, K.M., Cassell, G.H., Jahrling, P.B., and Geisbert, T.W. 2007. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 196 Suppl 2: S390–399.
  25. Qiu, X., Wong, G., Audet, J., Bello, A., Fernando, L., Alimonti, J.B., Fausther-Bovendo, H., Wei, H., Aviles, J., Hiatt, E., Johnson, A., Morton, J., Swope, K., Bohorov, O., Bohorova, N., Goodman, C., Kim, D., Pauly, M.H., Velasco, J., Pettitt, J., Olinger, G.G., Whaley, K., Xu, B., Strong, J.E., Zeitlin, L., and Koberinger, G.P. 2014. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 514: 47–53.
  26. McCarthy, M. 2014. US signs contract with ZMapp maker to accelerate development of the Ebola drug. *BMJ* 349: g5488.
  27. Smither, S.J., Eastaugh, L.S., Steward, J.A., Nelson, M., Lenk, R.P., and Lever, M.S. 2014. Postexposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Res.* 104: 153–155.
  28. Oestereich, L., Ludtke, A., Wurr, S., Rieger, T., Munoz-Fontela, C., and Gunther, S. 2014. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res.* 105: 17–21.
  29. Kupferschmidt, K. and Cohen, J. 2015. Infectious diseases. Ebola drug trials lurch ahead. *Science* 347: 701–702.
  30. Warren, T.K., Wells, J., Panchal, R.G., Stuthman, K.S., Garza, N.L., Van Tongeren, S.A., Dong, L., Retterer, C.J., Eaton, B.P., Pegoraro, G., Honnold, S., Bantia, S., Kotian, P., Chen, X., Taubenheim, B.R., Welch, L.S., Minning, D.M., Babu, Y.S., Sheridan, W.P., and Bavari, S. 2014. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* 508: 402–405.
  31. Geisbert, T.W., Lee, A.C., Robbins, M., Geisbert, J.B., Honko, A.N., Sood, V., Johnson, J.C., de Jong, S., Tavakoli, I., Judge, A., Hensley, L.E., and Maclachlan, I. 2010. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet* 375: 1896–1905.