

6. アレナウイルス感染症

谷 英樹¹⁾, 福士 秀悦¹⁾, 吉河 智城¹⁾, 西條 政幸¹⁾, 森川 茂²⁾

1) 国立感染症研究所ウイルス第一部

2) 国立感染症研究所獣医科学部

アレナウイルスはアレナウイルス科に属するウイルスの総称で、細胞内で増殖し、ウイルス粒子内に宿主細胞のリボソームが取り込まれ、これが砂状に見えるのでラテン語の砂粒 (arenosus) にちなんで命名された。感染症法において1類感染症に指定されているラッサ熱を引き起こすラッサウイルス、南米出血熱の原因ウイルスとしてフニンウイルス、グアナリトウイルス、サビアウイルス、マチュポウイルス、チャバレウイルスなどが、ヒトに強病原性のアレナウイルスとして知られている。いずれも一種病原体に指定されている。また最近では、2008年にアフリカ南部地域で小規模なウイルス性出血熱が流行し、新規のアレナウイルス (ルジョウイルス) が同定された。日本では1987年のラッサ熱患者の1症例を除きアレナウイルスによる出血熱患者の発生はないが、他のウイルス性出血熱と同様に、いつ我が国で輸入症例が発生してもおかしくない状況であることから、病状や致死率を考えると診断や治療を行えるように整備しておく必要がある。本稿では、アレナウイルス感染症について、基礎研究から診断方法、ワクチン開発までを広く概説する。

はじめに

アレナウイルス科アレナウイルス属は、現在、アフリカ大陸を起源とする旧世界アレナウイルスと主に南アメリカ大陸を起源とする新世界アレナウイルスに分類され、約30種類のウイルスが同定されている (表1)¹⁾。現在までそれ以外の地域での発生例は認められておらず、我が国においてもこれらのウイルスは存在しないため、なじみの薄いウイルス感染症のひとつである。しかしながら、比較的感染者の多いラッサウイルスは、ラッサ熱として西アフリカの流行地以外の地域での発生患者数が30人報告されており、ヨーロッパ各国や米国をはじめ世界中で輸入感染例が確認されている^{2,3)}。日本でも1987年にシエラレオネからの帰国者がラッサ熱を発症した事例が報告されている⁴⁾。

出血熱の原因となるアレナウイルスは、他の出血熱ウイルスと同様にバイオセーフティレベル (BSL)4 に分類され、BSL4 実験施設での取り扱いが必要とされる。我が国でも国立感染症研究所に高度安全研究施設が設置されているものの、現在までBSL4 としては稼働されていないために、感染性ウイルスを用いての実験ができない。BSL4 実験施設を備えているような諸外国においても施設内での実験における取り扱いの煩雑さから、アレナウイルス感染症に対する基礎研究やワクチン開発などはなかなか進んでいない。実験室診断に関しては、我が国においては国立感染症研究所ウイルス第一部が、感染性ウイルスを用いない方法で多くのアレナウイルス感染症を診断するためのシステムを開発し備えている^{5,6,7)}。

本稿では、アレナウイルス感染症についてこれまで明らかにされてきたことをウイルス学的な観点から概説したい。

アレナウイルスの種類と感染症

アレナウイルス科アレナウイルス属に分類される約30種類のウイルスのうち、9種類がヒトに出血熱等の疾患を引き起こす⁸⁾。主に、齧歯類が宿主として同定されており、ヒトは感染宿主の尿や体液に含まれるウイルスを経気道経路で吸入することにより感染する。それぞれのウイルスは、表1に示す独自の宿主動物を有している。アレナウイルス

連絡先

〒208-0011

東京都武蔵村山市学園4-7-1

国立感染症研究所ウイルス第一部第一室

TEL: 042-848-7020

FAX: 042-561-2039

E-mail: htani@nih.go.jp

表1 アレナウイルスの分類と特徴 (文献12を補足・改変)

ウイルス(略記)		宿主動物	受容体候補 (空欄は未特定)	分布地域	ヒトへの病原性 (空欄は無しor不明)	BSL分類 (特定病原体分類)
旧世界アレナ ウイルス	Dandenong	不明		オーストラリア		
	Ippy (IPPYV)	<i>Arvicanthus spp.</i>		中央アフリカ		
	Kodoko	<i>Nannomys minutoides</i>		ギニア		
	Lassa (LASV)(ラッサ)	<i>Mastomys sp.</i>	} α -DG, LSECtin, DC-SIGN, Axl, Tyro3	西アフリカ	ラッサ熱	BSL4(一種)
	Lymphocytic choriomeningitis (LCMV)	<i>Mus domesticus, Mus musculus</i>		世界中	リンパ球性脈絡髄膜炎	BSL2
	Lujo (LUJV)(ルジョ or ルヨ)	不明	non α -DG, non-TfR1?	南アフリカ	出血熱	未定
	Mobala (MOBV)(モババ)	<i>Praomys sp.</i>	α -DG	中央アフリカ		BSL2
Mopeia (MOPV)(モペイア)	<i>Mastomys natalensis</i>		モザンビーク、ジンバブエ		BSL2	
Morogoro	<i>Mastomys sp.</i>		タンザニア			
新世界アレナ ウイルス	Allpahuayo (ALLV)	<i>Oecomys bicolor, Oe.</i>		ペルー		
	Bear Canyon (BCNV)	<i>Peromyscus californicus</i>		アメリカ合衆国		
	Catarina	<i>Neotoma micropus</i>		アメリカ合衆国		
	Flexal (FLEV)	<i>Oryzomys spp.</i>		ブラジル	あり	
	Parana (PARV)	<i>Oryzomys buccinatus</i>		パラグアイ		
	Pichinde (PICV)(ピチンデ)	<i>Orzomys albigularis</i>		コロンビア		BSL2
	Piritral (PIRV)	<i>Sigmodon alstoni</i>		ベネズエラ		
	Skinner Tank	<i>Neotoma mexicana</i>		アメリカ合衆国		
	Whitewater arroyo (WWAV)	<i>Neotoma albigula</i>		アメリカ合衆国	出血熱	
	クレードB	Amapari (AMPV)(アマパリ)	<i>Oryzomys capito, Neacomys guianae</i>	Non-TfR1	ブラジル	
Chapare (CHPV)(チャパレ)		不明	TfR1	ボリビア	出血熱	BSL4(一種) (2011年1月制定)
Cupixi (CPXV)		<i>Oryzomys sp.</i>		ブラジル		
Guanarito (GTOV)(グアナリト)		<i>Zygodontomys brevicauda</i>	TfR1	ベネズエラ	ベネズエラ出血熱	BSL4(一種)
Junin (JUNV)(フニン)		<i>Calomys musculus</i>	TfR1	アルゼンチン	アルゼンチン出血熱	BSL4(一種)
Machupo (MACV)(マチュポ)		<i>Calomys callosus</i>	TfR1	ボリビア	ボリビア出血熱	BSL4(一種)
Sabia (SABV)(サビア)		不明	TfR1	ブラジル	ブラジル出血熱	BSL4(一種)
Tacaribe (TCRV)(タカリベ)		<i>Artibeus spp.</i>	Non-TfR1	トリニダード	あり	
Tamiami (TAMV)	<i>Sigmodon hispidus</i>		アメリカ合衆国			
クレードC	Latino (LATV)	<i>Calomys callosus</i>	α -DG	ボリビア		
	Olioveros (OLVV)	<i>Bolomys obscurus</i>	α -DG	アルゼンチン		
	Pampa (PAMV)	不明		アルゼンチン		
	Pinhal	<i>Calomys tener</i>		ブラジル		

*太字で記したウイルスはヒトに病原性を示し、アレナウイルス科において注目すべきウイルス。空欄はなし、もしくは不明、未定。

は抗原性などから大きく旧世界と新世界アレナウイルスに分類され、新世界アレナウイルスはさらにA, B, Cの3クレードに分類される(表1)。アレナウイルス感染症でも重要なのはラッサウイルス感染によるラッサ熱で、毎年、中央～西アフリカにかけて流行し、数万人が感染、5,000人程度が死亡していると考えられている。ラッサ熱は、ウイルス性出血熱の中で輸入症例が最も多く、ラッサ熱流行地からの海外渡航者または帰国者が潜伏期間中に移動して流行地以外で発症する事例がたびたび報告されている^{2,3)}。同様に、新世界アレナウイルスに分類されるフニンウイルス感染によるアルゼンチン出血熱はかつて年間患者数が数百から3,500名ほど(致死率30%)いたが、1991年の生ワクチンの導入により1992年以降、患者発生数は年間30-50人と劇的に減少した⁸⁾。その他の南米出血熱であるボリビア出血熱(マチュポウイルス)、ベネズエラ出血熱(グアナリトウイルス)およびブラジル出血熱(サビアウイルス)は症例こそ少ないものの、致死率は高い⁹⁾。近年、新興アレナウイルスとしては、2003-2004年にボリビアのチャパレ川流域で発生した出血熱アウトブレイク時に患者から分離されたチャパレウイルス¹⁰⁾と、2008年にザンビア共和国のルサカ(Lusaka)で発生し、南アフリカ共和国のヨハネスブルグ(Johannesburg)の病院で院内感染患者から分離されたLujo(ルジョもしくはルヨ)(ルサカとヨハネスブルグの頭文字を併せて命名)ウイルス¹¹⁾が報告され

ている。それぞれ、致死率は高いものの一時的なアウトブレイクで終息している。

その他、旧世界アレナウイルスには、ヒトには無菌性髄膜炎などを引き起こすリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)が存在する。このウイルスは、他のアレナウイルス属ウイルスと異なり世界中に広く分布しており、出血熱症状は起こさず致死率は高くないものの、最近では感染者からの臓器移植を受けた患者が感染し全員死亡する事例が数回報告されている。LCMVは古くから免疫学の基礎研究のモデルウイルスとしても利用されており、BSL2病原体であること、旧世界アレナウイルスに分類されるラッサウイルス等に比較的近い遺伝子配列を持つことから、現在もラッサウイルス研究のモデルウイルスとして利用されているだけでなく、様々な研究に使用されている。

アレナウイルスのゲノム構造と構成蛋白

アレナウイルスは、2分節(S-RNAとL-RNA)の1本鎖の(-)鎖RNAをゲノムに有するエンベロープウイルスで、S-RNAにNPとGPC(GP1, GP2前駆体)蛋白をコードする(図1)。NPは(-)センスに、GPCは(+)センスにコードされるというアンビセンス様式をとる⁹⁾。それぞれの蛋白のmRNAはゲノムの反対側から転写され、その間にある安定したヘアピン構造を持つ非翻訳遺伝子間領域(Non-coding intergenic region; IGR)で終了する(図1)⁹⁾。

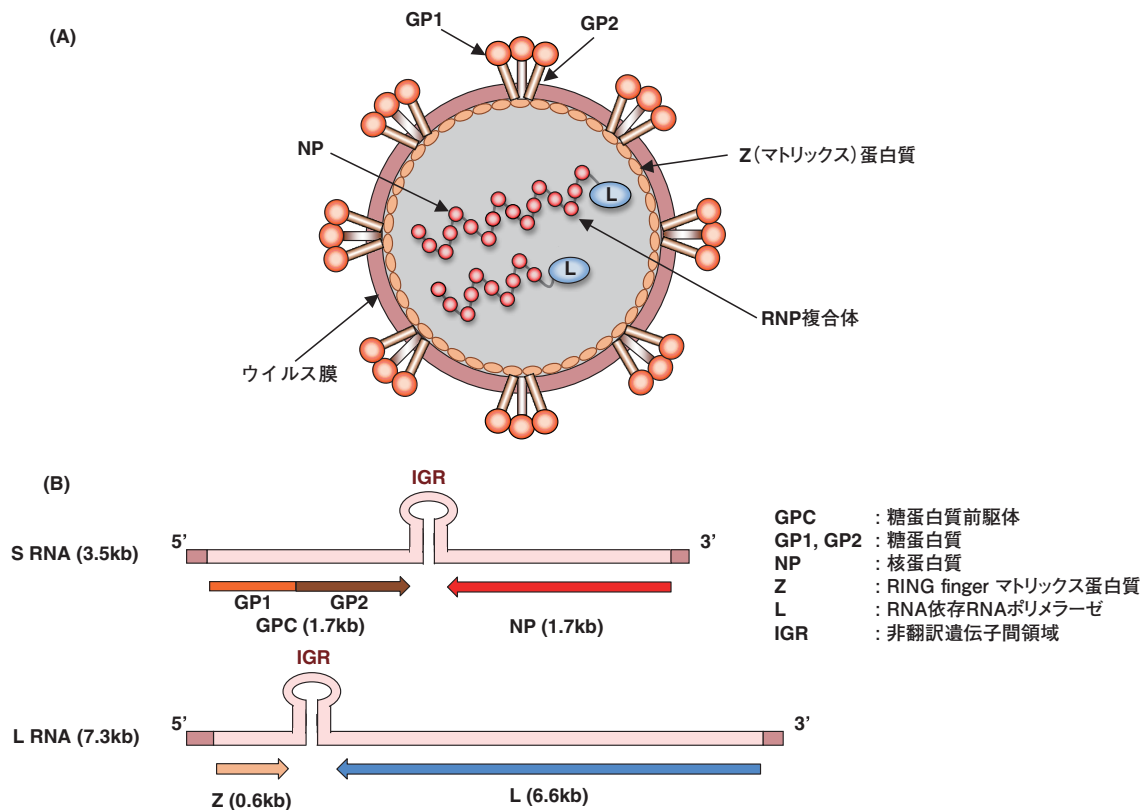


図 1 アレナウイルスの粒子構造と遺伝子構成

(A) アレナウイルス粒子の模式図。通常ウイルスサイズは直径 50-300nm。ウイルス RNA はウイルス核蛋白質 (NP) と共にリボ核蛋白質粒子 (RNP) 複合体を形成して粒子内に包含される。RNA 依存 RNA ポリメラーゼ (L) は、RNP と結合し、脱殻後、自身のゲノム転写時に作用する。Z 蛋白質はマトリックス蛋白としてウイルス膜内に結合し、GP2 の膜内領域部分と相互作用し、GP2 の成熟に関与している。(B) アレナウイルスのアンビセンスコード戦略 (コーディングストラテジー)。2つの一本鎖 RNA 断片 S と L は、それぞれ中間部分に位置する非翻訳遺伝子間領域 (IGR) によって 2 分割され、それぞれ反対方向から 2 種類の蛋白を合成するコーディングストラテジーをとる。

一方、L-RNA には、RNA 合成酵素である L 蛋白が (-) センスに、Z 蛋白が (+) センスに、それぞれコードされる⁷⁾。NP は感染細胞内およびウイルス粒子内に最も多く存在し、ウイルス ribonucleoprotein (RNP) の主要な構成成分として、またウイルス RNA の転写・複製に必須な蛋白である。近年、アレナウイルス NP が 1 型インターフェロンの誘導を抑制することが明らかとなり¹²⁾、ラッサウイルスの NP の結晶構造解析により NP の C 末領域がインターフェロン誘導抑制に関わる 3'-5' エキソリボヌクレアーゼ活性を持ち、DEDDh ファミリーに似た構造を持つことが示された^{13, 14)}。GPC は、小胞体内でサブチラーゼ SKI-1/S1P により GP1 と GP2 に開裂され、ウイルススパイク上部に位置する GP1 が細胞膜表面に存在する受容体と結合し、GP1 と N 末側でイオン結合し、C 末側に膜貫通領域を持つ GP2 が受容体結合後の膜融合に関与すると考えられている¹⁵⁾。Z 蛋白は、Zinc finger 蛋白で、他の非分節型 RNA ウイルスの M 蛋白に似た多機能的な性状を

持ち、RNA の転写や複製の阻害、蛋白質合成阻害、ウイルス粒子の成熟や出芽などに関与していることが証明されている^{16, 17)}。これらの多機能的性は Z 蛋白の構造的にフレキシブルな C 末端領域と種々の宿主因子 (eIF4E, Tsg101 等) との結合によると考えられている¹⁸⁾。

アレナウイルスの感染経路と自然宿主

アレナウイルスはいずれも齧歯類を自然宿主とし、ラッサウイルスはアフリカ大陸に広く分布するマストミス (*Mastomys natalensis*) を宿主とする (表 1)⁹⁾。ウイルスは持続感染したマストミスの排泄物や唾液に排出され、ヒトはマストミスによる咬傷、あるいは汚染物との直接接触により感染する。ヒト-ヒト間の感染も血液、排泄物との直接接触により感染する。空気感染は証明されていない。マストミスはアフリカにおいては人と共棲的に生活し、住家性ネズミに近い状態で、家あるいはその周辺に生息し、人口の増加に伴いマストミス数も増加するものと考えら

れ、衛生状態の改善は必須な課題である。フニンウイルスもヨルマウス的一种である *Calomys musculus* を自然宿主とし、同様の感染経路でヒトへ感染することが知られている。それぞれのウイルスと自然宿主においてどのように持続感染が成立するのか詳細は明らかにされていないが、いくつかのウイルスでは、同じ種類のネズミを自然宿主としており、これらの自然宿主への持続感染機構は似ているものと考えられる。

アレナウイルスの受容体

1990年代はじめに、LCMVの細胞受容体が120-150kDaの糖蛋白質であることが報告され¹⁹⁾、続けてこの蛋白質が細胞表面に広く発現している細胞膜外在性糖蛋白質である α ジストログリカン (α -DG) であることが明らかにされた²⁰⁾。 α -DGは、膜貫通糖蛋白質である β ジストログリカンに結合することにより細胞膜に結合しており、細胞外マトリックスと細胞骨格を結ぶ連結軸として細胞膜の安定化に寄与していると考えられている。LCMVに続き、同じ旧世界アレナウイルスであるラッサウイルスやモバラウイルス、モペイウイルスの他、新世界アレナウイルスのクレードCに属するウイルスも α -DGを初期受容体として利用していることが報告されている(表1)²¹⁾。しかしながら、 α -DGのリガンドであるラミニンがラッサウイルスのGPCとDGの結合を阻害するものの、ラッサウイルスの感染を阻害することはできず、他の受容体の存在も示唆されていた²²⁾。最近、 α -DG以外の受容体としてC型レクチンファミリーのLSECTinとDC-SIGN、またTAM受容体チロシンキナーゼファミリーのAxlとTyro3が新たな受容体候補として報告された²³⁾。これらの受容体は、ラッサウイルスだけでなくLCMVの細胞侵入にも関与していることが明らかとなった²⁴⁾。AxlとTyro3はエボラウイルスの細胞侵入にも関与することが既に明らかとなっており、細胞指向性や病原性との関連も興味深い^{25,26)}。

新世界アレナウイルスの受容体もマチュポウイルスのGP1蛋白質を用いたプルダウン法によりトランスフェリン受容体1 (TfR1) が同定された²⁷⁾。TfR1は、マチュポウイルスだけでなく、新世界アレナウイルスのクレードBに属するフニンウイルス、グアナリトウイルス、サビアウイルス、チャパレウイルスも受容体として利用していることが明らかとなった(表1)^{27,28)}。TfR1は、鉄を結合したトランスフェリンを細胞内に取り込むのに重要な受容体で、様々な細胞表面に発現しており、TfRには1と2が存在するが、TfR2はアレナウイルスの受容体としては機能しない²⁷⁾。また、現在までのところ、旧世界アレナウイルスではTfR1を受容体として利用する種は確認されておらず、新世界アレナウイルスと旧世界アレナウイルスでは、細胞侵入に関わる受容体分子も大きく違うことが明らかとなった。近年、新たに同定されたルジョウイルスに関して

は、まだ受容体は同定されておらず、 α -DGでもTfR1でもないことが示唆されている。新世界アレナウイルスのクレードBに属するウイルスの中にもTfR1非依存的な感染を示すウイルス(アマパリ、タカリベウイルス)が存在しており^{29,30)}、さらに、LCMVの変異体には α -DG非依存的な感染を示す株もあり³¹⁾、こうしたウイルスが利用している未知な新規受容体の同定も期待される。また、これまで受容体が明らかにされてきたウイルスでも、宿主特異性や病原性を決定付けるような第二、第三の受容体の存在も否定できず、今後の研究が期待される。

アレナウイルスの細胞侵入機構

アレナウイルスの生活環に関する基礎的研究は、感染性ウイルスを利用し難い状況から、レトロウイルスや水疱性口内炎ウイルス(VSV)を基盤としたシュードタイプウイルスを利用して、受容体の同定を含めた細胞侵入機構の解析や、一部リバーシジェネティクスが確立しているウイルスではレプリコンを用いた複製機構の解析などが進められている。遺伝子構成や転写、複製機構に関しては他の総説を参照していただき^{9,32)}、本稿では主に細胞侵入機構について近年明らかになってきたことを紹介したい。

アレナウイルスは、前述の通り、 α -DGやTfR1などの結合受容体に結合した後に、主にエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、低pH環境下で細胞の膜とウイルス膜の膜融合が起こり、脱殻され、ウイルスRNP複合体が細胞質内に放出される。LCMVやラッサウイルスは、クラスリン、カベオリン、ダイナミン、アクチンなど一般的なエンドサイトーシスに関わる分子に非依存的で、代わりに、SV40などのウイルスが利用するカベオラ/ラフト経路とは異なるコレステロール依存的な経路で侵入すると考えられている^{21,33)}。なお、 α -DGへの結合にはコレステロールは必要としないため、結合以降の段階でコレステロールが関与していると思われる³⁴⁾。最近、これらのウイルスの感染に、腔内膜小胞(intraluminal vesicles; ILV)や多胞体(multivesicular body; MVB)の形成に関与するリゾビスフォスファチジン酸やフォスファチジルイノシトール3-キナーゼが重要であることが報告され、また、AlixなどのESCRT関連蛋白質も感染に必要であることから、初期エンドソームを介さず直接MVBや後期エンドソームを介した経路を利用して細胞内輸送されることが提唱された³⁵⁾。初期エンドソームを介さないことは、インターフェロン応答の誘導を回避する手段の一つとしても考えられ、 α -DGを介した旧世界アレナウイルスの感染経路と免疫応答の関連性についても興味深い。

一方、TfR1は、トランスフェリンがクラスリン依存的なエンドサイトーシスを調べる際のマーカー分子として用いられるように、典型的なクラスリン依存的エンドサイトーシスの形態をとり、これらを受容体として利用する新

世界アレナウイルスも、クラスリン依存的エンドサイトーシスによって細胞内に侵入する²¹⁾。更に、侵入後に細胞内小胞輸送を司る Rab ファミリー分子の依存性についても解析され、TfR1 を利用するアレナウイルスは Rab5 および Rab7 に依存的に細胞侵入するのに対し、LCMV やラッサウイルスはこれらの分子に非依存的に細胞侵入することが明らかにされている²¹⁾。

アレナウイルスの膜融合に関しては、低 pH 環境下において GP2 が構造変換を起こすことで誘導される。GP2 は、レトロウイルスやパラミクソウイルスなどのウイルスエンベロープ蛋白質と同様のクラス I に分類される膜融合蛋白質である。またアレナウイルスに共通した特徴として、ウイルス間で保存された長い 58 アミノ酸からなるシグナルペプチドがある。このシグナルペプチド (stable signal peptide; SSP) は、N 末端のグリシンがミリスチン化されていて 2 箇所の疎水性領域を持つ¹⁵⁾。さらに SSP は、GP1、GP2 と共にエンベロープ蛋白質の一部として構成される構造蛋白でもあり、N 末端側の疎水性領域直後の細胞外領域にある保存された 33 位のリジンが GP2 の膜融合に重要な役割を果たしている。GP2-SSP の特徴的な膜融合における作用をターゲットとした低分子阻害薬の開発も進められており、アレナウイルスの治療薬としても期待されている^{15,36)}。

アレナウイルスのリバースジェネティクス

約 30 年前にポリオウイルスのリバースジェネティクスが確立されて以降、プラス鎖、マイナス鎖を問わず多くのウイルス種でリバースジェネティクスが確立されてきた。リバースジェネティクスが確立できると、そのウイルス種の細胞レベル、分子レベルでの生活環を解析できるだけでなく、病原性の解明や治療薬の開発に至るまで非常に有用性の高いツールとして応用できる。アレナウイルスにおいても、2000 年に LCMV のミニゲノムシステムが開発され、続けてラッサウイルス、ピチンデウイルス、タカリベウイルス、フニンウイルスで確立されている³⁷⁾。その後、完全長のクローンからの感染性ウイルスの回収も LCMV、ピチンデウイルス、フニンウイルスで可能となっている³⁷⁾。最近、ラッサウイルスでも cDNA から感染性ウイルスを回収することに成功し、様々な非翻訳領域の変異体を用いてウイルス複製や病原性の影響を検証することに応用されている³⁸⁾。またミニゲノムを利用して、エンベロープ蛋白質を他種のウイルスに置き換えたキメラウイルスも作製されており、ワクチン候補としての研究や、ラッサウイルス等 BSL4 のウイルスを本来のウイルスに近い形で比較的安全かつ簡便に取り扱えるために、様々な解析に利用されている^{39,40,41)}。ごく最近、2008 年に新規に同定されたルジョウイルスのリバースジェネティクスも確立され、今後ルジョウイルスの基礎研究も進展すると思われる⁴²⁾。

アレナウイルスの実験室診断

出血熱の原因となるアレナウイルスは、BSL4 研究施設でのみ扱うことの可能な病原体であるため、ウイルス分離検査や抗体検出用ウイルス抗原の調整には BSL4 研究施設が必要である。こうした環境下では、血液、咽頭スワブ、尿サンプルなどから Vero 細胞株や乳飲み仔マウス脳内接種等によりウイルスを分離できる。アレナウイルスは、通常 Vero 細胞などでは細胞変性効果を示さないため、特異抗体を用いてウイルスを同定する。感染病理学的検査によりウイルス抗原を検出することも可能となる⁴³⁾。

我が国では現在まで、国立感染症研究所にある高度封じ込め研究施設を BSL4 として稼働していないために、BSL4 に分類されるラッサウイルスなどは培養できない。そのため我々は、RT-PCR 法によるウイルス RNA の検出の他、株間での抗原性の交差反応性が最も高いと考えられている NP の組換え蛋白質を用いたウイルスの抗体検出法、組換え NP に対するモノクローナル抗体を用いた抗原検出 ELISA などを開発している。現在までに、ラッサウイルス⁵⁾ およびフニンウイルス⁶⁾ については、検査、診断体制が整えられており、他のアレナウイルス種においても現在取り組まれている。また、近年開発されたレトロウイルスや VSV を基盤としたシュードタイプウイルスも、感染患者血清中に存在するウイルスに対する中和抗体価を測定するのに有用なツールとなっている。これら基盤となるウイルスには緑色蛍光蛋白質やルシフェラーゼ、分泌型ヒトアルカリフォスファターゼなどのマーカー遺伝子が搭載され、シュードタイプウイルスの感染性を簡便に評価することができる。我々も既に各種アレナウイルスのエンベロープ蛋白質を外装し、感染性を保持したシュードタイプ VSV を作製しており、感染疑い患者血清の中和抗体の測定に応用している。最近までの我々のアレナウイルスに関する実験室診断法については、より詳細に記した最新の総説⁷⁾を参考にさせていただきたい。

ワクチン開発

ワクチン開発に関しては、患者数が多いラッサ熱とアルゼンチン出血熱において積極的に研究が進められている^{44,45)}。それぞれの原因ウイルスであるラッサウイルスとフニンウイルスは、共に再感染による重篤化が認められていないこともあり、一度感染し回復すれば防御免疫が持続すると考えられる⁴⁶⁾。アルゼンチン出血熱では、弱毒化フニンウイルス Candid #1 株を用いた弱毒生ワクチンが開発されており⁴⁴⁾、既にアルゼンチンでは 1991 年から使用され患者発生が激減している。一方、ラッサ熱では承認されたワクチンは存在しない。実験的には、ラッサウイルスに近縁で病原性の弱いモペイアウイルスや、モペイアウイルスとラッサウイルスのリアソータントである ML29 株を免疫す

ることによる防御効果が、モルモットやマーモセットなどを用いた動物実験において確認されている^{47, 48, 49)}。また、リバーシジェネティクス等の技術を利用したDNAベースの組換えウイルスを用いたワクチン開発も進められており、組換え黄熱ワクチン17D株にラッサウイルスのGPCを組み込んで発現する組換えウイルスのワクチンは、第II相、第III相試験まで行われているが⁵⁰⁾、組換え体の性状や安定性にまだ問題がある^{51, 52)}。VSVでも他の多くのウイルスでの応用^{53, 54, 55)}と同様に、VSVのエンベロープ遺伝子GをラッサウイルスのGPCに置き換えた自立複製型の組換えVSVを接種することで、霊長類を含む動物実験においてラッサウイルスの感染からの防御に有効であることが報告されている^{56, 57)}。その他、ベネズエラ馬脳炎ウイルスのレプリコンにGPCを組み込んだ非複製型組換えウイルス⁵⁸⁾やGPC, NP, Z蛋白質を培養細胞に発現させて作製されたウイルス様粒子⁵⁹⁾、GPCやNPを発現するプラスミドDNA⁶⁰⁾を用いたワクチン開発も進められている。しかしながら、こうしたワクチン候補は、ラッサウイルスの流行地であるアフリカの環境状態や経済状態を鑑みると、ヒトへの効果も含めて、実際に臨床現場で応用できるようになるにはまだ多くの課題が残されていると思われる。

おわりに

出血熱を引き起こすアレナウイルスは、ヒトが罹患した際の重篤度や危険性から、国際的にも病原体取り扱いレベルでは最高度のBSL4病原体に分類され、また国内における感染症法の分類で最も危険性が高いとされる1類感染症に指定されている。日本では、国立感染症研究所にBSL4施設が設置されているにも関わらず、BSL4としては稼働されていない。ラッサ熱をはじめとするウイルス性出血熱は、我が国では現在まで稀な感染症として対策も希薄になりがちではあるが、昨今、映画やマスメディアによる影響もあり、いったん国内で発生が確認されると大混乱を招く恐れもある。そのため、こうした事態が起こっても正しく対応できる診断体制や治療・予防方法の確立が求められている。ウイルスそのものを理解するための基礎研究やそれを基にした治療法やワクチン開発などの応用研究、そして、国内において感染者が発生した際に診断、対応が迅速に行えるように、他のウイルス同様、アレナウイルスを含む出血熱ウイルスに関してもハード面を含めた研究環境が整うことが期待される。

参考文献

- Charrel RN, and de Lamballerie X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet. Microbiol.* 140: 213-220, 2010.
- Beeching NJ, Fletcher TE, Hill DR, Thomson GL. Travellers and viral haemorrhagic fevers: what are the risks? *Int. J. Antimicrob. Agents. Suppl 1*: S26-35, 2010.
- Amorosa V, MacNeil A, McConnell R, Patel A, Dillon KE, Hamilton K, Erickson BR, Campbell S, Knust B, Cannon D, Miller D, Manning C, Rollin PE, Nichol ST. Imported Lassa fever, Pennsylvania, USA, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 1598-1600, 2010.
- Hirabayashi Y, Oka S, Goto H, Shimada K, Kurata T, Fisher-Hoch SP, and McCormick JB. The first imported case of Lassa fever in Japan. *Nippon Rinsho* 47: 71-75, 1989.
- Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, Romanowski V, Fukushi S, Mizutani T, Georges AJ, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin. Vaccine Immunol.* 14: 1182-1189, 2007.
- Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romanowski V, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses. *Clin. Vaccine Immunol.* 16: 1132-1138, 2009.
- Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, and Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses* 4: 2097-2114, 2012.
- Enria DA, Briggiler AM, Sánchez Z. Treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 78: 132-139, 2008.
- Buchmeier MJ, Peters CJ, and de la Torre JC. Arenaviridae: The Virus and their Replication. In *Fields Virology*, 5th ed., vol. 2, 1792-1827, 2007.
- Delgado S, Erickson BR, Agudo R, Blair PJ, Vallejo E, Albarino CG, Vargas J, Comer JA, Rollin PE, Ksiazek TG, Olson JG, and Nichol ST. Chapare virus, a newly discovered arenavirus isolated from a fatal hemorrhagic fever case in Bolivia. *PLoS Pathog.* 4: e1000047, 2008.
- Briese T, Paweska JT, McMullan LK, Hutchison SK, Street C, Palacios G, Khristova ML, Weyer J, Swanepoel R, Egholm M, Nichol ST, Ian Lipkin W. Genetic detection and characterization of Lujo virus, a new hemorrhagic fever-associated arenavirus from South Africa. *PLoS Pathog.* 5: e1000455, 2009.
- Borrow P, Martinez-Sobrido L, and de la Torre JC. Inhibition of the Type I interferon antiviral response during arenavirus infection. *Viruses* 2: 2443-2480, 2010.
- Qi X, Lan S, Wang W, Schelde LM, Dong H, Wallat GD, Ly H, Liang Y, and Dong C. Cap binding and immune evasion revealed by Lassa nucleoprotein structure. *Nature* 468: 779-783, 2010.
- Hastie KM, Kimberlin CR, Zandonatti MA, MacRae JJ, and Saphire EO. Structure of the Lassa virus nucleoprotein reveals a dsRNA-specific 3' to 5' exonuclease activity essential for immune suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108: 2396-2401, 2011.
- Nunberg JH, and York J. The curious case of arenavi-

- rus entry, and its inhibition. *Viruses* 4: 83-101, 2012.
- 16) Cornu TI, and de la Torre JC. RING finger Z protein of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) inhibits transcription and RNA replication of an LCMV S-segment minigenome. *J. Virol.* 75: 9415-9426, 2001.
 - 17) Perez M, Craven RC, and de la Torre JC. The small RING finger protein Z drives arenavirus budding: implications for antiviral strategies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 12978-12983, 2003.
 - 18) May ER, Armen RS, Mannan AM, Brooks CL 3rd. The flexible C-terminal arm of the Lassa arenavirus Z-protein mediates interactions with multiple binding partners. *Proteins* 78: 2251-2264, 2010.
 - 19) Borrow P, and Oldstone MB. Characterization of lymphocytic choriomeningitis virus-binding protein(s): a candidate cellular receptor for the virus. *J. Virol.* 66: 7270-7281, 1992.
 - 20) Cao W, Henry MD, Borrow P, Yamada H, Elder JH, Ravkov EV, Nichol ST, Compans RW, Campbell KP, and Oldstone MB. Identification of alpha-dystroglycan as a receptor for lymphocytic choriomeningitis virus and Lassa fever virus. *Science* 282: 2079-2081, 1998.
 - 21) Rojek JM, and Kunz S. Cell entry by human pathogenic arenaviruses. *Cell. Microbiol.* 10: 828-835, 2008.
 - 22) Kunz S, Rojek JM, Perez M, Spiropoulou CF, and Oldstone MB. Characterization of the interaction of lassa fever virus with its cellular receptor alpha-dystroglycan. *J. Virol.* 79: 5979-5987, 2005.
 - 23) Shimojima M, Ströher U, Ebihara H, Feldmann H, and Kawaoka Y. Identification of cell surface molecules involved in dystroglycan-independent Lassa virus cell entry. *J. Virol.* 86: 2067-2078, 2011.
 - 24) Shimojima M, and Kawaoka Y. Cell surface molecules involved in infection mediated by lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein. *J. Vet. Med. Sci.* 12-0176, 2012.
 - 25) Shimojima M, Takada A, Ebihara H, Neumann G, Fujioka K, Irimura T, Jones S, Feldmann H, and Kawaoka Y. Tyro3 family-mediated cell entry of Ebola and Marburg viruses. *J. Virol.* 80: 10109-10116, 2006.
 - 26) Hunt CL, Kolokoltsov AA, Davey RA, and Maury W. The Tyro3 receptor kinase Axl enhances macropinocytosis of Zaire ebolavirus. *J. Virol.* 85: 334-347, 2011.
 - 27) Radoshitzky SR, Abraham J, Spiropoulou CF, Kuhn JH, Nguyen D, Li W, Nagel J, Schmidt PJ, Nunberg JH, Andrews NC, Farzan M, and Choe H. Transferrin receptor 1 is a cellular receptor for New World haemorrhagic fever arenaviruses. *Nature* 446: 92-96, 2007.
 - 28) Helguera G, Jemielity S, Abraham J, Cordo SM, Martinez MG, Rodriguez JA, Bregni C, Wang JJ, Farzan M, Penichet ML, Candurra NA, and Choe H. An antibody recognizing the apical domain of human transferrin receptor 1 efficiently inhibits the entry of all new world hemorrhagic fever arenaviruses. *J. Virol.* 86: 4024-4028, 2012.
 - 29) Flanagan ML, Oldenburg J, Reignier T, Holt N, Hamilton GA, Martin VK, and Cannon PM. New world clade B arenaviruses can use transferrin receptor 1 (TfR1)-dependent and -independent entry pathways, and glycoproteins from human pathogenic strains are associated with the use of TfR1. *J. Virol.* 82: 938-948, 2008.
 - 30) Abraham J, Kwong JA, Albariño CG, Lu JG, Radoshitzky SR, Salazar-Bravo J, Farzan M, Spiropoulou CF, and Choe H. Host-species transferrin receptor 1 orthologs are cellular receptors for nonpathogenic new world clade B arenaviruses. *PLoS Pathog.* 5: e1000358, 2009.
 - 31) Kunz S, Sevilla N, Rojek JM, and Oldstone MB. Use of alternative receptors different than alpha-dystroglycan by selected isolates of lymphocytic choriomeningitis virus. *Virology* 325: 432-445, 2004.
 - 32) Meyer BJ, de la Torre JC, and Southern PJ. Arenaviruses: genomic RNAs, transcription, and replication. In *Arenaviruses* I, Vol. 262. Oldstone MB (ed.). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 139-149, 2002.
 - 33) Kunz S. Receptor binding and cell entry of Old World arenaviruses reveal novel aspects of virus-host interaction. *Virology* 387: 245-249, 2009.
 - 34) Rojek JM, Perez M, and Kunz S. Cellular entry of lymphocytic choriomeningitis virus. *J. Virol.* 82: 1505-1517, 2008.
 - 35) Pasqual G, Rojek JM, Masin M, Chatton JY, and Kunz S. Old World arenaviruses enter the host cell via the multivesicular body and depend on the endosomal sorting complex required for transport. *PLoS Pathog.* 7: e1002232, 2011.
 - 36) Lee AM, Pasquato A, Kunz S. Novel approaches in anti-arenaviral drug development. *Virology* 411: 163-169, 2011.
 - 37) Emonet SE, Urata S, de la Torre JC. Arenavirus reverse genetics: new approaches for the investigation of arenavirus biology and development of antiviral strategies. *Virology* 411: 416-425, 2011.
 - 38) Albariño CG, Bird BH, Chakrabarti AK, Dodd KA, Erickson BR, Nichol ST. Efficient rescue of recombinant Lassa virus reveals the influence of S segment noncoding regions on virus replication and virulence. *J. Virol.* 85: 4020-4024, 2011.
 - 39) Pinschewer DD, Perez M, Sanchez AB, and de la Torre JC. Recombinant lymphocytic choriomeningitis virus expressing vesicular stomatitis virus glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100: 7895-7900, 2003.
 - 40) Rojek JM, Sanchez AB, Nguyen NT, de la Torre JC, and Kunz S. Different mechanisms of cell entry by human-pathogenic Old World and New World arenaviruses. *J. Virol.* 82: 7677-7687, 2008.
 - 41) Albariño CG, Bird BH, Chakrabarti AK, Dodd KA, White DM, Bergeron E, Shrivastava-Ranjan P, Nichol ST. Reverse genetics generation of chimeric infectious Junin/Lassa virus is dependent on interaction of homologous glycoprotein stable signal peptide and G2 cytoplasmic domains. *J. Virol.* 85: 112-122, 2011.
 - 42) Bergeron E, Chakrabarti AK, Bird BH, Dodd KA, McMullan LK, Spiropoulou CF, Nichol ST, Albariño CG. Reverse genetics recovery of lujo virus and role of virus RNA secondary structures in efficient virus growth. *J. Virol.* 86: 10759-10765, 2012.
 - 43) Bausch DG, Rollin PE, Demby AH, Coulibaly M, Kanu

- J, Conteh AS, Wagoner KD, McMullan LK, Bowen MD, Peters CJ, Ksiazek TG. Diagnosis and clinical virology of Lassa fever as evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent-antibody test, and virus isolation. *J. Clin. Microbiol.* 38: 2670-2677, 2000.
- 44) Ambrosio A, Saavedra M, Mariani M, Gamboa G, Maiza A. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Hum. Vaccin.* 7: 694-700, 2011.
- 45) Grant-Klein RJ, Altamura LA, Schmaljohn CS. Progress in recombinant DNA-derived vaccines for Lassa virus and filoviruses. *Virus Res.* 162: 148-161, 2011.
- 46) Fisher-Hoch SP, McCormick JB. Towards a human Lassa fever vaccine. *Rev. Med. Virol.* 11: 331-341, 2001.
- 47) Fisher-Hoch SP, Hutwagner L, Brown B, McCormick JB. Effective vaccine for lassa fever. *J. Virol.* 74: 6777-6783, 2000.
- 48) Lukashevich IS, Patterson J, Carrion R, Moshkoff D, Ticer A, Zapata J, Brasky K, Geiger R, Hubbard GB, Bryant J, Salvato MS. A live attenuated vaccine for Lassa fever made by reassortment of Lassa and Mopeia viruses. *J. Virol.* 79: 13934-13942, 2005.
- 49) Goicochea MA, Zapata JC, Bryant J, Davis H, Salvato MS, Lukashevich IS. Evaluation of Lassa virus vaccine immunogenicity in a CBA/J-ML29 mouse model. *Vaccine* 30: 1445-1452, 2012.
- 50) Guy B, Guirakhoo F, Barban V, Higgs S, Monath TP, Lang J. Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine* 28: 632-649, 2010.
- 51) Bredenbeek PJ, Molenkamp R, Spaan WJ, Deubel V, Marianneau P, Salvato MS, Moshkoff D, Zapata J, Tikhonov I, Patterson J, Carrion R, Ticer A, Brasky K, Lukashevich IS. A recombinant Yellow Fever 17D vaccine expressing Lassa virus glycoproteins. *Virology* 345: 299-304, 2006.
- 52) Jiang X, Dalebout TJ, Bredenbeek PJ, Carrion R Jr, Brasky K, Patterson J, Goicochea M, Bryant J, Salvato MS, Lukashevich IS. Yellow fever 17D-vectored vaccines expressing Lassa virus GP1 and GP2 glycoproteins provide protection against fatal disease in guinea pigs. *Vaccine* 29: 1248-1257, 2011.
- 53) Lichty BD, Power AT, Stojdl DF, Bell JC. Vesicular stomatitis virus: re-inventing the bullet. *Trends Mol. Med.* 10: 210-216, 2004.
- 54) Tani H, Morikawa S, Matsuura Y. Development and Applications of VSV Vectors Based on Cell Tropism. *Front. Microbiol.* 2: 272, 2011.
- 55) Geisbert TW, Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J. Infect. Dis.* 204 Suppl 3: S1075-1081, 2011.
- 56) Garbutt M, Liebscher R, Wahl-Jensen V, Jones S, Möller P, Wagner R, Volchkov V, Klenk HD, Feldmann H, Ströher U. Properties of replication-competent vesicular stomatitis virus vectors expressing glycoproteins of filoviruses and arenaviruses. *J. Virol.* 78: 5458-5465, 2004.
- 57) Geisbert TW, Jones S, Fritz EA, Shurtleff AC, Geisbert JB, Liebscher R, Grolla A, Ströher U, Fernando L, Daddario KM, Guttieri MC, Mothé BR, Larsen T, Hensley LE, Jahrling PB, Feldmann H. Development of a new vaccine for the prevention of Lassa fever. *PLoS Med.* 2: e183, 2005.
- 58) Pushko P, Geisbert J, Parker M, Jahrling P, Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J Virol.* 75: 11677-11685, 2001.
- 59) Branco LM, Grove JN, Geske FJ, Boisen ML, Muncy IJ, Magliato SA, Henderson LA, Schoepp RJ, Cashman KA, Hensley LE, Garry RF. Lassa virus-like particles displaying all major immunological determinants as a vaccine candidate for Lassa hemorrhagic fever. *Virol. J.* 7: 279, 2010.
- 60) Rodriguez-Carreno MP, Nelson MS, Botten J, Smith-Nixon K, Buchmeier MJ, Whitton JL. Evaluating the immunogenicity and protective efficacy of a DNA vaccine encoding Lassa virus nucleoprotein. *Virology* 335: 87-98, 2005.

Arenavirus infections

**Hideki Tani¹⁾, Shuetsu Fukushi¹⁾, Tomoki Yoshikawa¹⁾, Masayuki Saijo¹⁾,
and Shigeru Morikawa²⁾**

1) Department of Virology I,

2) Department of Veterinary Science,

National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan.

E-mail: htani@nih.go.jp

Arenaviruses are the collective name for viruses, which belong to the family *Arenaviridae*. They replicate in the cytoplasm of cells, and were named after the sandy (Latin, *arenosus*) appearance of the ribosomes often seen in thin sections of virions under electron microscope. Several arenaviruses, such as Lassa virus in West Africa, and Junin, Guanarito, Sabia, Machupo, and Chapare viruses in South America, cause severe viral hemorrhagic fevers (VHF) in humans and represent a serious public health problem. These viruses are categorized as category 1 pathogens thus should be handled in a BSL4 laboratory. Recently, Lujo virus was isolated as a newly discovered novel arenavirus associated with a VHF outbreak in southern Africa in 2008. Although, we have no VHF patients caused by arenaviruses in Japan, except for a single imported Lassa fever case in 1987, it is possible that VHF patients occur as imported cases as for other VHF in the future. Therefore, it is necessary to develop the diagnostics and therapeutics in consideration of patient's severe symptoms and high mortality even in the disease-free countries. In this review, we will broadly discuss the current knowledge from the basic researches to diagnostics and vaccine developments for arenavirus diseases.

