

2. エボラ出血熱の制圧にむけて： ワクチン開発とシエラレオネでの研究

渡辺 登喜子, 河岡 義裕

東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野

2014～2015年のエボラ出血熱の流行は、西アフリカのギニア・リベリア・シエラレオネを中心に甚大な被害を引き起こした。エボラウイルスの発見から40年も経っているのにも関わらず、エボラ出血熱には、未だに承認された治療薬やワクチンは存在しない。そのためエボラ出血熱の予防・治療方法を確立することは急務である。本稿では、エボラワクチンの開発研究の最近の動きについて概説するとともに、今回の流行で最大の感染者が報告されたシエラレオネにおける、我々の研究室の共同研究活動についてもご紹介したい。

1. はじめに

2013年12月の発生以来、2年間にわたり西アフリカにおいて猛威を奮ったエボラ出血熱の大流行は、2016年1月14日、世界保健機関(WHO)によって終息宣言が出された。しかし小規模の再発が起こる可能性が危惧されており、引き続きの警戒が呼びかけられた。その懸念どおり、終息宣言から一夜明けた1月15日、シエラレオネにおいて新たな感染者が報告され、西アフリカでは、現在も予断を許さない状況が続いている。エボラ出血熱には、未だに承認された治療薬やワクチンは存在しないため、効果的な予防・治療方法を確立することは喫緊の課題である。以下に、我々の研究室が取り組んでいるエボラワクチンの開発研究、およびシエラレオネにおける研究活動について報告する。

2. エボラ出血熱について

1) エボラ出血熱の流行と感染様式

連絡先

〒108-8639

東京都港区白金台4丁目6-1

東京大学医科学研究所 感染・免疫部門

ウイルス感染分野

TEL: 03-6409-2207

FAX: 03-6409-2209

E-mail: tokikow@ims.u-tokyo.ac.jp

1976年、アフリカのコンゴ民主共和国(旧ザイール)とスーダンにおいて、出血熱を発症して死亡する感染症の流行が起こった。本感染症を引き起こした原因ウイルスは、発生地近くの流れるエボラ川にちなんで、“エボラウイルス”と名付けられた。エボラ出血熱の致命率は高く、約90%程度に達することもあるため、エボラウイルスは人類が発見した最も危険なウイルスの一つであるとみなされている。

エボラ出血熱の一般的な症状は、突然の発熱、筋肉痛、頭痛、喉の痛み等からはじまり、それはマラリアの症状にも似ている。その後、嘔吐、下痢、発疹、肝機能および腎機能の異常などの症状を呈し、さらに病気が悪化すると出血傾向が認められる(ただし出血症状を伴わない感染例も多く報告されていることから、最近ではエボラ出血熱を「エボラウイルス病」と呼ぶことも多いが、エボラウイルス研究者のほとんどは前者の呼び名を好んで使う)。エボラウイルスのヒトへの感染は、感染した動物やヒトの血液・体液・嘔吐物・排泄物などと直接接触することによって起こる。また犠牲者の葬儀・埋葬の際に、会葬者が遺体に直接接触するという地域の伝統的な風習も、エボラウイルスの感染伝播に寄与する。

最初の流行以来、エボラ出血熱は、コンゴ民主共和国、ガボン、ウガンダ、コンゴ共和国等の赤道アフリカ諸国において、散発的な流行を繰り返し、数名～数百名程度の感染者を出してきた。それらの流行はいわゆる「僻地」で起こっており、流行期間も数週間～4ヶ月程度と比較的短く、また感染の規模も大きくはなかった。しかし2014～2015

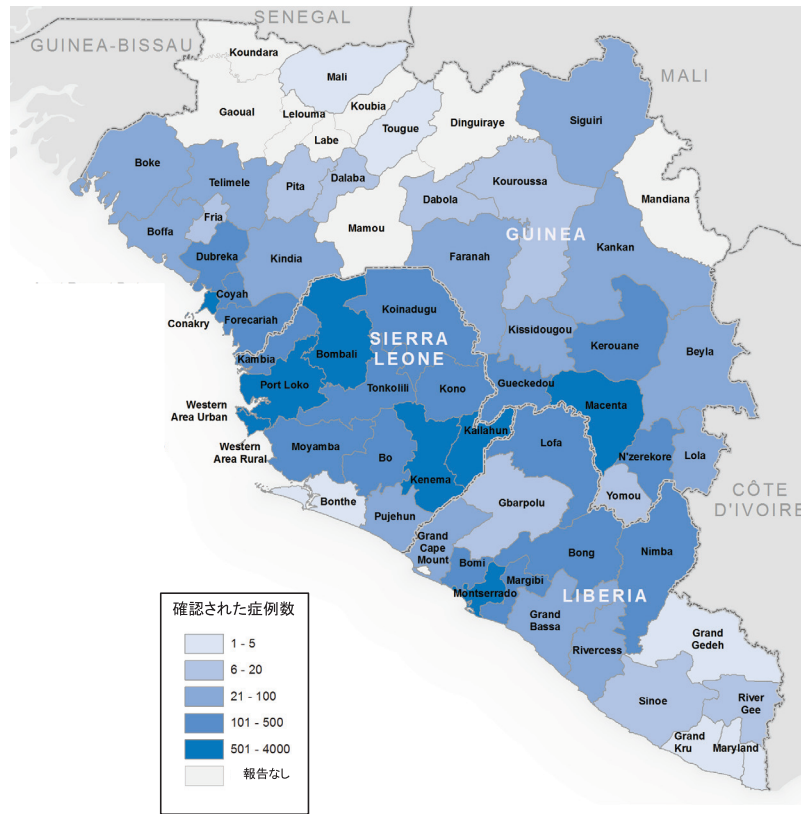


図1 西アフリカにおけるエボラ出血熱の確定例の分布図

2016年3月16日までのエボラ出血熱の確定例について、世界保健機構(WHO)から公表されたデータを引用(WHO. Ebola Situation report. 16 March 2016) (<http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-16-march-2016>)より改変。

年の西アフリカにおけるエボラ出血熱の流行は、これまでとは大きく状況が異なっていた。2013年12月にギニアで発生したエボラ出血熱は、2014年3月のギニアでの集団発生が引き金となり、住民の国境を越える移動により近隣諸国へと拡大した¹⁾。本流行は、これまでのような僻地における限局的な流行と違い、早期封じ込めに失敗してしまっため、感染は都市部を巻き込んで拡大した。流行は長期化し、28,639名もの感染者(うち11,316名が死亡)を出し(2016年3月16日現在のWHOの発表)、史上最大のエボラ出血熱の流行を引き起こした(図1)。

2) エボラウイルスの構造とライフサイクル

エボラ出血熱を引き起こすエボラウイルスは大きさが80-800nmの細長いひも状のウイルスである。ウイルスゲノムは、約19,000塩基からなるmRNAと相補的な一本鎖のRNAで、少なくとも8個のウイルス蛋白質(NP, VP35, VP40, GP, sGP, VP30, VP24およびL)をコードしている(図2)。ウイルスの表面糖蛋白質であるGPは細胞表面の受容体への結合や宿主細胞膜との膜融合を担う。エボラウイルスの感染は、ウイルス粒子が宿主細胞表面に吸

着することからはじまる。細胞表面の受容体は組織や細胞によって異なり、複数存在していると考えられている。エボラウイルスの細胞吸着に関わる宿主因子としては、DC-SIGN(dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin)などのC型レクチンや、TIM-1(T-cell immunoglobulin and mucin domain 1)、および、TAM family チロシンキナーゼ受容体などが同定されている^{19, 20, 23, 24)}。細胞表面に吸着したウイルス粒子は、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る^{16, 18)}。その後ウイルス粒子はエンドソームに移行し、エンドソーム内でGPはカテプシン等の宿主プロテアーゼによって切断される。切断されたGPと宿主因子であるNiemann-Pick C1が結合することで膜融合が引き起こされる^{4, 5, 14)}。膜融合によって細胞質内に放出されたNP, VP35, VP30, L蛋白質とウイルスRNAの複合体(ヌクレオカプシド)の働きによって、ウイルスゲノムの転写・複製が行われ¹⁵⁾、新しく合成されたウイルスRNAとウイルス蛋白質がアセンブリーし、子孫ウイルスが形成される。その過程において、マトリックス蛋白質であるVP40はウイルス粒子形成に、VP24はヌクレオカプシド形成に、それぞれ関与すると考

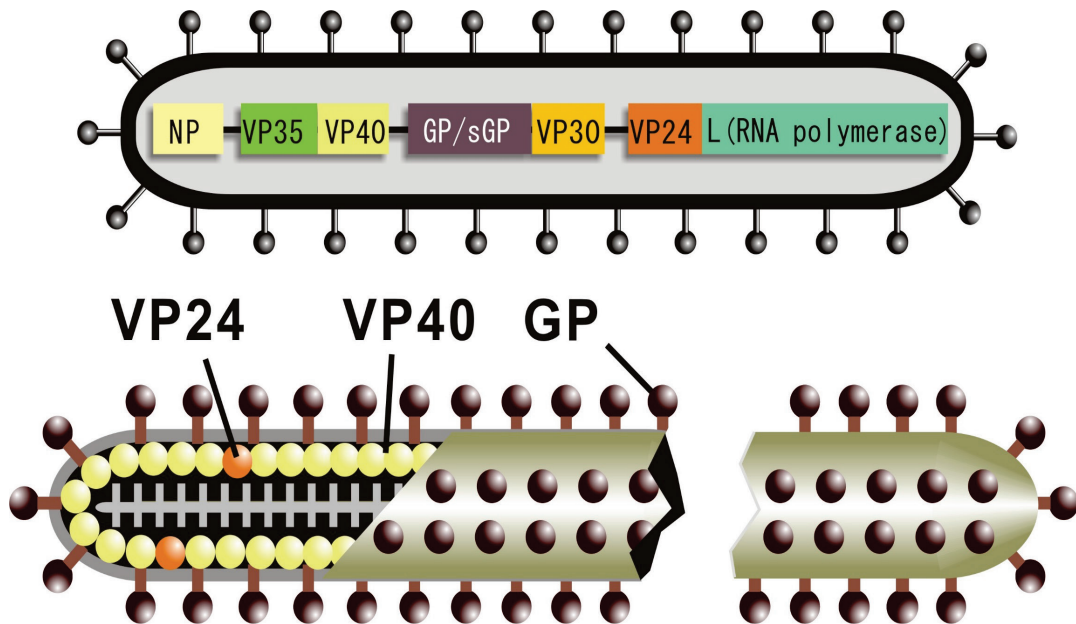


図2 エボラウイルスの構造

エボラウイルスのゲノムは、約 19,000 塩基からなる mRNA と相補的な一本鎖の RNA で、少なくとも 8 個のウイルス蛋白質 (NP, VP35, VP40, GP, sGP, VP30, VP24 および L) をコードしている。ウイルスエンベロープには表面糖蛋白質 GP が存在し、ウイルス粒子の内側はマトリックス蛋白質 VP40 が裏打ちしている。ウイルス粒子内部では、核蛋白質 NP, VP30, VP35, およびポリメラーゼ蛋白質 L がゲノム RNA と結合し、らせん状のヌクレオカプシドを形成する。

えられている^{2, 8-10, 17, 25)}。

3. 最近のエボラワクチンの開発研究

1) 臨床研究中のエボラワクチン

エボラウイルスそのものを使った研究は、バイオセーフティーレベル (BSL) 4 実験施設でしか行うことができない。このような困難な状況の中でエボラワクチンの研究が進められているが、最近、エボラウイルスの良い感染モデルであるサルにおいて、優れた感染防御効果を示すワクチン候補が報告されている^{3, 11, 22, 26)}。なかでも特に注目されているのが、水疱性口炎ウイルス (vesicular stomatitis virus; VSV) とチンパンジーアデノウイルス (chimpanzee adenovirus) をそれぞれベクターとして用いた二種類のワクチンである (それぞれ “rVSV-ZEBOV” および “ChAd3-ZEBOV” と呼ばれている)。

VSV をベクターとした rVSV-ZEBOV は、VSV の表面糖蛋白質 G をエボラウイルスの表面糖蛋白質 GP に置き換えたりコンビナントウイルスである。一方、チンパンジーアデノウイルスをベクターとした ChAd3-ZEBOV は、ウイルス蛋白質の合成を誘導する初期遺伝子である E1 領域をエボラウイルスの GP に置き換えており、E1 蛋白質を供給する細胞株でのみ増えることが出来る。それぞれのワクチンはサルを用いた感染防御試験において素晴らしい効果を示した^{6, 12, 21)}。しかし、rVSV-ZEBOV は生ワクチン

であるため、臨床試験において関節炎などの副作用が確認されており、また、ChAd3-ZEBOV は、免疫に大量のウイルスを必要とするため、ワクチンウイルス製造の効率化が課題となっている。

両ワクチンは、今回の西アフリカのエボラ出血熱の流行時に緊急使用された。現在臨床試験が進められているが、今後のエボラ対策のためにも、上記の問題点を早急に克服し、少しでも早くエボラワクチンが実用化されることを期待したい。

2) 開発研究中のワクチンの例：VP30 欠損エボラウイルスワクチン

上記のワクチン以外にも、エボラワクチンの開発研究が進められている。我々の研究グループでは、効果的で安全なエボラワクチンを開発するため、エボラウイルスの増殖に必須の遺伝子 VP30 を欠損した変異エボラウイルス (以後、“エボラ ΔVP30 ウイルス” と呼ぶ) を作出した⁷⁾。このエボラ ΔVP30 ウイルスは、通常の細胞では増えないが、VP30 蛋白質を発現する人工細胞で効率良く増殖することができる (図 3)。したがって、エボラ ΔVP30 ウイルスは、特定の人工細胞でしか増えられないため安全である。また、上述の ChAd3-ZEBOV と rVSV-ZEBOV がエボラウイルス由来の蛋白質を GP しか持っていないのに対して、エボラ ΔVP30 ウイルスは、エボラウイルスを構成するほぼ全て

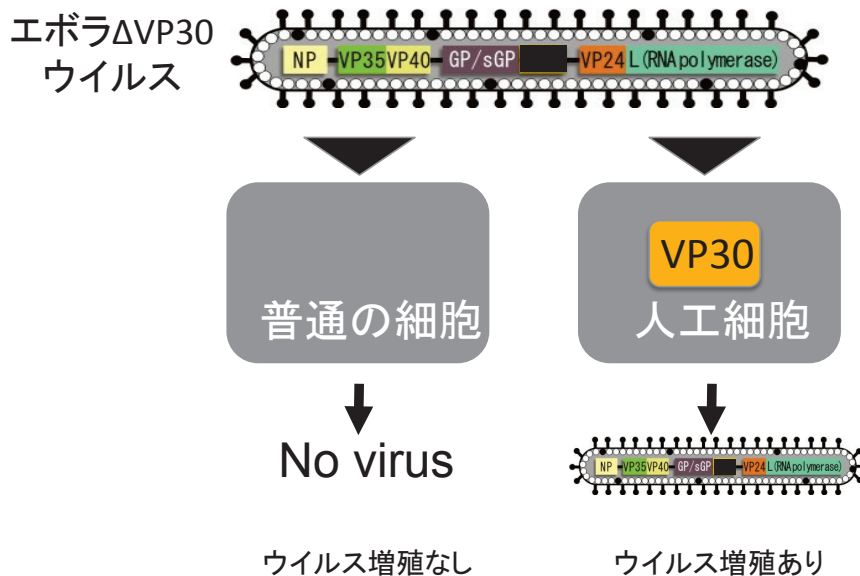


図3 増殖に必要な遺伝子 VP30 を欠損した変異ウイルスーエボラ ΔVP30 ウイルス

安全性の高いエボラワクチンを開発するため、エボラウイルスの増殖に必要な遺伝子 VP30 を欠損した変異ウイルスを作製した。この変異ウイルスは、VP30 蛋白質を発現する特定の細胞では増えるが、普通の細胞では増殖できない。

のウイルス蛋白質を有するため、より高いワクチン効果が期待される。

我々は、エボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンとしての効果を調べるために、 10^7 個のエボラ ΔVP30 ウイルスをサルに筋肉内接種し、4 週間後に、致死量のエボラウイルスを感染させた。エボラ ΔVP30 ウイルスを接種していないサルが全て死亡したのに対して、エボラ ΔVP30 ウイルスを接種したサルは生残した¹³⁾。

エボラ ΔVP30 ウイルスをワクチンとして使用し、人に接種することを想定する場合、安全性に配慮して、生きているウイルスの毒性を弱めた生ワクチンではなく、その毒性を取り除いた不活化ワクチンであることが望まれる。より安全なエボラウイルスワクチンを開発するため、我々は、エボラ ΔVP30 ウイルスの不活化の方法について、1) ガンマ線を用いた方法と、2) 過酸化水素水を用いた方法を検討し、エボラ ΔVP30 ウイルスのワクチン効果の評価試験を行った。不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンを 2 回接種したサルに、致死量の野生型エボラウイルスを感染させたところ、ワクチン接種をしなかったグループのサルとガンマ線で不活化したエボラウイルスのワクチンを接種したグループのサルは全て死亡した。それに対して、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチンを 2 回接種したグループのサルは全て生き残り、またエボラ出血熱の臨床症状も示さなかった (図 4)¹³⁾。以上の結果から、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスを免疫したサルは、エボラウイルス感染を防御することが分かった。

本研究結果によって、過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスは、安全性が高く、効果的な新規エボラワクチンとして有望であることが示された。現在、本ワクチンの実用化に向けて、臨床試験用のワクチン製造の準備を進めている。

4. シエラレオネにおけるエボラウイルス研究

1) シエラレオネでのエボラ出血熱の流行

シエラレオネ共和国は、西アフリカの西部、大西洋岸に位置しており、北にギニア、南東にリベリアと国境を接する。シエラレオネでは、ダイヤモンド鉱山の支配権をめぐる、1991 年から 2002 年まで 11 年間の長期に渡って大規模な内戦が起こり、7 万 5 千人以上の犠牲者を出した。内戦終結後 10 年余を経て、経済・教育・健康など様々な面において問題を抱えながらも、着実に復興から中長期的な開発の段階へと進んでいた。2014 年、隣国ギニアから始まったエボラ出血熱の流行は、そのような状況下のシエラレオネを襲った。

WHO の報告によると、シエラレオネにおけるエボラ出血熱の流行は、ギニアとの国境付近にあるソコマという村に住んでいた、ある一人の祈祷治療師から始まったと考えられている。2014 年 5 月、彼女はギニアでエボラ患者の治療を行っていた際にエボラウイルスに感染し、ソコマに戻ったのちに発症し死亡した。葬儀において、祈祷師の遺体を洗い清めた数名の女性たちがウイルスに感染し、そこから徐々に感染が広がっていった。2014 年 7 月、ついにエボラ出血熱は、人口 100 万人近くの首都フリータウンに

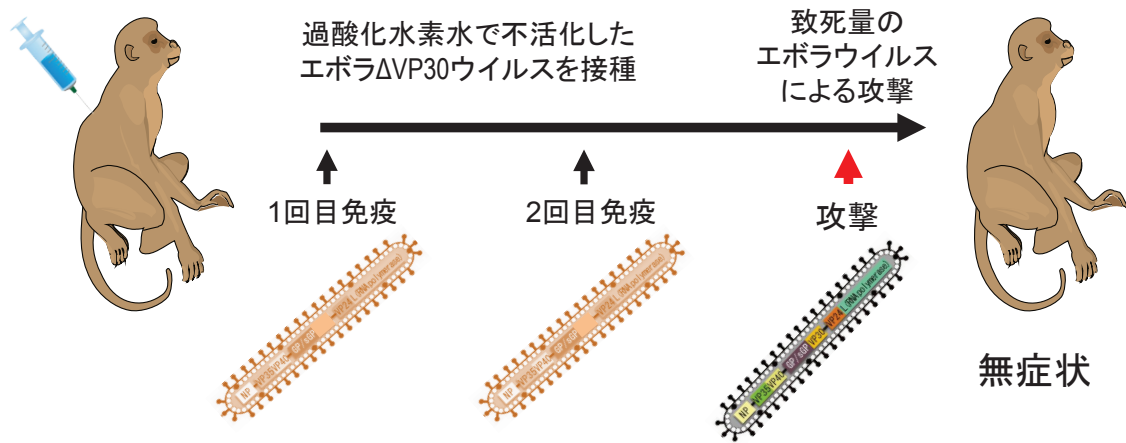


図4 サルにおけるエボラ ΔVP30 ウイルスのワクチン効果試験

過酸化水素水で不活化したエボラ ΔVP30 ウイルスを2回接種したサルを、致死量のエボラウイルスで攻撃したところ、エボラウイルスの感染を完全に防御した。

侵入し、同年7月31日、シエラレオネ大統領は非常事態宣言を発し、それに続いて8月8日、WHOが「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」を宣言した。2016年1月に終息宣言が出されるまで、エボラ出血熱の流行は猛威を振るい続け、シエラレオネではエボラ出血熱感染者の数が14,124人にもものぼり、最も感染者の多い国となった(2016年3月13日のWHOの報告による)。本感染症の流行は、シエラレオネにおける医療体制、農業生産、教育体制などに大きな影響を及ぼし、同国の経済・社会基盤に大打撃を与えた。

2) シエラレオネにおける共同研究について

上記のような状況において、我々は、シエラレオネ大学と米国ウイスコンシン大学に籍を持つ Alhaji N' jai 博士の多大な協力により、シエラレオネにおいて、共同研究体制を構築することとなった。2014年12月25日、我々は Alhaji N' jai 博士とともに、シエラレオネの首都フリータウンに赴いた。流行の最中であったため、人々の外出は規制されており、例年のクリスマスシーズンならば多くの人々でごった返すダウンタウンも人出は少なく、ゴーストタウンのような様相を呈していた。シエラレオネでは、エボラウイルス感染対策として、空港やホテルなどにおける体調や体温のチェックが常時行われ、建物内に入る際には、消毒液による手指の消毒が徹底されていた(図5)。また市内各所にも簡易検査所が設けられ、通行人や通過する車を止めて、体温チェックや消毒薬による手指の消毒を行っていた(図5)。

本共同研究について、シエラレオネ大学、シエラレオネ政府、ならびにWHO関係者と協議を行った結果、シエラレオネ大学および関連医療機関からの協力を得ることができ、エボラ患者用の病棟を有する病院の一面にある実験室

を貸与してもらえることとなった。2015年2月には、エボラウイルスを扱うための設備や機器類を実験室内に設置し、また、エボラウイルス感染サンプルの取り扱いに際し、Standard Operating Procedure(標準操作手順書;SOP)を作成し、安全に実験を遂行するための実験システムを確立することができた(図6)。

筆者(渡辺)は、これまでに3回シエラレオネに赴き、毎回半月ほど滞在して研究に従事した。初めてシエラレオネに渡航したのは、2015年2月半ばのことである。滞在していたホテルのすぐ近くの集落でエボラ患者が発生したとのことで、その集落は、21日間の検疫期間の最中であり、赤いネットのようなもので集落がぐるりと囲まれ、人の出入りができないような状態だった。集落に住む人々のために食料や水の配給がなされているとのことだったが、その配給がしばらく滞ることもあったようで、時々ストライキのようなものが起きていた。我々は毎日その集落の横を通り過ぎ、ホテルから実験室のある病院へと通っていた。

エボラ出血熱流行地において、エボラ患者から採取した血液サンプルを取り扱う作業というのは、想像していたよりもずっと緊張を伴うものだった。病院スタッフが、エボラ隔離病棟に入院する患者から血液を採取し、実験室まで届けてくれた。我々は、防護服を着用して、グローブアイソレータ内でサンプル処理を行った。テントのような形をしたアイソレータ内には、卓上遠心機などが設置してあるため、作業スペースは非常に狭かった。またグローブアイソレータで作業したことのある方はご存知だろうが、アイソレータ付属のグローブをはめた大きな手で細かい作業を行うのは非常に難しく、チューブのフタの開け閉めなどは特に厄介であった。我々は、細心の注意を払って、血液サンプルの処理を進め、血清や白血球の分離作業などを行った。一日の仕事を終えてホテルに戻ると、肉体的というよ



図5 流行当時のシエラレオネの様子

- a) シエラレオネのルンギ国際空港。ブリュッセルからの直行便が到着したところ。
 b, c) 空港では、エボラウイルス感染対策として、Health Report による体調のチェックや検温が行われていた。
 d, e, f) 市中各所で、体調や体温のチェックおよび消毒液による手指の消毒が常時行われていた。またエボラ患者の遺体には触れないようにと、注意を促すポスターが至る所に貼られていた。

り精神的な疲労感から、ぐったりすることが多かった。

我々の研究室では、定期的にしエラレオネに複数名の協力研究員を派遣し、エボラ患者から採取した血液サンプルを入手し、血清や白血球の分離作業や、抗体価を調べるためのELISAなどの作業を進めている。これまでに我々は、エボラウイルス陽性患者36（生存者23名、死亡者13名）から経時的に採取した血液サンプル、およびエボラ病棟で勤務する医療従事者338名から採取した血液サンプルを入手しており、それらのサンプルを用いて、メタボロミクス、リポドミクス、プロテオミクス、トランスクリプトームといったオミックス解析を行っている。

2015年12月7～8日には、東京大学医科学研究所において、International workshop for Ebola project “Evaluation of medical countermeasures for Ebola virus disease”を開催した（図7）。米国ウイスコンシン大学からは、Gabriele Neumann 博士、Peter Halfmann 博士、Amie Eisfeld 博士が参加し、シエラレオネのエボラ患者におけるエボラウイルス感染後の宿主応答解析について発表を行った。またシエラレオネ大学のAlhaji N'jai 博士は、西アフリカにお

けるエボラアウトブレイクの状況について報告した。さらに東京大学（現北海道大学）の西浦博博士からは、今回の流行のエボラウイルスの伝播モデルについて、情報提供を受け、意見交換を行った。また2016年2月29日には、シエラレオネ共和国の首都フリータウンにおいて、International Ebola Control Research Partnership and Cooperation “Conference on Progress, Capability, and Future Directions”を開催した。シエラレオネ大学やその関連医療機関の関係者が多く集い、意見交換を行った。シエラレオネ大学のFoday Sahr 博士は、シエラレオネでのエボラアウトブレイクの状況について発表した。ウイスコンシン大学のPeter Halfmann 博士は、エボラ Δ VP30 ウイルスのサルにおけるワクチン実験の成果について報告した。また同大学のLinda Vakunta 博士は、シエラレオネにおける今後の疫学調査研究について発表を行った。さらに、シエラレオネ在住のエボラ生存者から話しを聞く機会にも恵まれ、研究の進捗状況の報告だけでなく、今後の研究展開について意見交換を行うことができ、非常に実りの多いワークショップとなった。



図6 シエラレオネ大学および関連医療機関との共同研究

- a) 我々は、2014年12月より、シエラレオネ大学および関連医療機関と共同研究を開始した。写真右から、共同研究者であるシエラレオネ大学の Alhaji N' jai 博士と Foday Sahr 博士、および米国ウイスコンシン大学の Peter Halfmann 博士。左端が筆者（河岡）。
- b) エボラ患者を収容する隔離病棟で働く、エボラ感染から回復した生存者の方々。自分のコミュニティから拒絶され、戻れない境遇の生存者が、エボラ病棟で働くケースがある。
- c, d, e) エボラ患者用の病棟を有する病院の一角にある実験室を貸与してもらい、エボラ患者から採取した血液サンプルの処理・解析を行っている。c) 実験室のある建物。d) 実験室内の様子。グローブアイソレーター内でサンプルを取り扱う。e) サンプル採取や情報収集などの研究協力を行ってくれたラボテクニシャンの方々。

5. おわりに

2013年12月にギニアから発生したエボラ出血熱は、あっという間に西アフリカ諸国に拡がり、これまでで最も規模の大きい流行を引き起こした。WHOが公表している感染者数は28,639名であるが（2016年3月16日現在）、確定診断を受けていないケースや不顕性感染の存在などは考慮されていないため、実際の感染規模は現在の認識よりはるかに大きいと思われる。今回の流行では、欧米諸国でも、流行地から帰国した医療関係者を中心に、十数名の感染者が出ており、また日本でも感染者こそでなかったが数名の疑似患者が出た。各国間での人と物の往来が頻繁になっている現代社会においては、日本を含む諸外国にもエボラ出血熱が侵入する可能性が高いため、日本も国として、エボラ感染症対策に取り組む必要がある。

2015年8月、東京都武蔵村山市にある国立感染症研究所村山庁舎のBSL4施設が稼働することとなった。1981年に施設が完成して以来、30年以上にわたって運用されていなかった事実を鑑みると、日本における感染症対策にとっては大きな前進であるといえる。国内のBSL4施設が稼働したことにより、万が一エボラウイルスが国内に侵入した際にも、ウイルス解析を海外の機関に頼ることなく、自国で早急に対応することが可能となった。今後、エボラウイルスなど危険度の高い病原体が引き起こす感染症に対する予防・診断・治療法を確立するための研究が進むことを切に願う。このような研究は、自国を感染症から守るためだけでなく、グローバルな感染症対策において日本が国際的に貢献するためにも、非常に重要であろう。



図7 東京大学医科学研究所におけるエボラワークショップの様子

- a) 2015年12月7~8日に、東京大学医科学研究所において、International workshop for Ebola project “Evaluation of medical countermeasures for Ebola virus disease”を開催し、研究の進捗状況を報告し合った。
- b) 2016年2月29日に、シエラレオネ共和国の首都フリータウンにおいて、International Ebola Control Research Partnership and Cooperation “Conference on Progress, Capability, and Future Directions”を開催した。シエラレオネ政府ならびに大学やその関連医療機関の関係者が多く集い、意見交換を行った。

謝辞

本研究の一部は、厚生労働省および日本医療研究開発機構 (AMED) の新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業の支援を受けて行ったものであり、ご支援に深謝いたします。

引用文献

- 1) Baize, S., D. Pannetier, L. Oestereich, T. Rieger, L. Koivogui, N. Magassouba, B. Soropogui, M. S. Sow, S. Keita, H. De Clerck, A. Tiffany, G. Dominguez, M. Loua, A. Traore, M. Kolie, E. R. Malano, E. Heleze, A. Bocquin, S. Mely, H. Raoul, V. Caro, D. Cadar, M. Gabriel, M. Pahlmann, D. Tappe, J. Schmidt-Chanasit, B. Impouma, A. K. Diallo, P. Formenty, M. Van Herp, and S. Gunther. 2014. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med* **371**:1418-25.
- 2) Bharat, T. A., T. Noda, J. D. Riches, V. Kraehling, L. Kolesnikova, S. Becker, Y. Kawaoka, and J. A. Briggs. 2012. Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**:4275-80.
- 3) Bukreyev, A., P. E. Rollin, M. K. Tate, L. Yang, S. R. Zaki, W. J. Shieh, B. R. Murphy, P. L. Collins, and A. Sanchez. 2007. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. *J Virol* **81**:6379-88.
- 4) Carette, J. E., M. Raaben, A. C. Wong, A. S. Herbert, G. Obernosterer, N. Mulherkar, A. I. Kuehne, P. J. Kranzusch, A. M. Griffin, G. Ruthel, P. Dal Cin, J. M. Dye, S. P. Whelan, K. Chandran, and T. R. Brummelkamp. 2011. Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature* **477**:340-3.
- 5) Cote, M., J. Misasi, T. Ren, A. Bruchez, K. Lee, C. M. Filone, L. Hensley, Q. Li, D. Ory, K. Chandran, and J. Cunningham. 2011. Small molecule inhibitors reveal Niemann-Pick C1 is essential for Ebola virus infection. *Nature* **477**:344-8.
- 6) Feldmann, H., S. M. Jones, K. M. Daddario-DiCaprio, J. B. Geisbert, U. Stroher, A. Grolla, M. Bray, E. A. Fritz, L. Fernando, F. Feldmann, L. E. Hensley, and T. W. Geisbert. 2007. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog* **3**:e2.
- 7) Halfmann, P., J. H. Kim, H. Ebihara, T. Noda, G. Neumann, H. Feldmann, and Y. Kawaoka. 2008. Generation of biologically contained Ebola viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**:1129-33.

- 8) **Hoenen, T., A. Groseth, L. Kolesnikova, S. Theriault, H. Ebihara, B. Hartlieb, S. Bamberg, H. Feldmann, U. Stroher, and S. Becker.** 2006. Infection of naive target cells with virus-like particles: implications for the function of ebola virus VP24. *J Virol* **80**:7260-4.
- 9) **Huang, Y., L. Xu, Y. Sun, and G. J. Nabel.** 2002. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Mol Cell* **10**:307-16.
- 10) **Jasenosky, L. D., G. Neumann, I. Lukashevich, and Y. Kawaoka.** 2001. Ebola virus VP40-induced particle formation and association with the lipid bilayer. *J Virol* **75**:5205-14.
- 11) **Jones, S. M., H. Feldmann, U. Stroher, J. B. Geisbert, L. Fernando, A. Grolla, H. D. Klenk, N. J. Sullivan, V. E. Volchkov, E. A. Fritz, K. M. Daddario, L. E. Hensley, P. B. Jahrling, and T. W. Geisbert.** 2005. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat Med* **11**:786-90.
- 12) **Marzi, A., H. Ebihara, J. Callison, A. Groseth, K. J. Williams, T. W. Geisbert, and H. Feldmann.** 2011. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccines with improved cross-protective efficacy. *J Infect Dis* **204** Suppl 3:S1066-74.
- 13) **Marzi, A., P. Halfmann, L. Hill-Batorski, F. Feldmann, W. L. Shupert, G. Neumann, H. Feldmann, and Y. Kawaoka.** 2015. Vaccines. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science* **348**: 439-42.
- 14) **Miller, E. H., G. Obernosterer, M. Raaben, A. S. Herbert, M. S. Deffieu, A. Krishnan, E. Ndungo, R. G. Sandesara, J. E. Carette, A. I. Kuehne, G. Ruthel, S. R. Pfeffer, J. M. Dye, S. P. Whelan, T. R. Brummelkamp, and K. Chandran.** 2012. Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular receptor. *EMBO J* **31**:1947-60.
- 15) **Muhlberger, E., M. Weik, V. E. Volchkov, H. D. Klenk, and S. Becker.** 1999. Comparison of the transcription and replication strategies of marburg virus and Ebola virus by using artificial replication systems. *J Virol* **73**: 2333-42.
- 16) **Nanbo, A., M. Imai, S. Watanabe, T. Noda, K. Takahashi, G. Neumann, P. Halfmann, and Y. Kawaoka.** 2010. Ebolavirus is internalized into host cells via macropinocytosis in a viral glycoprotein-dependent manner. *PLoS Pathog* **6**:e1001121.
- 17) **Noda, T., H. Sagara, E. Suzuki, A. Takada, H. Kida, and Y. Kawaoka.** 2002. Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP. *J Virol* **76**:4855-65.
- 18) **Saeed, M. F., A. A. Kolokoltsov, T. Albrecht, and R. A. Davey.** 2010. Cellular entry of ebola virus involves uptake by a macropinocytosis-like mechanism and subsequent trafficking through early and late endosomes. *PLoS Pathog* **6**:e1001110.
- 19) **Shimojima, M., A. Takada, H. Ebihara, G. Neumann, K. Fujioka, T. Irimura, S. Jones, H. Feldmann, and Y. Kawaoka.** 2006. Tyro3 family-mediated cell entry of Ebola and Marburg viruses. *J Virol* **80**:10109-16.
- 20) **Simmons, G., J. D. Reeves, C. C. Grogan, L. H. Vandenberghe, F. Baribaud, J. C. Whitbeck, E. Burke, M. J. Buchmeier, E. J. Soilleux, J. L. Riley, R. W. Doms, P. Bates, and S. Pohlmann.** 2003. DC-SIGN and DC-SIGNR bind ebola glycoproteins and enhance infection of macrophages and endothelial cells. *Virology* **305**: 115-23.
- 21) **Stanley, D. A., A. N. Honko, C. Asiedu, J. C. Trefry, A. W. Lau-Kilby, J. C. Johnson, L. Hensley, V. Ammendola, A. Abbate, F. Grazioli, K. E. Foulds, C. Cheng, L. Wang, M. M. Donaldson, S. Colloca, A. Folgori, M. Roederer, G. J. Nabel, J. Mascola, A. Nicosia, R. Cortese, R. A. Koup, and N. J. Sullivan.** 2014. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge. *Nat Med* **20**: 1126-9.
- 22) **Sullivan, N. J., A. Sanchez, P. E. Rollin, Z. Y. Yang, and G. J. Nabel.** 2000. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature* **408**:605-9.
- 23) **Takada, A.** 2012. Filovirus tropism: cellular molecules for viral entry. *Front Microbiol* **3**:34.
- 24) **Takada, A., K. Fujioka, M. Tsuiji, A. Morikawa, N. Higashi, H. Ebihara, D. Kobasa, H. Feldmann, T. Irimura, and Y. Kawaoka.** 2004. Human macrophage C-type lectin specific for galactose and N-acetylgalactosamine promotes filovirus entry. *J Virol* **78**:2943-7.
- 25) **Timmins, J., S. Scianimanico, G. Schoehn, and W. Weisenhorn.** 2001. Vesicular release of ebola virus matrix protein VP40. *Virology* **283**:1-6.
- 26) **Warfield, K. L., D. L. Swenson, G. G. Olinger, W. V. Kalina, M. J. Aman, and S. Bavari.** 2007. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J Infect Dis* **196** Suppl 2:S430-7.

本論文に関連し、開示すべき利益相反関係にある企業として、Integrated Biotherapeutics 社より、特許権使用料（河岡義裕）を受領した。

Control of Ebola hemorrhagic fever: vaccine development and our Ebola project in Sierra Leone

Tokiko WATANABE and Yoshihiro KAWAOKA

Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Since December 2013, West Africa has experienced the worst Ebola virus outbreak in recorded history. Of the 28,639 cases reported to the World Health Organization as of March 2016, nearly half (14,124) occurred in Sierra Leone. With a case fatality rate of approximately 40%, this outbreak has claimed the lives of 11,316 individuals. No FDA-approved vaccines or drugs are available to prevent or treat Ebola virus infection. Experimental vaccines and therapies are being developed; however, their safety and efficacy are still being evaluated. Therefore, there is an urgent need to develop control measures to prevent or limit future Ebola virus outbreaks.

Previously, we developed a replication-defective Ebola virus that lacks the coding region for the essential viral transcription activator VP30 (Ebola Δ VP30 virus). Here, we evaluated the vaccine efficacy of Ebola Δ VP30 virus in a non-human primate model and describe our collaborative Ebola project in Sierra Leone.