

### 3. エボラウイルス研究の最前線

山岡 理子<sup>1)</sup>, 海老原 秀喜<sup>2)</sup>

1) Department of Infectious Diseases, Mayo Clinic

2) 国立感染症研究所ウイルス第一部

2013-2016年に発生したエボラウイルス病 (Ebola virus disease: EVD) の流行は、ギニアを発端として西アフリカ全土に広がり、最終的に2万8000人以上の感染者を出す過去最大規模のEVDアウトブレイクとなった。本稿では、本流行の原因となったエボラウイルス Makona variant に関する研究結果を概説するとともに、Makona variant が有する特徴的なウイルス性状について紹介する。また、流行終息から5年を経てギニアにて再燃したEVDアウトブレイクと、EVD生存者体内に存続するエボラウイルスとの関連について論じる。さらに、最近報告されたEVD回復患者の再発症例などを踏まえ、明らかになりつつある新たなエボラウイルスの生態ならびにEVDアウトブレイクの形態について考察する。

#### 1. はじめに

エボラウイルス病 (Ebola virus disease: EVD) は、エボラウイルスの感染によって引き起こされる急性のウイルス性人獣共通感染症である。高い致死率を特徴とし、過去の流行では最大で90%の致死率が報告されている<sup>1-3)</sup>。従来のEVDアウトブレイクは、感染者が多くても数百人で終息する局地的なものであったが、2013年にギニアから西アフリカ全域へと拡大したEVDアウトブレイクは、感染者が2万8000人以上となる過去に例を見ない規模の大流行となった<sup>3)</sup>。本流行は、2016年にWHOにより終息が宣言されている。しかし、流行終息から5年後の2021年2月、再びギニアにてEVDの発生が確認された。驚いたことに、本流行にて分離されたエボラウイルスのゲノム塩基配列には、2013-2016年に流行したウイルスのものと比較してほとんど遺伝的な違いが認められなかった<sup>4)</sup>。前回の流行が終息してから5年もの長期間にわたり、エボラウイルスはどのように維持され、そしてEVD再燃を引き起

こしたのだろうか？本稿では、2013-2016年のEVD大流行を引き起こしたエボラウイルス Makona variant の特徴的なウイルス性状を紹介するとともに、EVD生存者におけるエボラウイルスの持続感染および再活性化について、新しい知見を踏まえながら考察したい。

#### 2. エボラウイルスの分類と構造

エボラウイルスは、フィロウイルス科 (family: *Filoviridae*) のエボラウイルス属 (genus: *Ebolavirus*) に属するウイルスである。エボラウイルス属には、*Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Bundibugyo ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus*, *Reston ebolavirus* および *Bombali ebolavirus* の6種が分類されている<sup>5)</sup>。本稿で論じるエボラウイルス (type virus: *Ebola virus*) は、*Zaire ebolavirus* 種に分類される唯一のウイルスである。

エボラウイルスは、短径80-100 nm、長径700-1,500 nmのフィラメント状のウイルスであり、約19,000塩基からなるマイナス一本鎖の非分節RNAをゲノムとして有する。ウイルスゲノムには7種類の構造蛋白質 (NP, VP35, VP40, GP, VP30, VP24 および L) がコードされており、これらの蛋白質はエンベロープおよびリボ核タンパク質複合体 (ribonucleoprotein complex [RNP]) に大別されるウイルス粒子を形成している (図1)<sup>6)</sup>。エンベロープは、宿主由来の脂質二重膜、VP40 および GP により構成される。ウイルス粒子の出芽に必須であるVP40はマトリックス蛋白質として膜の内側に局在するのに対し<sup>7-10)</sup>、糖蛋白質で

#### 連絡先

Department of Infectious Diseases  
Mayo Clinic  
200 First Street SW, Rochester, MN 55905  
TEL: 507-538-7623  
E-mail: Yamaoka.Satoko@mayo.edu

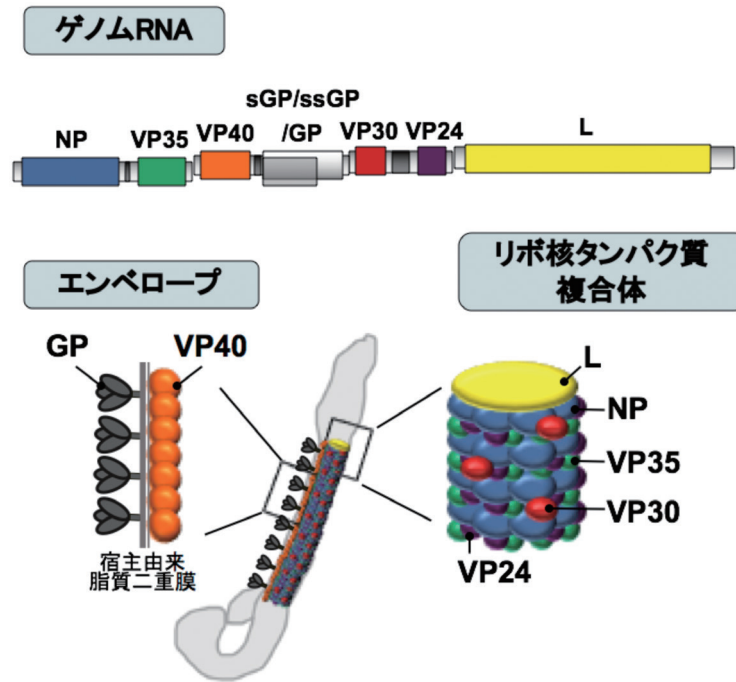


図1 エボラウイルス粒子の構造

図は、山岡ら<sup>99)</sup>[<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>]より改変引用した (Biorender.com)。

ある GP は膜の表面にスパイク状に突出し、受容体との結合ならびに膜融合を担う<sup>11-13)</sup>。一方、ウイルス粒子内に含まれるリボ核タンパク質複合体は、ウイルスゲノム、NP、VP35、VP24 および L 蛋白質から構成される。RNA 依存性 RNA ポリメラーゼである L は、ポリメラーゼ共因子の VP35 および転写活性因子の VP30 と共に、ウイルスゲノムの転写および複製を担当する<sup>14,15)</sup>。VP24 は、ヌクレオカプシドの凝縮および粒子内への取り込みに関与している<sup>16-21)</sup>。以上7つの構造蛋白質に加え、エボラウイルスのゲノムは2種類の非構造蛋白質（分泌型糖蛋白質 sGP および ssGP）をコードすることが報告されている<sup>22-25)</sup>。

エボラウイルスの病原性に関与するウイルス蛋白質としては、インターフェロン拮抗作用を有する VP35 および VP24<sup>26-34)</sup>、ならびに炎症応答を誘導する GP および可溶性 GP (shed GP)<sup>35-42)</sup> が知られている。可溶性 GP は、血管内皮透過性の亢進にも関与するほか、sGP とともに GP に対する中和抗体を引きつける囷として機能する可能性があると考えられている<sup>24,43)</sup>。

### 3. EVD の伝播と病態

エボラウイルスの自然宿主はコウモリであると考えられている<sup>44,45)</sup>。一般的に、ヒト集団における EVD 流行の発端はエボラウイルスに感染した野生動物との接触であるとされており、EVD 発症患者の体液等に触れることを原因とするヒト-ヒト感染により、その流行が拡大する<sup>46,47)</sup>。

EVD の初期症状は、突然の発熱、筋肉痛および喉の痛みなどに始まり、続いて嘔吐や下痢などの消化器症状が現れる<sup>1,2,48,49)</sup>。呼吸器症状、しゃっくり、結膜充血、発疹および出血などと併せて症状が出現する場合もある。急性感染で症状が重篤化する場合には、循環血液量減少性ショックならびに多臓器不全などにより発症から6-16日後に死に至る。EVD から回復した場合、患者の約10-30%が関節痛、視力障害、または聴力障害などの後遺症を呈することが報告されている<sup>50-54)</sup>。

### 4. EVD アウトブレイク

エボラウイルスは、1976年にコンゴ民主共和国(旧ザイール)で初めて報告されて以来、現在までに少なくとも計18回のEVD流行を引き起こしている<sup>3)</sup>。そのうち、最大規模の流行となったのが、2013-2016年に西アフリカで発生したEVDアウトブレイクである。本流行の原因となったエボラウイルスは、ギニアを発端として西アフリカ全土へと急速に拡大し、最終的に2万8000人以上の感染者を出した。しかし、感染規模は最大級であったものの、その致死率(Case fatality rates: CFR)は40%であり、これまでに報告されていたEVDによる致死率(平均71%、最も高い場合で90%)に比較して低いものであった(図2)。この背景の1つには、ワクチンならびに抗ウイルス薬の大規模な臨床介入を含む国際協力が流行地において集中的に実施されたことが挙げられよう。このような社会的背景と

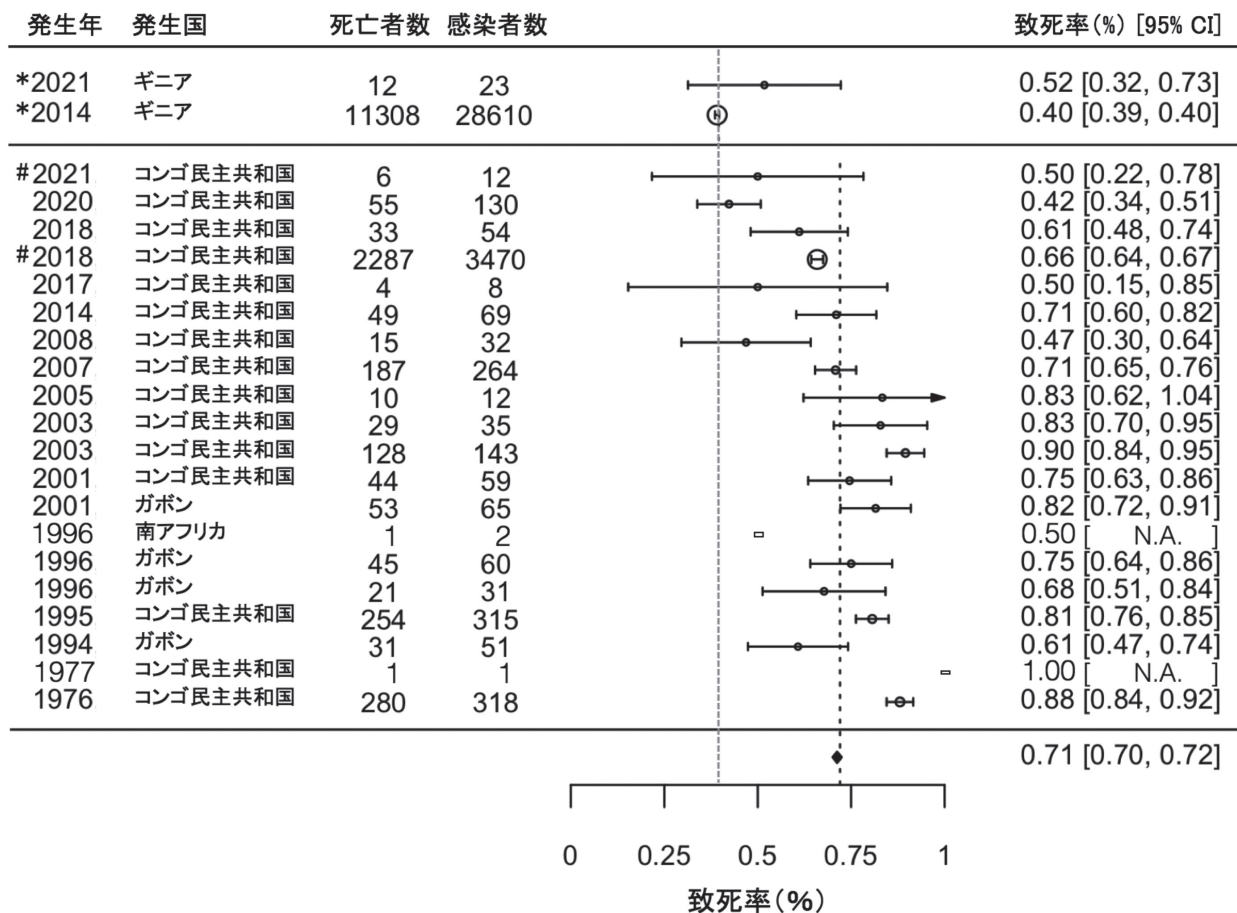


図2 これまでに報告された EVD アウトブレイクと致死率

\*2021 年にギニアにて発生した EVD アウトブレイクは、2013-2016 年の同国流行株を由来とする。

#2021 年にコンゴ民主共和国にて発生した EVD アウトブレイクは、2018-2020 年の同国流行株を由来とする。

図は、山岡ら<sup>99)</sup>[<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>]より改変引用した (Biorender.com)。

は別に、ウイルス学的観点からみた西アフリカ EVD アウトブレイクと従来の EVD アウトブレイクの相違に関しては、本稿の別章で後述する。

2013-2016 年の西アフリカ EVD 大流行に次ぐ規模となったのが、2018-2020 年にコンゴ民主共和国で発生したアウトブレイクである。本流行における感染者は 3400 人以上、死亡者は 2200 人以上に上ったとされている<sup>3)</sup>。

### 5. 西アフリカでの EVD 大流行と Makona variant の病原性

#### 1) ヒト-ヒト感染の拡大によりウイルスは強毒化したのか

2013-2016 年に西アフリカにて猛威を振るったエボラウイルスは、流行の中心となった 3 カ国ギニア、リベリアおよびシエラレオネの近郊に位置する Makona 川にちなんで Makona variant と名付けられた<sup>55)</sup>。前例のない規模で日を追って増加する感染者数は、ヒトへの伝播力ならびに毒

力が著しく増強した変異ウイルスがいずれ出現するのではないかという不安を人々の間に呼び起こした。そのため、患者から分離されたウイルスのゲノム解析をもとにした議論は、主に以下の 2 点に集中した。1 点目は、Makona variant は従来のウイルスよりも急速に変異しているのか、そして 2 点目は、Makona variant が獲得した変異はウイルスの宿主嗜好性またはヒトへの病原性を変化させたのか、である。1 点目の疑問に答えるべく、流行初期から後期までの様々な時期に分離された計 1,500 以上の Makona variant についてその全長ゲノム塩基配列が決定され、ギニアで最初に分離されたウイルスのゲノム塩基配列と比較された。その結果、流行後期に分離されたウイルスゲノムには多数の変異が蓄積していることが示された<sup>56)</sup>。しかし、本流行における Makona variant の変異率 (mutation rate: 単位時間内に単位部位に生じる変異の数として算出される) は、過去に EVD アウトブレイクを引き起こした別の

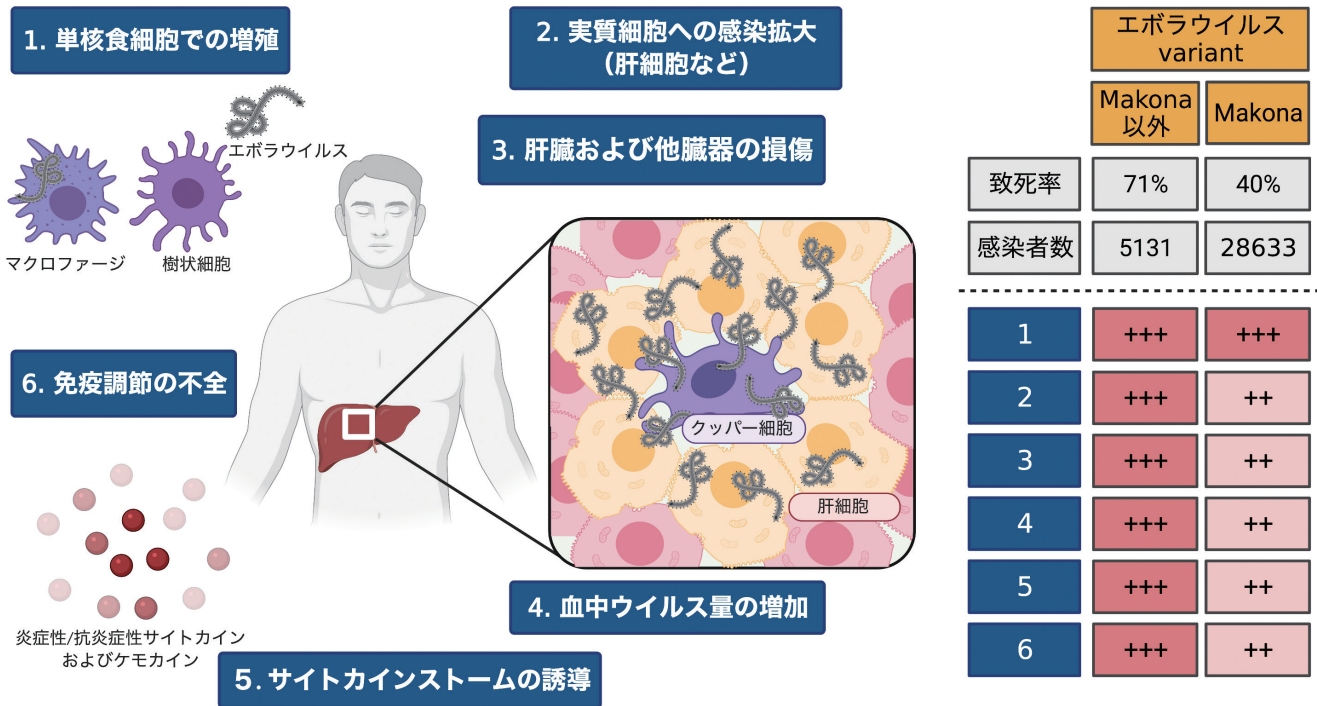


図3 エボラウイルス Makona variant の特徴的なウイルス性状  
 図右手に示す番号 1-6 は、図左手に示す番号 1-6 と一致する。図は、山岡ら<sup>99)</sup> [http://creativecommons.org/licenses/by/4.0] より改変引用した (Biorender.com)。

variant のそれと同等であった<sup>57-61)</sup>。  
 決定されたウイルスゲノム塩基配列を系統的に解析した結果、EVD 流行時に分離された Makona variant は2つのグループに大別されることが示された。1つ目は、ギニアで最初に分離されたウイルス株を含む“流行初期グループ”，2つ目は、その他すべての分離されたウイルス株を含む“流行後期グループ”である<sup>56,62,63)</sup>。第2グループに属するウイルス株のゲノムには、アミノ酸の非同義置換を引き起こす変異がいくつも認められたが、そのうち最も注目を集めたのは、GPの82番目のアミノ酸がアラニンからバリンへと置換する変異 (GP-A82V) であった。これは、GPの82番目のアミノ酸が宿主細胞受容体への結合部位に位置していたことによるものが大きい<sup>64)</sup>。さらに、このGP-A82V 変異は大多数のウイルス株を含む第2グループの形成起点で出現し、その後維持されていたことから<sup>62,63,65-67)</sup>、先述した2点目の議論、すなわち、本変異がウイルスの性質をヒト適応型に変化させたのか、という仮説が検証されることとなった。  
 エボラウイルスのGPを発現させたシュードタイプウイルス、あるいはエボラウイルス様粒子 (virus-like particles [VLPs]) を用いた *in vitro* 実験では、GP-A82V 変異がヒト細胞へのウイルス粒子の侵入を促進していることが示された<sup>62,63,68)</sup>。このGP-A82V 変異によるウイルス

粒子の細胞侵入促進は、霊長類の細胞でのみ確認され、齧歯類、肉食動物およびコウモリ由来細胞では認められなかった<sup>62,63,69)</sup>。このことは、GP-A82V 変異が Makona variant のヒト細胞への適応に寄与した可能性を示唆している。  
 上記の報告は、あくまでヒト細胞へのウイルスの適応を示唆するものであったが、この知見は同時に、Makona variant がGP-A82V 変異の獲得により強毒化したのではないかという仮説を生み出した。しかし、感染性ウイルスを用いて実施された動物実験の結果は、この仮説に正当性がないことを強く示唆している。Marzi ら<sup>70)</sup> は、GPの82番目のアミノ酸にアラニンを有する流行初期株と、バリンを有する流行後期株の2種類の Makona variant をアカゲザルに感染させ、感染動物の生存率、組織および血液中のウイルス量、宿主免疫反応、生化学的反応および凝固反応等について比較したが、いずれの項目でも2グループの間に有意な差は認められなかった。興味深いことに、GP-A82V の変異を有する流行後期株を感染させたサルでは、変異を持たない流行初期株を感染させたサルに比べて、むしろ病状進行の遅延傾向、ならびに組織および血液中ウイルス量の低下傾向が認められた。また、両株を用いた *in vitro* 実験では、GP-A82V の変異を有する流行後期株におけるヒト肝細胞での増殖性が、流行初期株のそれよりも低いことが示された<sup>70)</sup>。これは、GP-A82V 変異の獲得に

より Makona variant のヒト細胞への感染力が高まったという仮説とは相反するものであった。

感染性ウイルスを用いた実験により得られたこれらの知見は、GP-A82V 変異により Makona variant の生物学的性状がある程度変化した可能性を否定するものではない。しかし、その変化がウイルスの病原性に与える影響は、GP もしくは他のウイルス蛋白質をコードする遺伝子上に出現した別の変異により打ち消された可能性が高いと言えるだろう。実際、L 蛋白質の 759 番目に認められたアミノ酸置換 (L-D759G) は、流行後期株の弱毒性状に関与した可能性が示唆されている。Wong ら<sup>69)</sup> は、流行初期株に感染した IFNAR<sup>-/-</sup> マウスの 40% が死亡したのに対し、同株に L-D759G の変異を導入した遺伝子組み替えウイルスに感染したマウスの致死率は 0% であったことを報告した。さらに、フェレットを用いた実験においても、L-D759G の変異を有するウイルスは感染個体に病状進行の著しい遅延を起こすことが示された。

ウイルスの変異獲得に関連する病原性進化 (virulence evolution) は、感染症研究の分野において頻繁に議論され注目を集めるトピックの 1 つである。発見された変異の解析が、ウイルス性状を理解する糸口になり得ることもあるだろう。しかし、得られた結果については、遺伝学・系統学的解析および感染性ウイルスを用いた実験室ベースの解析を効果的に組み合わせ、慎重に、そして正確に解釈を進めることが重要である。特に、「ウイルスのヒト細胞あるいはヒト集団への適応」と「ウイルスのヒトにおける病原性」については、混同しないように 2 つの視点から理解していく必要があるだろう。

## 2) Variant 間における病原性の比較解析

もう 1 つ、Makona variant の病原性を理解する上で注目すべき点がある。それは、Makona variant はその株が分離された時期にかかわらず、過去の EVD アウトブレイクの原因となった他の variant に比較して、本質的に弱毒型の性状を有することが強く示唆されている点である (図 3)<sup>71-75)</sup>。1976 年に発生した EVD 流行の原因となったエボラウイルス Mayinga variant を IFNAR<sup>-/-</sup> マウスに感染させると 100% の個体が死亡するのに対し、Makona variant を感染させた場合には、その致死率は流行初期株・後期株いずれの場合にも 0% であったことが報告されている<sup>70)</sup>。また、アカゲザルおよびカニクイザルを用いた感染実験においても、Mayinga variant または 1995 年の EVD 流行時に分離された Kikwit variant の感染に比較して、Makona variant を感染させた個体における病状進行の遅延が認められている<sup>70,71,73,74)</sup>。さらに、Kikwit variant と Makona variant を感染させたサルについて Jankeel ら<sup>75)</sup> が実施した詳細なウイルス学的比較解析は、ウイルスの増殖性、肝細胞の壊死等を含む病理組織学的変化、およびウイルス標的臓器に

おける炎症反応のいずれにおいても、Kikwit variant 感染個体に比較して、Makona variant 感染個体の重症度が低いことを示している。

エボラウイルス Makona variant は、西アフリカにおいて過去最大規模の EVD 流行を引き起こした。しかし、本流行における致死率は 40% であり、Mayinga variant または Kikwit variant によって引き起こされた過去の EVD 流行における致死率 (それぞれ 88% または 81%) よりも低かった。感染症の致死率には、ウイルス因子だけでなく、流行地における医療基盤などの社会的または環境的因子、経済的および政治的因子、さらに免疫反応を左右する宿主遺伝的因子を含め様々な要因が複雑に関与するため、Makona variant のヒトに対する病原性を致死率から結論づけることは難しい。また、40% という致死率は、他のウイルス感染症のそれに比べると依然として著しく高いことは言うまでもない。一方で、前述したウイルス学的比較解析は、Makona variant が従来の variant とは区別されたウイルス性状を有する可能性を強く示唆した (図 3)。これまで、エボラウイルスの variant 間における性状の違いに関してはほとんど着目されてこなかったが、今後、エボラウイルスの生態ならびにそれぞれの EVD アウトブレイクの特徴をより深く理解するためには、variant に特異的な病原性にも留意して詳細な解析を進めることが重要だと考えられる。

## 6. 流行終息後に再燃した EVD

### 1) ギニアにおける EVD 再流行

2013 年に発生した西アフリカ EVD 大流行は、過去最大の感染者ならびに死者を出したのち 2016 年に終息した。しかし、そのアウトブレイクの発端となったギニアにおいて、流行終息から 5 年が経過した 2021 年 2 月、再び EVD の発生が報告された<sup>4)</sup>。感染者が確認されたのはギニア南部に位置する Gouécké という小さな町で、前回の大流行の起点となった Guéckédou からはおよそ 200 km 離れた地点に位置する。発端症例 (index case) とされる患者における EVD の確定診断はなされていない。しかし、患者の死亡後、葬儀に参列した家族が相次いで発症し、そのうち 3 人のエボラウイルス陽性が確定したため、ギニアにおける EVD の再燃が公式に宣言された。本流行は、23 人の感染者 (疑い例を含む) ならびに 12 人の死亡者を出したのち、2021 年 6 月に終息した<sup>3)</sup>。

過去に流行が発生した国で再び EVD が発生することは、珍しい事例ではない。例えば、コンゴ民主共和国はこれまでに計 10 回以上の EVD アウトブレイクを経験している。しかし、これらのアウトブレイクは、各々独立した spillover (野生動物からヒト集団へのウイルス伝播) をその発生原因とするものであり、それぞれの流行に関連性があるものではなかった。

Keitaら<sup>4)</sup>は、2021年にギニアにてEVD流行を引き起こしたエボラウイルスの遺伝情報を得るため、12人の患者から分離された株についてウイルスゲノム塩基配列を決定し、それらを過去の流行株のゲノム塩基配列とともに分子系統学的に解析した。その結果、驚くべきことに、本流行にて分離されたウイルスは、5年前に西アフリカで流行したウイルスと分子系統樹上で同一クラスターを形成することが示された。これは、両流行株が遺伝的に著しく似通っていることを意味する。実際に、両流行株のウイルスゲノム間には、わずか12箇所のアミノ酸置換しか認められなかった。この数字は、2016年にEVD流行が終息を迎えてから約5年の間に、ウイルスが同宿主内あるいは別の宿主へと伝播しながら増殖を繰り返したことを想定して算出されるアミノ酸置換数に比べてはるかに小さいものであった。これは、本流行の起点が、前回のEVD流行を経験した生存者の体内で活発に増殖することなく存続していたウイルスに由来することを強く示唆している。また、2021年の流行ウイルスは、そのゲノムに2013-2016年EVD流行後期株で認められたいくつかの特徴的なアミノ酸置換（ヒト細胞適応型のアミノ酸置換と考えられている）を保持していたことも、本流行の発端が野生動物由来のウイルスではない可能性を強く支持している。これらの知見をまとめた論文は、EVDアウトブレイクの新たな範例を示すとされ、2021年9月に発行された学術雑誌Natureに掲載された<sup>4)</sup>。ギニアでのEVD再燃に加えて、最近、コンゴ民主共和国にて2021年2月から5月にかけて流行したエボラウイルスが、2018-2020年に同国でEVD大流行を引き起こしたウイルスと遺伝的に高い相同性を示すことが明らかになった。このことから、本流行に関しても、その起点がEVD生存者体内に存続するウイルス由来であったと考えられている<sup>3)</sup>。

## 2) EVD生存者体内におけるウイルスの持続感染および再活性化

エボラウイルスがEVD生存者体内で長期間存続し得ることは、これまでに発表された幾つもの報告により明らかである。最も顕著な例は、男性生存者の精液中におけるウイルス遺伝子、または感染性ウイルスの検出である。Thorsonら<sup>76)</sup>は、EVDに罹患しその後回復した男性被験者220人に対して長期間のコホート研究を実施し、そのうち75%の被験者の精液中から退院後約6ヶ月間ウイルス遺伝子が検出されたことを明らかにした。この研究におけるウイルス遺伝子検出の最長期間は、退院後696日であった。上記の研究では、ウイルス遺伝子が検出された被験者における感染性ウイルスの有無については検討されていない。しかし、培養細胞または動物モデルを用いた別の研究では、ウイルス遺伝子陽性の精液サンプルが感染性を有することが示されている<sup>77-79)</sup>。実際に、EVDからの回復後

15ヶ月が経過した男性患者との性交渉によりEVDを発症した女性患者の事例では、その感染起点が男性患者由来のウイルスであったことがウイルスゲノム解析により確認されている<sup>80)</sup>。この他にも、EVD生存者の唾液、尿あるいは母乳からウイルス遺伝子が検出される場合もあり<sup>81,82)</sup>、新たなEVD伝播を引き起こす原因となる可能性が指摘されている。

上述したのは、EVDから回復しその後無症状の被験者を対象とした研究結果である。一方、現時点での報告は極めて稀であるが、これまでに少なくとも3例、EVD回復患者体内におけるエボラウイルスの再活性化ならびにEVDの再発症が認められている。1例目は、西アフリカにてエボラウイルスMakona variantに感染した43歳の男性医師である<sup>83)</sup>。当該患者は、EVD初発症時に人工呼吸装置ならびに血液透析を要する重篤な症状を呈したが、集中的な支持療法と回復期血漿および抗ウイルス薬投与により回復した。患者の血液中のウイルス遺伝子は、この時点では陰性であった（精液中のウイルス遺伝子は陽性）。しかし、患者はのちに眼症状を呈し始め、退院から9週間後に重篤な急性ぶどう膜炎を発症した。このとき、患者の眼房水には著しく高いウイルス力価（Cycle threshold [Ct]:18.7）が認められ、感染性ウイルスの存在も示された。2例目は、Makona variantに感染した39歳の女性看護師のケースである<sup>84)</sup>。EVD初発症時に重篤な症状を呈し、抗体療法を含む集中的な治療を受けて回復した点は、1例目と同様である。当該患者においても、退院時の血漿中ウイルス遺伝子は陰性であったが、退院から9ヶ月後、激しい頭痛ならびに首の痛みで再来院した際には脳脊髄液および血漿中からエボラウイルス遺伝子が検出され、エボラウイルス再活性化による髄膜炎と診断された。両患者とも、治療によりその後回復した。

2021年4月に報告された3例目は、前述の2例とはいくつかの点で異なっている<sup>85)</sup>。患者は25歳の男性で、2018-2020年にコンゴ民主共和国にて流行したエボラウイルスに感染し発症した。当該患者には、感染の6ヶ月前にメルク社製のワクチン「rVSV-ZEBOV（商品名 Ervebo）」が接種されていた。患者は、モノクローナル抗体の試験的投与と基本的な支持療法を受け、2週間で退院した。退院時ならびに退院2ヶ月後に実施された検査では、患者の血液または精液中のウイルス遺伝子が陰性であったことが記されている。しかし、退院から5ヶ月後、再び患者に頭痛や吐き気ならびに黒色便や鼻出血などの症状が現れる。当初、患者が受診した地域の医療施設ではEVDが疑われなかったが、その後容態は重篤化し、患者は発症から8日後に搬送されたエボラ治療ユニット（Ebola treatment unit [ETU]）にて、EVD再発症と診断された。当該患者は、ETUに搬送された翌日、2回目の発症から9日後に多臓器不全により死亡した。その後の疫学調査により、当該患

者を起点とする EVD 感染が計 91 例発生していたことが明らかとなった。本例は、EVD の再発症がヒト集団に新たな EVD 伝播を引き起こした初めての報告である。

### 3) エボラウイルスはヒトに潜伏感染するのか

「持続感染」とは、症状の有無にかかわらずウイルスが長期にわたって体内に存続する感染様式であり、「慢性感染」、「潜伏感染」および「遅発性感染」の 3 つに大別される。慢性感染ではウイルス粒子が長期間体内から検出されるのに対し、潜伏感染はウイルスが非活性となり、文字通り潜伏して体内から検出されなくなる期間を経たのち再活性化する状態を指す<sup>86)</sup>。一般的に、EVD 回復患者からは継続してウイルス遺伝子が検出され、その量は時間とともに低下することから、EVD 生存者におけるエボラウイルスの感染様式は「慢性感染」であり、ウイルスはいずれ体内から消失するとの見方が強かった。しかし、前章で取り上げた EVD 再発症の 2 例目および 3 例目では、回復後から再発症までに（少なくとも実施された検査において）体内からウイルスが検出されない期間が存在した<sup>84,85)</sup>。このことは、エボラウイルスがヒトに「潜伏感染」し得る可能性を示唆している。EVD 初発症時ならびに再発症時に同一患者から分離されたエボラウイルスの遺伝的相同性が著しく高かったことも、ウイルスが非活性状態で体内に潜伏していた可能性を支持している。

動物に潜伏感染を引き起こすウイルスとしては、免疫学的特権部位である神経細胞に潜伏するヘルペスウイルスや、宿主細胞遺伝子へウイルス遺伝子を組み込むレトロウイルスなどがよく知られている<sup>87)</sup>。エボラウイルスの場合、ヒト臨床例およびサルを用いた実験感染の結果から、ウイルスが精巣、眼および中枢神経系を含む免疫学的特権部位で長期間存続し得ることが示されており<sup>82,88,89)</sup>、これらの器官がエボラウイルスの潜伏部位となる可能性も考えられる。しかし、エボラウイルスが動物体内で完全に増殖を停止し、一次的に非活性状態となることを示す科学的証拠はこれまでに報告されていない。したがって、エボラウイルスがヒトに「潜伏感染」を引き起こすか否かは現在のところ不明である。

これまでに報告された EVD 再発症はわずか 3 例であり、西アフリカおよびコンゴ民主共和国における EVD 大流行からの生存者が 1 万 8000 人を超えることを踏まえれば、極めて稀な症例と言える。しかしながら、未報告の症例がほかに存在する可能性も否定はできない。前章で取り上げた EVD 再発症の 3 例は、エボラウイルスが生存者体内において「潜伏感染」、あるいは現検査体制では検出できないレベルの「慢性感染」を引き起こす可能性を示した。このことから、今後は、より高感度な検査システムの構築を含めた EVD 診断系の見直しが必要になるかもしれない。また、現時点では EVD 再発症のメカニズムは不明だが、

報告された 3 例はいずれも初発症時に集中的な抗体療法を受けていたことから、患者自身の液性免疫応答が効果的に誘導されなかった可能性も考えられる。さらに、ウイルス因子の観点から考えれば、エボラウイルスの非典型的な感染様式は特定の variant に限って認められる可能性もあるし、宿主体内でウイルスが獲得したわずかな変異が、効果的な免疫回避に寄与した可能性も否定できない。さらなる臨床知見の蓄積と動物・培養細胞モデルを用いた詳細な解析は、これまで知られていなかったエボラウイルスの感染様式のメカニズム究明に役立つであろう。

### 4) EVD 生存者を取り巻く問題と今後の取り組み

2013-2016 年の西アフリカ EVD 大流行、ならびに 2018-2020 年のコンゴ民主共和国 EVD 大流行は、多くの死亡者と同時に、1 万 8000 人を超える過去最大規模の EVD 生存者を生み出した。その多くは、後遺症を含める身体的負担に加え、社会復帰を拒絶されることによる失業や住居喪失などの精神的および経済的負担を経験している。EVD 生存者を起点とする新たなアウトブレイクの発生が懸念される一方で、この議論が EVD 生存者にさらなる負担を強いることにならないよう最新の注意を払う必要がある。

EVD 回復患者への継続的なモニタリングを含めた検査体制の充実、EVD の再燃を防止するための必須事項の 1 つだろう。また、前述した EVD 再発症例を踏まえると、EVD 回復患者であっても、エボラウイルスに対する十分な宿主免疫応答を有していない場合があることが推察される。患者の退院時には、RT-PCR により体液中のウイルス遺伝子が陰性であることを示すのに加え、エボラウイルスに対する血中抗体価を測定することで患者の液性免疫応答の活性化を確認することが必要であるかもしれない。その際、一定の抗体価が認められなかった患者に対してはワクチンの接種を検討しても良いだろう。一方で、EVD 再発症の 3 例目のケースでは、ワクチン接種がエボラウイルスの感染および EVD 発症を予防しなかった<sup>85)</sup>。FDA 認可済みの EVD ワクチン「rVSV-ZEBOV (商品名 Ervebo)」は、2013-2016 年の西アフリカ EVD 大流行時に実施されたリングワクチネーション（患者が発生した地域を中心とした同心円内の住民に対して行われる大規模なワクチン接種）において極めて高い EVD 発症予防効果を示したが、その一方で、EVD 患者の約 10% が発症の少なくとも 10 日前にワクチン接種を済ませていたことを示す報告もある<sup>90)</sup>。今後は、ワクチン単回投与による免疫持続性の検討を含め、ワクチンの EVD 発症予防効果に対するさらなる情報の蓄積が求められる。

本稿では、EVD を発症しその後回復した患者におけるエボラウイルスの持続感染について取り上げたが、EVD 感染者の中には無症状のまま経過する患者が一定数存在することもわかっている<sup>91)</sup>。無症状の EVD 感染者において

ウイルスがどの程度の期間体内に存続し得るのかは現在のところ不明であり、この点に関しても継続したモニタリングが必要であると考えられる。

## 7. おわりに

2013-2016年に発生したEVDの大流行、生存者体内に存続するエボラウイルスからのEVD再燃、そしてEVD回復患者の再発症など、近年、エボラウイルスの病原性ならびにEVDアウトブレイクの形態に関する従来の概念とは異なる知見が明らかになってきた。今後は、これらの新たな解釈も取り入れた上で、より効果的な検査診断系、ワクチンならびに治療法の開発に取り組むことが求められるだろう。そのためには、EVD患者および生存者における臨床的知見の蓄積とともに、動物・細胞モデルを用いたEVD病態発現機序の詳細な分子学的解析が必須である。近年、エボラウイルス研究分野でも利用されている免疫系ヒト化マウスは、ウイルスと宿主免疫系との関わりを理解する上で非常に有効な系である<sup>92-97</sup>。また、ウイルス感染細胞で起きている事象に関してより解像度の高い情報を得るためには、個々の細胞における遺伝子発現を区別して解析できるsingle-cell RNA sequence等を用いることも効果的だろう<sup>98</sup>。さらなる研究の発展は、EVDアウトブレイクの発生および拡大防止対策を考える上での重要な知見になると同時に、エボラウイルスの興味深い新たな生態を解き明かす鍵となることが期待される。

## 学術雑誌ウイルスにおける利益相反開示

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。

## 引用文献

- 1) Jacob ST, Crozier I, Fischer WA, 2nd, Hewlett A, Kraft CS, Vega MA, Soka MJ, Wahl V, Griffiths A, Bollinger L, Kuhn JH. Ebola virus disease. *Nat Rev Dis Primers* 6: 13, 2020.
- 2) Feldmann H, Sprecher A, Geisbert TW. Ebola. *N Engl J Med* 382: 1832-1842, 2020.
- 3) Centers for Disease Control. History of Ebola Virus Disease., <<https://www.cdc.gov/vhf/ebola/history/chronology.html>> [accessed 21 November 2021].
- 4) Keita AK, Koundouno FR, Faye M, Dux A, Hinzmann J, Diallo H, Ayoubou A, Le Marcis F, Soropogui B, Ifono K, Diagne MM, Sow MS, Bore JA, Calvignac-Spencer S, Vidal N, Camara J, Keita MB, Renevey A, Diallo A, Soumah AK, Millimono SL, Mari-Saez A, Diop M, Dore A, Soumah FY, Kourouma K, Vielle NJ, Loucoubar C, Camara I, Kourouma K, Annibaldis G, Bah A, Thielebein A, Pahlmann M, Pullan ST, Carroll MW, Quick J, Formenty P, Legand A, Pietro K, Wiley MR, Tordo N, Peyrefitte C, McCrone JT, Rambaut A, Sidibe Y, Barry MD, Kourouma M, Saouromou CD, Conde M, Balde M, Povogui M, Keita S, Diakite M, Bah MS, Sidibe A, Diakite D, Sako FB, Traore FA, Ki-Zerbo GA, Lemey P, Gunther S, Kafetzopoulou LE, Sall AA, Delaporte E, Duraffour S, Faye O, Leendertz FH, Peeters M, Toure A, Magassouba NF. Resurgence of Ebola virus in 2021 in Guinea suggests a new paradigm for outbreaks. *Nature* 597: 539-543, 2021.
- 5) Kuhn JH, Amarasinghe GK, Basler CF, Bavari S, Bukreyev A, Chandran K, Crozier I, Dolnik O, Dye JM, Formenty PBH, Griffiths A, Hewson R, Kobinger GP, Leroy EM, Muhlberger E, Netesov SV, Palacios G, Palyi B, Paweska JT, Smither SJ, Takada A, Towner JS, Wahl V, ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Filoviridae. *J Gen Virol* 100: 911-912, 2019.
- 6) Feldmann H, Sanchez A, Geisbert TW. Filoviridae: Marburg and ebola viruses. 2013. *in Fields Virology*. Knipe DM, Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. Pennsylvania, USA.
- 7) Harty RN, Brown ME, Wang G, Huibregtse J, Hayes FP. A PPxY motif within the VP40 protein of Ebola virus interacts physically and functionally with a ubiquitin ligase: implications for filovirus budding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 13871-13876, 2000.
- 8) Bornholdt ZA, Noda T, Abelson DM, Halfmann P, Wood MR, Kawaoka Y, Saphire EO. Structural rearrangement of ebola virus VP40 begets multiple functions in the virus life cycle. *Cell* 154: 763-774, 2013.
- 9) 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: 4855-4865, 2002.
- 10) Wan W, Clarke M, Norris MJ, Kolesnikova L, Koehler A, Bornholdt ZA, Becker S, Saphire EO, Briggs JA. Ebola and Marburg virus matrix layers are locally ordered assemblies of VP40 dimers. *Elife* 9, 2020.
- 11) Miller EH, Chandran K. Filovirus entry into cells - new insights. *Curr Opin Virol* 2: 206-214, 2012.
- 12) Carette 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.
- 13) Lee JE, Saphire EO. Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry. *Future Virol* 4: 621-635, 2009.
- 14) Muhlberger 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.
- 15) Tchesnokov EP, Raesisimakiani P, Ngure M, Marchant D, Gotte M. Recombinant RNA-Dependent RNA Polymerase Complex of Ebola Virus. *Sci Rep* 8: 3970, 2018.
- 16) Huang Y, Xu L, Sun Y, Nabel GJ. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Mol Cell* 10: 307-316, 2002.



- 17) Noda T, Halfmann P, Sagara H, Kawaoka Y. Regions in Ebola virus VP24 that are important for nucleocapsid formation. *J Infect Dis* 196 Suppl 2: S247-250, 2007.
- 18) Hoenen T, Groseth A, Kolesnikova L, Theriault S, Ebihara H, Hartlieb B, Bamberg S, Feldmann H, Stroher U, Becker S. Infection of naive target cells with virus-like particles: implications for the function of ebola virus VP24. *J Virol* 80: 7260-7264, 2006.
- 19) Mateo M, Carbonnelle C, Martinez MJ, Reynard O, Page A, Volchkova VA, Volchkov VE. Knockdown of Ebola virus VP24 impairs viral nucleocapsid assembly and prevents virus replication. *J Infect Dis* 204 Suppl 3: S892-896, 2011.
- 20) Banadyga L, Hoenen T, Ambroggio X, Dunham E, Groseth A, Ebihara H. Ebola virus VP24 interacts with NP to facilitate nucleocapsid assembly and genome packaging. *Sci Rep* 7: 7698, 2017.
- 21) Watt A, Moukambi F, Banadyga L, Groseth A, Callison J, Herwig A, Ebihara H, Feldmann H, Hoenen T. A novel life cycle modeling system for Ebola virus shows a genome length-dependent role of VP24 in virus infectivity. *J Virol* 88: 10511-10524, 2014.
- 22) 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 U S A* 93: 3602-3607, 1996.
- 23) 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.
- 24) Zhu W, Banadyga L, Emeterio K, Wong G, Qiu X. The Roles of Ebola Virus Soluble Glycoprotein in Replication, Pathogenesis, and Countermeasure Development. *Viruses* 11, 2019.
- 25) Volchkova VA, Feldmann H, Klenk HD, Volchkov VE. The nonstructural small glycoprotein sGP of Ebola virus is secreted as an antiparallel-orientated homodimer. *Virology* 250: 408-414, 1998.
- 26) Basler CF, Wang X, Muhlberger E, Volchkov V, Paragas J, Klenk HD, Garcia-Sastre A, Palese P. The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 12289-12294, 2000.
- 27) Basler CF, Mikulasova A, Martinez-Sobrido L, Paragas J, Muhlberger E, Bray M, Klenk HD, Palese P, Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 77: 7945-7956, 2003.
- 28) Cardenas WB, Loo YM, Gale M, Jr., Hartman AL, Kimberlin CR, Martinez-Sobrido L, Sapphire EO, Basler CF. Ebola virus VP35 protein binds double-stranded RNA and inhibits alpha/beta interferon production induced by RIG-I signaling. *J Virol* 80: 5168-5178, 2006.
- 29) Feng Z, Cerveny M, Yan Z, He B. The VP35 protein of Ebola virus inhibits the antiviral effect mediated by double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR. *J Virol* 81: 182-192, 2007.
- 30) Schumann M, Gantke T, Muhlberger E. Ebola virus VP35 antagonizes PKR activity through its C-terminal interferon inhibitory domain. *J Virol* 83: 8993-8997, 2009.
- 31) Reid SP, Leung LW, Hartman AL, Martinez O, Shaw ML, Carbonnelle C, Volchkov VE, Nichol ST, Basler CF. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J Virol* 80: 5156-5167, 2006.
- 32) Reid SP, Valmas C, Martinez O, Sanchez FM, Basler CF. Ebola virus VP24 proteins inhibit the interaction of NPI-1 subfamily karyopherin alpha proteins with activated STAT1. *J Virol* 81: 13469-13477, 2007.
- 33) Mateo M, Reid SP, Leung LW, Basler CF, Volchkov VE. Ebolavirus VP24 binding to karyopherins is required for inhibition of interferon signaling. *J Virol* 84: 1169-1175, 2010.
- 34) Xu W, Edwards MR, Borek DM, Feagins AR, Mittal A, Alinger JB, Berry KN, Yen B, Hamilton J, Brett TJ, Pappu RV, Leung DW, Basler CF, Amarasinghe GK. Ebola virus VP24 targets a unique NLS binding site on karyopherin alpha 5 to selectively compete with nuclear import of phosphorylated STAT1. *Cell Host Microbe* 16: 187-200, 2014.
- 35) Okumura A, Pitha PM, Yoshimura A, Harty RN. Interaction between Ebola virus glycoprotein and host toll-like receptor 4 leads to induction of proinflammatory cytokines and SOCS1. *J Virol* 84: 27-33, 2010.
- 36) Okumura A, Rasmussen AL, Halfmann P, Feldmann F, Yoshimura A, Feldmann H, Kawaoka Y, Harty RN, Katze MG. Suppressor of Cytokine Signaling 3 Is an Inducible Host Factor That Regulates Virus Egress during Ebola Virus Infection. *J Virol* 89: 10399-10406, 2015.
- 37) Wahl-Jensen V, Kurz S, Feldmann F, Buehler LK, Kindrachuk J, DeFilippis V, da Silva Correia J, Fruh K, Kuhn JH, Burton DR, Feldmann H. Ebola virion attachment and entry into human macrophages profoundly effects early cellular gene expression. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e1359, 2011.
- 38) Olejnik J, Forero A, Deflube LR, Hume AJ, Manhart WA, Nishida A, Marzi A, Katze MG, Ebihara H, Rasmussen AL, Muhlberger E. Ebolaviruses Associated with Differential Pathogenicity Induce Distinct Host Responses in Human Macrophages. *J Virol* 91, 2017.
- 39) Lai CY, Strange DP, Wong TAS, Lehrer AT, Verma S. Ebola Virus Glycoprotein Induces an Innate Immune Response In vivo via TLR4. *Front Microbiol* 8: 1571, 2017.
- 40) Dolnik O, Volchkova V, Garten W, Carbonnelle C, Becker S, Kahnt J, Stroher U, Klenk HD, Volchkov V. Ectodomain shedding of the glycoprotein GP of Ebola virus. *EMBO J* 23: 2175-2184, 2004.
- 41) Escudero-Perez B, Volchkova VA, Dolnik O, Lawrence P, Volchkov VE. Shed GP of Ebola virus triggers immune activation and increased vascular permeability. *PLoS Pathog* 10: e1004509, 2014.
- 42) Iampietro M, Santos RI, Lubaki NM, Bukreyev A.

- Ebola Virus Shed Glycoprotein Triggers Differentiation, Infection, and Death of Monocytes Through Toll-Like Receptor 4 Activation. *J Infect Dis* 218: S327-S334, 2018.
- 43) Mohan GS, Li W, Ye L, Compans RW, Yang C. Antigenic subversion: a novel mechanism of host immune evasion by Ebola virus. *PLoS Pathog* 8: e1003065, 2012.
  - 44) Bokelmann M, Vogel U, Debeljak F, Dux A, Riesle-Sbarbaro S, Lander A, Wahlbrink A, Kromarek N, Neil S, Couacy-Hymann E, Prescott J, Kurth A. Tolerance and Persistence of Ebola Virus in Primary Cells from Mops condylurus, a Potential Ebola Virus Reservoir. *Viruses* 13: 2186, 2021.
  - 45) Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, Delicat A, Paweska JT, Gonzalez JP, Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature* 438: 575-576, 2005.
  - 46) Groseth A, Feldmann H, Strong JE. The ecology of Ebola virus. *Trends Microbiol* 15: 408-416, 2007.
  - 47) Feldmann H, Wahl-Jensen V, Jones SM, Stroher U. Ebola virus ecology: a continuing mystery. *Trends Microbiol* 12: 433-437, 2004.
  - 48) Maganga GD, Kapetshi J, Berthet N, Kebela Ilunga B, Kabange F, Mbala Kingebeni P, Mondonge V, Muyembe JJ, Bertherat E, Briand S, Cabore J, Epelboin A, Formenty P, Kobinger G, Gonzalez-Angulo L, Labouba I, Manuguerra JC, Okwo-Bele JM, Dye C, Leroy EM. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N Engl J Med* 371: 2083-2091, 2014.
  - 49) Schieffelin JS, Shaffer JG, Goba A, Gbakie M, Gire SK, Colubri A, Sealfon RS, Kanneh L, Moigboi A, Momoh M, Fullah M, Moses LM, Brown BL, Andersen KG, Winnicki S, Schaffner SF, Park DJ, Yozwiak NL, Jiang PP, Kargbo D, Jalloh S, Fonnies M, Sinnah V, French I, Kovoma A, Kamara FK, Tucker V, Konuwa E, Sellu J, Mustapha I, Foday M, Yillah M, Kanneh F, Saffa S, Massally JL, Boisen ML, Branco LM, Vandi MA, Grant DS, Happi C, Gevao SM, Fletcher TE, Fowler RA, Bausch DG, Sabeti PC, Khan SH, Garry RF, Program KGHLF, Viral Hemorrhagic Fever C, Team WHO-CR. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N Engl J Med* 371: 2092-2100, 2014.
  - 50) Vetter P, Kaiser L, Schibler M, Ciglenecki I, Bausch DG. Sequelae of Ebola virus disease: the emergency within the emergency. *Lancet Infect Dis* 16: e82-e91, 2016.
  - 51) Tiffany A, Vetter P, Mattia J, Dayer JA, Bartsch M, Kasztura M, Sterk E, Tijerino AM, Kaiser L, Ciglenecki I. Ebola Virus Disease Complications as Experienced by Survivors in Sierra Leone. *Clin Infect Dis* 62: 1360-1366, 2016.
  - 52) Shantha JG, Crozier I, Hayek BR, Bruce BB, Gargu C, Brown J, Fankhauser J, Yeh S. Ophthalmic Manifestations and Causes of Vision Impairment in Ebola Virus Disease Survivors in Monrovia, Liberia. *Ophthalmology* 124: 170-177, 2017.
  - 53) Hereth-Hebert E, Bah MO, Etard JF, Sow MS, Resnikoff S, Fardeau C, Toure A, Ouendeno AN, Sagno IC, March L, Izard S, Lama PL, Barry M, Delaporte E, Postebogui Study G. Ocular Complications in Survivors of the Ebola Outbreak in Guinea. *Am J Ophthalmol* 175: 114-121, 2017.
  - 54) Group PIS, Sneller MC, Reilly C, Badio M, Bishop RJ, Eghrari AO, Moses SJ, Johnson KL, Gayedyu-Dennis D, Hensley LE, Higgs ES, Nath A, Tuznik K, Varughese J, Jensen KS, Dighero-Kemp B, Neaton JD, Lane HC, Fallah MP. A Longitudinal Study of Ebola Sequelae in Liberia. *N Engl J Med* 380: 924-934, 2019.
  - 55) Kuhn JH, Andersen KG, Baize S, Bao Y, Bavari S, Berthet N, Blinkova O, Brister JR, Clawson AN, Fair J, Gabriel M, Garry RF, Gire SK, Goba A, Gonzalez JP, Gunther S, Happi CT, Jahrling PB, Kapetshi J, Kobinger G, Kugelman JR, Leroy EM, Maganga GD, Mbala PK, Moses LM, Muyembe-Tamfum JJ, N'Faly M, Nichol ST, Omilabu SA, Palacios G, Park DJ, Paweska JT, Radoshitzky SR, Rossi CA, Sabeti PC, Schieffelin JS, Schoepp RJ, Sealfon R, Swanepoel R, Towner JS, Wada J, Wauquier N, Yozwiak NL, Formenty P. Nomenclature- and database-compatible names for the two Ebola virus variants that emerged in Guinea and the Democratic Republic of the Congo in 2014. *Viruses* 6: 4760-4799, 2014.
  - 56) Holmes EC, Dudas G, Rambaut A, Andersen KG. The evolution of Ebola virus: Insights from the 2013-2016 epidemic. *Nature* 538: 193-200, 2016.
  - 57) Kugelman JR, Wiley MR, Mate S, Ladner JT, Beitzel B, Fakoli L, Taweh F, Prieto K, DiClaro JW, Minogue T, Schoepp RJ, Schaecher KE, Pettitt J, Bateman S, Fair J, Kuhn JH, Hensley L, Park DJ, Sabeti PC, Sanchez-Lockhart M, Bolay FK, Palacios G, Diseases USAMRIoI, National Institutes of H, Integrated Research Facility-Frederick Ebola Response T. Monitoring of Ebola Virus Makona Evolution through Establishment of Advanced Genomic Capability in Liberia. *Emerg Infect Dis* 21: 1135-1143, 2015.
  - 58) Hoenen T, Safronetz D, Groseth A, Wollenberg KR, Koita OA, Diarra B, Fall IS, Haidara FC, Diallo F, Sanogo M, Sarro YS, Kone A, Togo AC, Traore A, Kodio M, Dosseh A, Rosenke K, de Wit E, Feldmann F, Ebihara H, Munster VJ, Zoon KC, Feldmann H, Sow S. Virology. Mutation rate and genotype variation of Ebola virus from Mali case sequences. *Science* 348: 117-119, 2015.
  - 59) Simon-Loriere E, Faye O, Faye O, Koivogui L, Magassouba N, Keita S, Thiberge JM, Diancourt L, Bouchier C, Vandenbogaert M, Caro V, Fall G, Buchmann JP, Matranga CB, Sabeti PC, Manuguerra JC, Holmes EC, Sall AA. Distinct lineages of Ebola virus in Guinea during the 2014 West African epidemic. *Nature* 524: 102-104, 2015.
  - 60) Park DJ, Dudas G, Wohl S, Goba A, Whitmer SL, Andersen KG, Sealfon RS, Ladner JT, Kugelman JR, Matranga CB, Winnicki SM, Qu J, Gire SK, Gladden-Young A, Jalloh S, Nosamiefan D, Yozwiak NL, Moses LM, Jiang PP, Lin AE, Schaffner SF, Bird B, Towner J, Mamoh M, Gbakie M, Kanneh L, Kargbo D, Massally JL, Kamara FK, Konuwa E, Sellu J, Jalloh AA,

- Mustapha I, Foday M, Yillah M, Erickson BR, Sealy T, Blau D, Paddock C, Brault A, Amman B, Basile J, Bearden S, Belser J, Bergeron E, Campbell S, Chakrabarti A, Dodd K, Flint M, Gibbons A, Goodman C, Klena J, McMullan L, Morgan L, Russell B, Salzer J, Sanchez A, Wang D, Jungreis I, Tomkins-Tinch C, Kislyuk A, Lin MF, Chapman S, MacInnis B, Matthews A, Bochicchio J, Hensley LE, Kuhn JH, Nusbbaum C, Schieffelin JS, Birren BW, Forget M, Nichol ST, Palacios GF, Ndiaye D, Happi C, Gevao SM, Vandi MA, Kargbo B, Holmes EC, Bedford T, Gnirke A, Stroher U, Rambaut A, Garry RF, Sabeti PC. Ebola Virus Epidemiology, Transmission, and Evolution during Seven Months in Sierra Leone. *Cell* 161: 1516-1526, 2015.
- 61) Tong YG, Shi WF, Liu D, Qian J, Liang L, Bo XC, Liu J, Ren HG, Fan H, Ni M, Sun Y, Jin Y, Teng Y, Li Z, Kargbo D, Dfafe F, Kanu A, Chen CC, Lan ZH, Jiang H, Luo Y, Lu HJ, Zhang XG, Yang F, Hu Y, Cao YX, Deng YQ, Su HX, Sun Y, Liu WS, Wang Z, Wang CY, Bu ZY, Guo ZD, Zhang LB, Nie WM, Bai CQ, Sun CH, An XP, Xu PS, Zhang XL, Huang Y, Mi ZQ, Yu D, Yao HW, Feng Y, Xia ZP, Zheng XX, Yang ST, Lu B, Jiang JF, Kargbo B, He FC, Gao GF, Cao WC, China Mobile Laboratory Testing Team in Sierra L. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone. *Nature* 524: 93-96, 2015.
- 62) Diehl WE, Lin AE, Grubaugh ND, Carvalho LM, Kim K, Kyawe PP, McCauley SM, Donnard E, Kucukural A, McDonel P, Schaffner SF, Garber M, Rambaut A, Andersen KG, Sabeti PC, Luban J. Ebola Virus Glycoprotein with Increased Infectivity Dominated the 2013-2016 Epidemic. *Cell* 167: 1088-1098 e1086, 2016.
- 63) Urbanowicz RA, McClure CP, Sakuntabhai A, Sall AA, Kobinger G, Muller MA, Holmes EC, Rey FA, Simon-Loriere E, Ball JK. Human Adaptation of Ebola Virus during the West African Outbreak. *Cell* 167: 1079-1087 e1075, 2016.
- 64) Wang H, Shi Y, Song J, Qi J, Lu G, Yan J, Gao GF. Ebola Viral Glycoprotein Bound to Its Endosomal Receptor Niemann-Pick C1. *Cell* 164: 258-268, 2016.
- 65) Ladner JT, Wiley MR, Mate S, Dudas G, Prieto K, Lovett S, Nagle ER, Beitzel B, Gilbert ML, Fakoli L, Diclario JW, 2nd, Schoepp RJ, Fair J, Kuhn JH, Hensley LE, Park DJ, Sabeti PC, Rambaut A, Sanchez-Lockhart M, Bolay FK, Kugelman JR, Palacios G. Evolution and Spread of Ebola Virus in Liberia, 2014-2015. *Cell Host Microbe* 18: 659-669, 2015.
- 66) Dietzel E, Schudt G, Kraehling V, Matrosovich M, Becker S. Functional Characterization of Adaptive Mutations during the West African Ebola Virus Outbreak. *J Virol* 91, 2017.
- 67) Olabode AS, Gatherer D, Jiang X, Matthews D, Hiscox JA, Gunther S, Carroll MW, Lovell SC, Robertson DL. Identification of important amino acid replacements in the 2013-2016 Ebola virus outbreak. *bioRxiv*: 075168, 2016.
- 68) Ueda MT, Kurosaki Y, Izumi T, Nakano Y, Oloniniyi OK, Yasuda J, Koyanagi Y, Sato K, Nakagawa S. Functional mutations in spike glycoprotein of Zaire ebolavirus associated with an increase in infection efficiency. *Genes Cells* 22: 148-159, 2017.
- 69) Wong G, He S, Leung A, Cao W, Bi Y, Zhang Z, Zhu W, Wang L, Zhao Y, Cheng K, Liu D, Liu W, Kobasa D, Gao GF, Qiu X. Naturally Occurring Single Mutations in Ebola Virus Observably Impact Infectivity. *J Virol* 93, 2019.
- 70) Marzi A, Chadinah S, Haddock E, Feldmann F, Arndt N, Martellaro C, Scott DP, Hanley PW, Nyenswah TG, Sow S, Massaquoi M, Feldmann H. Recently Identified Mutations in the Ebola Virus-Makona Genome Do Not Alter Pathogenicity in Animal Models. *Cell Rep* 23: 1806-1816, 2018.
- 71) Marzi A, Feldmann F, Hanley PW, Scott DP, Gunther S, Feldmann H. Delayed Disease Progression in *Cynomolgus* Macaques Infected with Ebola Virus Makona Strain. *Emerg Infect Dis* 21: 1777-1783, 2015.
- 72) Smither SJ, Eastaugh L, Ngugi S, O'Brien L, Phelps A, Steward J, Lever MS. Ebola Virus Makona Shows Reduced Lethality in an Immune-deficient Mouse Model. *J Infect Dis* 214: S268-S274, 2016.
- 73) Reisler RB, Yu C, Donofrio MJ, Warren TK, Wells JB, Stuthman KS, Garza NL, Vantongeren SA, Donnelly GC, Kane CD, Kortepeter MG, Bavari S, Cardile AP. Clinical Laboratory Values as Early Indicators of Ebola Virus Infection in Nonhuman Primates. *Emerg Infect Dis* 23: 1316-1324, 2017.
- 74) Versteeg K, Menicucci AR, Woolsey C, Mire CE, Geisbert JB, Cross RW, Agans KN, Jeske D, Messaoudi I, Geisbert TW. Infection with the Makona variant results in a delayed and distinct host immune response compared to previous Ebola virus variants. *Sci Rep* 7: 9730, 2017.
- 75) Jankeel A, Menicucci AR, Woolsey C, Fenton KA, Mendoza N, Versteeg K, Cross RW, Geisbert TW, Messaoudi I. Early Transcriptional Changes within Liver, Adrenal Gland, and Lymphoid Tissues Significantly Contribute to Ebola Virus Pathogenesis in *Cynomolgus* Macaques. *J Virol* 94, 2020.
- 76) Thorson AE, Deen GF, Bernstein KT, Liu WJ, Yamba F, Habib N, Sesay FR, Gaillard P, Massaquoi TA, McDonald SLR, Zhang Y, Durski KN, Singaravelu S, Ervin E, Liu H, Coursier A, Marrinan JE, Ariyaratna A, Carino M, Formenty P, Stroher U, Lamunu M, Wu G, Sahr F, Xu W, Knust B, Broutet N, Sierra Leone Ebola Virus Persistence Study G. Persistence of Ebola virus in semen among Ebola virus disease survivors in Sierra Leone: A cohort study of frequency, duration, and risk factors. *PLoS Med* 18: e1003273, 2021.
- 77) Rodriguez LL, De Roo A, Guimard Y, Trappier SG, Sanchez A, Bressler D, Williams AJ, Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Ksiazek TG, Peters CJ, Nichol ST. Persistence and genetic stability of Ebola virus during the outbreak in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J Infect Dis* 179 Suppl 1: S170-176, 1999.
- 78) Uyeki TM, Erickson BR, Brown S, McElroy AK, Cannon D, Gibbons A, Sealy T, Kainulainen MH,

- Schuh AJ, Kraft CS, Mehta AK, Lyon GM, 3rd, Varkey JB, Ribner BS, Ellison RT, 3rd, Carmody E, Nau GJ, Spiropoulou C, Nichol ST, Stroher U. Ebola Virus Persistence in Semen of Male Survivors. *Clin Infect Dis* 62: 1552-1555, 2016.
- 79) Sissoko D, Duraffour S, Kerber R, Kolie JS, Beavogui AH, Camara AM, Colin G, Rieger T, Oestereich L, Palyi B, Wurr S, Guedj J, Nguyen THT, Eggo RM, Watson CH, Edmunds WJ, Bore JA, Koundouno FR, Cabeza-Cabrero M, Carter LL, Kafetzopoulou LE, Kuisma E, Michel J, Patrono LV, Rickett NY, Singethan K, Rudolf M, Lander A, Pallasch E, Bockholt S, Rodriguez E, Di Caro A, Wolfel R, Gabriel M, Gurry C, Formenty P, Keita S, Malvy D, Carroll MW, Anglaret X, Gunther S. Persistence and clearance of Ebola virus RNA from seminal fluid of Ebola virus disease survivors: a longitudinal analysis and modelling study. *Lancet Glob Health* 5: e80-e88, 2017.
- 80) Diallo B, Sissoko D, Loman NJ, Bah HA, Bah H, Worrell MC, Conde LS, Sacko R, Mesfin S, Loua A, Kalonda JK, Erondou NA, Dahl BA, Handrick S, Goodfellow I, Meredith LW, Cotten M, Jah U, Guetiya Wadoum RE, Rollin P, Magassouba N, Malvy D, Anglaret X, Carroll MW, Aylward RB, Djingarey MH, Diarra A, Formenty P, Keita S, Gunther S, Rambaut A, Duraffour S. Resurgence of Ebola Virus Disease in Guinea Linked to a Survivor With Virus Persistence in Seminal Fluid for More Than 500 Days. *Clin Infect Dis* 63: 1353-1356, 2016.
- 81) Keita AK, Vidal N, Toure A, Diallo MSK, Magassouba N, Baize S, Mateo M, Raoul H, Mely S, Subtil F, Kpamou C, Koivogui L, Traore F, Sow MS, Ayoub A, Etard JF, Delaporte E, Peeters M, PostEbogui Study G. A 40-Month Follow-Up of Ebola Virus Disease Survivors in Guinea (PostEbogui) Reveals Long-Term Detection of Ebola Viral Ribonucleic Acid in Semen and Breast Milk. *Open Forum Infect Dis* 6: ofz482, 2019.
- 82) Caviness K, Kuhn JH, Palacios G. Ebola virus persistence as a new focus in clinical research. *Curr Opin Virol* 23: 43-48, 2017.
- 83) Varkey JB, Shantha JG, Crozier I, Kraft CS, Lyon GM, Mehta AK, Kumar G, Smith JR, Kainulainen MH, Whitmer S, Stroher U, Uyeki TM, Ribner BS, Yeh S. Persistence of Ebola Virus in Ocular Fluid during Convalescence. *N Engl J Med* 372: 2423-2427, 2015.
- 84) Jacobs M, Rodger A, Bell DJ, Bhagani S, Cropley I, Filipe A, Gifford RJ, Hopkins S, Hughes J, Jabeen F, Johannessen I, Karageorgopoulos D, Lackenby A, Lester R, Liu RS, MacConnachie A, Mahungu T, Martin D, Marshall N, Mephram S, Orton R, Palmarini M, Patel M, Perry C, Peters SE, Porter D, Ritchie D, Ritchie ND, Seaton RA, Sreenu VB, Templeton K, Warren S, Wilkie GS, Zambon M, Gopal R, Thomson EC. Late Ebola virus relapse causing meningoencephalitis: a case report. *Lancet* 388: 498-503, 2016.
- 85) Mbala-Kingebeni P, Pratt C, Mutafali-Ruffin M, Pauthner MG, Bile F, Nkuba-Ndaye A, Black A, Kinganda-Lusamaki E, Faye M, Aziza A, Diagne MM, Mukadi D, White B, Hadfield J, Gangavarapu K, Bisento N, Kazadi D, Nsunda B, Akonga M, Tshiani O, Misasi J, Ploquin A, Epaso V, Sana-Paka E, N'Kasar Y TT, Mambu F, Edidi F, Matondo M, Bula Bula J, Diallo B, Keita M, Belizaire MRD, Fall IS, Yam A, Mulangu S, Rimion AW, Salfati E, Torkamani A, Suchard MA, Crozier I, Hensley L, Rambaut A, Faye O, Sall A, Sullivan NJ, Bedford T, Andersen KG, Wiley MR, Ahuka-Mundeke S, Muyembe Tamfum JJ. Ebola Virus Transmission Initiated by Relapse of Systemic Ebola Virus Disease. *N Engl J Med* 384: 1240-1247, 2021.
- 86) Heise MT, Virgin HW. Pathogenesis of Viral Infection. 2013. in *Fields Virology*. Knipe DM, Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. Pennsylvania, USA.
- 87) Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining chronic viral infection. *Cell* 138: 30-50, 2009.
- 88) Zeng X, Blancett CD, Koistinen KA, Schellhase CW, Bearss JJ, Radoshitzky SR, Honnold SP, Chance TB, Warren TK, Froude JW, Cashman KA, Dye JM, Bavari S, Palacios G, Kuhn JH, Sun MG. Identification and pathological characterization of persistent asymptomatic Ebola virus infection in rhesus monkeys. *Nat Microbiol* 2: 17113, 2017.
- 89) Perry DL, Huzella LM, Bernbaum JG, Holbrook MR, Jahrling PB, Hagen KR, Schnell MJ, Johnson RF. Ebola Virus Localization in the Macaque Reproductive Tract during Acute Ebola Virus Disease. *Am J Pathol* 188: 550-558, 2018.
- 90) Mulangu S, Dodd LE, Davey RT, Jr., Tshiani Mbaya O, Proschan M, Mukadi D, Lusakibanza Manzo M, Nzolo D, Tshomba Oloma A, Ibanda A, Ali R, Coulibaly S, Levine AC, Grais R, Diaz J, Lane HC, Muyembe-Tamfum JJ, Group PW, Sivahera B, Camara M, Kojan R, Walker R, Dighero-Kemp B, Cao H, Mukumbayi P, Mbala-Kingebeni P, Ahuka S, Albert S, Bonnett T, Crozier I, Duvenhage M, Proffitt C, Teitelbaum M, Moench T, Aboulhab J, Barrett K, Cahill K, Cone K, Eckes R, Hensley L, Herpin B, Higgs E, Ledgerwood J, Pierson J, Smolskis M, Sow Y, Tierney J, Sivapalasingam S, Holman W, Gettinger N, Vallee D, Nordwall J, Team PCS. A Randomized, Controlled Trial of Ebola Virus Disease Therapeutics. *N Engl J Med* 381: 2293-2303, 2019.
- 91) Diallo MSK, Rabilloud M, Ayoub A, Toure A, Thaurignac G, Keita AK, Butel C, Kpamou C, Barry TA, Sall MD, Camara I, Leroy S, Msellati P, Ecochard R, Peeters M, Sow MS, Delaporte E, Etard JF, Contactebogui Study G. Prevalence of infection among asymptomatic and paucisymptomatic contact persons exposed to Ebola virus in Guinea: a retrospective, cross-sectional observational study. *Lancet Infect Dis* 19: 308-316, 2019.
- 92) Ludtke A, Oestereich L, Ruibal P, Wurr S, Pallasch E, Bockholt S, Ip WH, Rieger T, Gomez-Medina S, Stocking C, Rodriguez E, Gunther S, Munoz-Fontela C. Ebola virus disease in mice with transplanted human hematopoietic stem cells. *J Virol* 89: 4700-4704, 2015.
- 93) Bird BH, Spengler JR, Chakrabarti AK, Khristova ML, Sealy

- TK, Coleman-McCray JD, Martin BE, Dodd KA, Goldsmith CS, Sanders J, Zaki SR, Nichol ST, Spiropoulou CF. Humanized Mouse Model of Ebola Virus Disease Mimics the Immune Responses in Human Disease. *J Infect Dis* 213: 703-711, 2016.
- 94) Lavender KJ, Williamson BN, Saturday G, Martellaro C, Griffin A, Hasenkrug KJ, Feldmann H, Prescott J. Pathogenicity of Ebola and Marburg Viruses Is Associated With Differential Activation of the Myeloid Compartment in Humanized Triple Knockout-Bone Marrow, Liver, and Thymus Mice. *J Infect Dis* 218: S409-S417, 2018.
- 95) Spengler JR, Prescott J, Feldmann H, Spiropoulou CF. Human immune system mouse models of Ebola virus infection. *Curr Opin Virol* 25: 90-96, 2017.
- 96) Wozniak DM, Lavender KJ, Prescott J, Spengler JR. The Utility of Human Immune System Mice for High-Containment Viral Hemorrhagic Fever Research. *Vaccines (Basel)* 8, 2020.
- 97) Spengler JR, Lavender KJ, Martellaro C, Carmody A, Kurth A, Keck JG, Saturday G, Scott DP, Nichol ST, Hasenkrug KJ, Spiropoulou CF, Feldmann H, Prescott J. Ebola Virus Replication and Disease Without Immunopathology in Mice Expressing Transgenes to Support Human Myeloid and Lymphoid Cell Engraftment. *J Infect Dis* 214: S308-S318, 2016.
- 98) Kotliar D, Lin AE, Logue J, Hughes TK, Khoury NM, Raju SS, Wadsworth MH, 2nd, Chen H, Kurtz JR, Dighero-Kemp B, Bjornson ZB, Mukherjee N, Sellers BA, Tran N, Bauer MR, Adams GC, Adams R, Rinn JL, Mele M, Schaffner SF, Nolan GP, Barnes KG, Hensley LE, McIlwain DR, Shalek AK, Sabeti PC, Bennett RS. Single-Cell Profiling of Ebola Virus Disease In Vivo Reveals Viral and Host Dynamics. *Cell* 183: 1383-1401 e1319, 2020.
- 99) Yamaoka S, Ebihara H. Pathogenicity and Virulence of Ebolaviruses with Species- and Variant-specificity. *Virulence* 12: 885-901, 2021.

## The latest research findings on Ebola virus

**Satoko YAMAOKA<sup>1)</sup>, Hideki EBIHARA<sup>2)</sup>**

1) Department of Infectious Diseases, Mayo Clinic

2) National Institute of Infectious Diseases

2013-2016 Ebola virus disease (EVD) outbreak was the largest EVD outbreak ever documented that started earlier in Guinea and later widely spread throughout West Africa, ending up a total of > 28,000 human infections. In this review, we outline research findings on Ebola virus (EBOV) variant Makona, a new EBOV variant isolated from the 2013-2016 EVD outbreak, and introduce the unique biological and pathogenic characteristics of Makona variant. We also discuss about the relevance of persistent infection of EBOV in EVD survivors with resurgence of EVD outbreak in Guinea in 2021. Moreover, this review covers a recent case report of EVD relapse and deliberates new interpretations of EBOV biology and EVD outbreak.