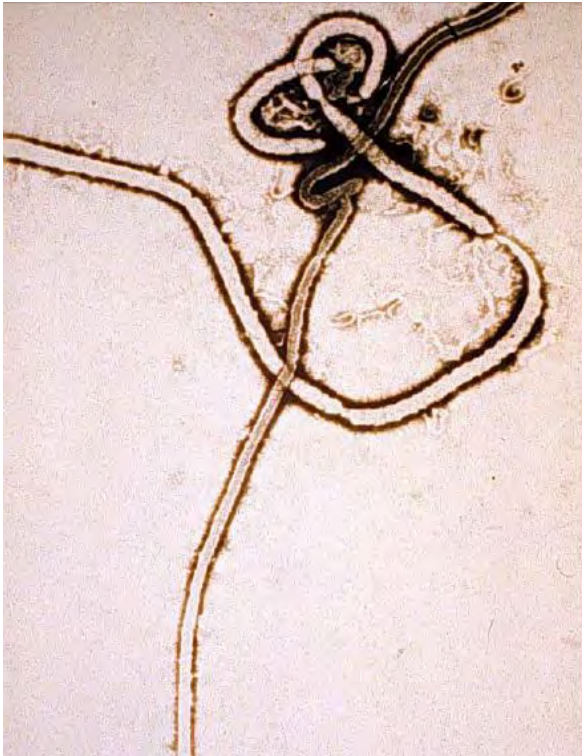




UPPSALA  
UNIVERSITET

## Ebola: ett nytt hot i Afrika



Miriam Ramliden

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2010  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

## Sammandrag

Ebola framträdde först för lite mer än 30 år sedan, och sedan dess har det funnits flera större utbrott av sjukdomen i Afrika. Sjukdomen orsakas av ett virus och manifesterar sig som en blödarfeber med en hög dödlighet bland både människor och djur. Den sprids genom direkt kontakt mellan friska och infekterade människor. Dessutom kan ebola spridas från döda eller sjuka vilda djur till människor, och det är på det sättet många ebolautbrott bland människor startas. Forskare spekulerar även om en potentiell reservoar för ebolaviruset, men inget konkret bevis har hittats än. Viruset som orsakar ebola är ett trådformigt virus med ett RNA-genom som kodar för sju olika proteiner. Fyra av dessa är inblandade i virustranskription och replikation och tre är viktiga för viruspartikelns ytstruktur och avknoppning av nya virus från en värdcell. Trots att vissa mekanismer hos virusproteinerna, såsom cellpenetrering, är välstuderade, kan forskare fortfarande mycket lite om hur proteinerna bidrar till virusets patogenes. Forskare har nästan lika lite information om ebolas attack på värdens immunförsvar, men det är tydligt att ebolaviruset har specifika och effektiva sätt att undvika värdens anti-virussystem. På grund av bristen på information om ebola finns det inget godkänt vaccin eller läkemedel mot den, dock finns det flera experimentella vaccintyper i olika faser av kliniska studier.

## Inledning

Under de senaste åren har ebola fått enorm uppmärksamhet av medierna och allmänheten som en ny och skrämmande infektionssjukdom. Trots det är ebola en av de mest sällsynta infektionerna hos människor; enbart ett par tusen fall av sjukdomen har någonsin rapporterats, och det har endast funnits ett fåtal utbrott på ett mycket begränsat område sen sjukdomen upptäcktes 1976<sup>10</sup>. Däremot har sjukdomen oftast en 50 till 90 % dödlighet hos människor och bristen på läkemedel gör det nästan omöjligt för hälsovårdare att rädda patienter<sup>10, 57</sup>.

Räcker ebolas våldsamma karaktär och höga dödlighet som stöd för den rådande skrällen, eller är det låga antalet smittade bevis för att ebola är endast en liten och sällsyn sjukdom? Är ebola ett allvarligt hot mot människor?

## Den kliniska sjukdomen

Ebola är en våldsam, och ofta dödlig, sjukdom som sporadiskt och slumpmässigt har drabbat människor och djur sen den först upptäcktes 1976 då ett utbrott inträffade i Sudan och en närliggande del av Zaire (nu Kongo-Kinshasa) vid Ebolafloren<sup>11, 31</sup>. Sedan dess har ett tjugotal separata fall eller utbrott rapporterats, mestadels i subsahariska Afrika, men också bland apor i karantän till exempel i USA, och bland grisar i Filippinerna<sup>4, 10</sup> (Tabell 1).

Tabell 1. Kända utbrott av ebola, i kronologisk ordning. Data från ref. 10.

År	Land	Virusart	Antal (döda/fall)
1976	Zaire (Kongo-Kinshasa)	Zaire	280/318
1976	Sudan	Sudan	151/284
1979	Sudan	Sudan	22/34
1989-1990	USA, Filippinerna	Reston	0/0 <sup>a</sup>
1992	Italien	Reston	0/0 <sup>a</sup>
1994	Gabon	Zaire	31/52
1994	Elfenbenskusten	Côte d'Ivoire	0/1
1995	Kongo-Kinshasa	Zaire	250/315
1996 (jan-apr)	Gabon	Zaire	21/37
1996-1997 (jul-jan)	Gabon	Zaire	45/60
1996	USA, Filippinerna	Reston	0/0 <sup>a</sup>
2000-2001	Uganda	Sudan	224/425
2001-2002 (okt-mar)	Gabon	Zaire	53/65
2001-2002 (okt-mar)	Kongo-Brazzaville	Zaire	43/57
2002-2003 (dec-apr)	Kongo-Brazzaville	Zaire	128/143
2003 (nov-dec)	Kongo-Brazzaville	Zaire	29/35
2004	Sudan	Sudan	7/17
2007	Kongo-Kinshasa	Zaire	187/264
2007-2008 (dec-jan)	Uganda	Bundibugyo	37/149
2008	Filippinerna	Reston	0/0 <sup>a</sup>
2008-2009 (dec-feb)	Kongo-Kinshasa	Zaire	15/32
2009	Filippinerna	Reston	0/0 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Ebola-Reston hittades hos filippinska apor i karantän. Några karantänarbetare utvecklade antikroppar mot ebola, men visade inga sjukdomssymtom.

<sup>b</sup>Ebola-Reston hittades hos grisar. Några grisbönder utvecklade antikroppar mot ebola, men visade inga sjukdomssymtom.

## Smittöverföring

Infektionen sprids genom direkt kontakt med infekterade människor eller djur, antingen sjuka eller döda. Kontakt med döda vilda djur är ofta ursprungspunkten för ebolautbrott bland människor, som i flera utbrott i Gabon och Kongo-Brazzaville mellan 2001 och 2003. Någon naturlig reservoar eller vektor (en eller flera arter som bär på och sprider ebola utan att själva bli sjuka) har ännu inte hittats, men den verkar vara i regnskogarna i Afrika och delar av Sydostasien.<sup>57</sup>

Den första patienten i ett ebolautbrott kan ha råkat ut för infektionen på olika sätt. Efter det första fallet sprids dock sjukdomen förutsägbart. Familjemedlemmar till patienten blir ofta infekterade då de kommer i nära kontakt med den infekterade människan<sup>11</sup>. Infektionen kan också spridas genom traditionella begravningsceremonier som innebär direkt kontakt med liket<sup>57</sup>. Ett ännu vanligare spridningssätt är inom hälsovården, framförallt på många afrikanska sjukhus där ansiktsmasker och handskar inte alltid används<sup>3,11</sup>. Där blir ofta sjukhuspersonalen sjuk, och även andra patienter, om nålar, sprutor eller sängkläder inte steriliseras<sup>3,11</sup>. Ebola har också visat sig kunna spridas via luften, men detta har endast inträffat under försöksförhållanden i laboratorier och inte bland människor eller i naturen<sup>11</sup>.

## Symptom, diagnos och behandling

En ebolainfektion orsakar en blödarfeber med symtom som liknar flera andra virala hemorragiska febrar<sup>57</sup>. Efter en inkubationsperiod på cirka 5-7 dagar (kan även vara upp till tre veckor) får den infekterade patienten plötsligt huvudvärk, feber och muskelvärk<sup>32</sup>. Detta följs av kräkningar, blodiga diarréer, hudutslag, nedsatt njur- och leverfunktion och inre blödningar samt ibland blödningar från näsa, mun, ögon, och hud<sup>57,31</sup>. Patienten dör oftast på grund av inre blödningar, uttorkning, och chock<sup>31</sup>. I laboratoriet märker man låga antal vita



Figur 1. Hälsovårdsarbetare behandlar en Ebolapatient i Kongo-Kinshasa, 2007.<sup>30</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

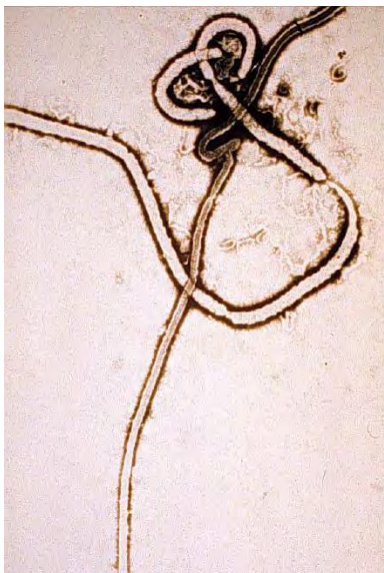
blodkroppar och blodplättar samt en ökad mängd leverenzymmer<sup>57</sup>. Dessutom finns stora mängder antigener i patienternas blodprov<sup>32</sup>. Patienter som avlider har oftast extremt höga mängder virus i blodet, men trots det har de inte producerat antikroppar mot ebolaviruset<sup>11,32</sup>. Ebola attackerar makrofager och dendritiska celler tidigt i infektionsloppet<sup>32</sup>. Dessa celler för infektionen vidare till lymfnoderna där den sedan kan sprida sig till lymfvätskan, blodet, och resten av kroppen<sup>32</sup>.

Ebola diagnostiseras ofta genom symtomobservationer, men detta kan ta flera dagar eftersom de tidiga symtomen inte är specifika för just ebola<sup>11</sup>. Sjukdomen kan också diagnostiseras med hjälp av

specialiserade laborietester på blodprov som detekterar specifika antigener, såsom enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA-testet)<sup>11,57</sup>. Andra tester kan detektera antikroppar mot viruset<sup>57</sup>. Hantering av misstänkt infekterade prov kräver dock extrema biosäkerhetsåtgärder eftersom ebolaviruset klassificeras på biosäkerhetsrisk nivå 4 enligt WHO:s direktiv<sup>57</sup>.

Det finns inga läkemedel eller vacciner mot ebola. Därför kan patienter endast få symtomlindrande vård, exempelvis med smärtstillande mediciner och närings- och vätsketillförsel <sup>31</sup> (Fig. 1). På grund av sjukdomens uttorkningseffekter behöver patienter oftast intravenösa vätskor med elektrolyter för att återställa kroppens vätskebalans <sup>57</sup>. En väsentlig aspekt av behandlingsprocessen är att stoppa infektionsspridningen genom att använda skyddsutrustning (Fig. 1) och steriliseringstekniker, informera vårdpersonalen och allmänheten, söka upp potentiellt smittade människor (framförallt dem som varit i kontakt med patienten), och isolera fall <sup>31</sup>. Sedan är det viktigt att på ett säkert och effektivt sätt ta hand om liken <sup>31</sup>.

## Ebolaviruset

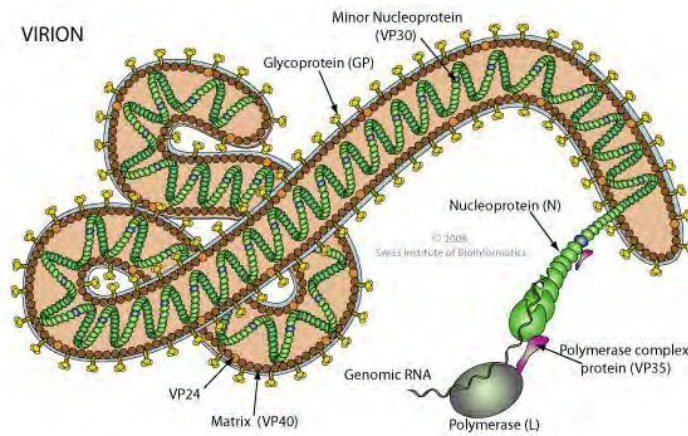


Figur 2. Elektronmikrofoto av ett Ebolavirus. <sup>11</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

Ebolafeber orsakas av ett filovirus som kan infektera både människor och djur <sup>57</sup>. Familjen Filoviridae består av två släkten, *Marburgvirus* och *Ebolavirus*, och båda orsakar liknande hemorragiska febrar <sup>52</sup>. I släktet *Ebolavirus* finns fem skilda arter nämnt efter utbrottsplatser; *Zaire ebolavirus* (ZEBOV) hittades 1976 samtidigt som *Sudan ebolavirus* (SEBOV), *Reston ebolavirus* (REBOV) hittades i Reston, Virginia, USA 1989, *Côte d'Ivoire ebolavirus* (CIEBOV) upptäcktes hos en människa 1994, och den nyligen upptäckta *Bundibugyo ebolavirus* (BEBOV) orsakade det senaste utbrottet av ebola i Uganda 2007 <sup>2, 52</sup>. Både ZEBOV och SEBOV har orsakat flera större utbrott av ebolafeber hos människor och infektion med dessa virus medför en hög mortalitet på cirka 80-90% respektive 50-55% <sup>45</sup>. BEBOV har även den orsakat ett stort utbrott hos människor, men med en mycket lägre mortalitet (cirka 36 %) <sup>52</sup>. Varken CIEBOV eller REBOV har orsakat omfattande utbrott av ebola utan endast några enstaka fall <sup>10</sup>.

Namnet filovirus härstammar från det latinska *filum*, som betyder ”tråd,” och betecknar viruspartiklarnas morfologi. Ebolaviruset är ett fintrådigt virus som kan ses i elektronmikroskop i olika former, till exempel, en U-form, en 6-form, eller en lång och förgrenad form (Fig. 2). Viruspartikeln är cirka 80 nm i diameter och mellan 800 och 1400 nm lång, och består av ett membranhölje och en nukleokapsid innehållande ett polymeraskomplex, RNA och matrixproteiner. Höljet består av ett lipiddubbellager som härrör från värdcellens plasmamembran vid avknoppningen av nya viruspartiklar från värdcellen. Nukleokapsiden har spiralsymmetri, är cirka 50 nm i diameter, och är uppbyggd av nukleoproteiner (NP) och virusprotein (VP) <sup>30</sup>. Dessa proteiner är länkade via matrixproteinerna VP24 och VP40 till höljets lipiddubbellager. Inom nukleokapsiden finns RNA-molekylen, samt VP35 och RNA-polymeras L. På viruspartikelns yta finns små knoppar, peplomerer, som är 10 nm i diameter och utplacerade med 10 nm mellanrum och består av glykoprotein (GP). GP är bundet till höljets dubbellager och verkar i värdcellegenkänning. (Fig. 3). <sup>2</sup>

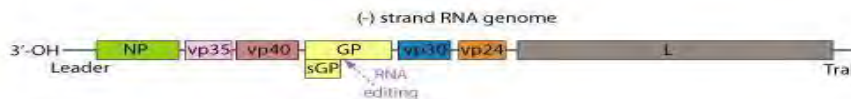




Figur 3. Schematisk bild på ett Ebolavirus.<sup>50</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

### Genomet och proteinerna

Ebolagenomet står för endast 1,1 % av viruspartikelns vikt, och består av en enda molekyl av linjär, enkelsträngad RNA med minuspolaritet (Fig. 4). Eftersom RNA-molekylen har minuspolaritet (går från 3' till 5') kan den inte använda värdcellens vanliga pluspolaritetsmaskineri för syntes av virusproteinerna. Alltså måste viruset bära med sig alla enzymer för syntes av mRNA och replikation. Syntesen börjar vid 3'-ändan och resulterar i sju till nio mRNA-molekyler från varje gen. Genomet innehåller sju gener som kodar för totalt åtta proteiner (Fig. 4), vilka sedan ger upphov till en ny viruspartikel.<sup>2</sup>



Figur 4. Ebolavirusets genom. Generna kodar för åtta proteiner varav två kommer från överlappande gener (sGP och GP).<sup>50</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

Ebolavirusets nukleoprotein (NP eller N) är dess största protein bestående av 739 aminosyror, med en hydrofob N-terminal del, och en hydrofil C-terminal del<sup>55</sup>. N-terminalen deltar i NP-NP interaktioner för att bilda helixstrukturer i form av ett rör<sup>55</sup>. Detta NP-rör verkar som byggnadsstöd för nukleokapsiden<sup>55</sup>. Proteinmodifikationer, såsom glykosylering, behövs så att NP kan interagera med VP30 och VP35 och bygga upp nukleokapsiden<sup>22</sup>. Värdenzymen och -mekanismerna för denna process är dock okända<sup>22</sup>. NP:s C-terminala del deltar inte i uppbyggnaden av nukleokapsiden utan behövs för inkorporering av den i den nya viruspartikeln<sup>55</sup>.

Den andra genen i ebolas genom kodar för VP35, som spelar en essentiell roll i RNA-syntesen, och även behövs för bildning av nukleokapsiden<sup>2, 22, 38</sup>. Trots dessa viktiga funktioner har mest forskning kring VP35 ägnats åt dess relation till värdorganismens immunsystem. VP35 motverkar typ I interferoner, proteiner som lymfocyter utsöndrar som svar mot patogener, främst virus<sup>5</sup>. VP35 bidrar därmed till ebolas patogenicitet.

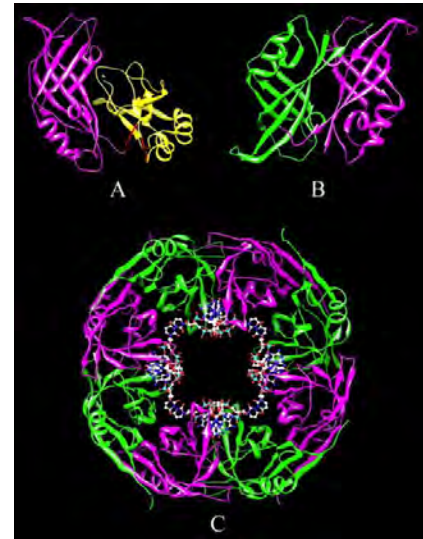
En ebolaviruspartikel innehåller mer VP40 (Fig. 5), det primära matrixproteinet, än något annat protein<sup>20</sup>. Proteinet är lokaliserat direkt innanför virusets hölje där det stabiliserar virusets struktur<sup>2</sup>. Det fungerar även som en länk mellan nukleokapsiden och höljet<sup>2</sup>. I dessa funktioner existerar VP40 som en polymer av monomerer med två distinkta regioner (Fig. 5), men proteinet verkar även vara viktigt för replikering av genomet<sup>20</sup>. Oktamerer av VP40 (Fig. 5) bildas då proteiner binder till RNA:t, och denna konformation är kritisk för replikeringsprocessen<sup>20</sup>.

Genomets fjärde del består av två överlappande gener som kodar för två glykoproteinföregångare: en icke-strukturell pre-sGP och en strukturell pre-GP<sup>17</sup>. Den N-terminala delen av pre-sGP klyvs till sGP, som sedan bildar disulfidlänkade homodimerer, medan den C-terminala delen klyvs till  $\Delta$ -peptid<sup>17</sup>. Funktionen hos dessa proteiner är ännu inte känd, men forskare har sett att båda utsöndras från infekterade celler<sup>17</sup>. Pre-GP klyvs till två subenheter, GP1 och GP2, som först bildar en dimer och sedan trimerer<sup>21</sup>. GP hjälper viruset binda till och fusera med värdcellen<sup>21</sup>. Glykoproteinet påverkar också virusets cytotoxicitet genom att reducera antalet av vissa membranmolekyler på värdcellens yta<sup>49</sup>. Sullivan m.fl. visade att GP förminskar antalet av både  $\alpha V\beta 3$ -integrin, en molekyl som verkar i cellvidhäftning, och MHC-I, som deltar i immunförsvaret vid identifiering av infekterade celler<sup>49</sup>. Denna funktion hos GP bidrar till att förstöra cellen och även undvika värdorganismens immunsystem.

VP30 är ett fosfoprotein med två huvudfunktioner<sup>37</sup>. Som transkriptionsfaktor aktiverar och reglerar det RNA-syntes, och som byggsten i nukleokapsiden bidrar det till virusets struktur, samt nukleokapsidens inkorporering i en ny viruspartikel<sup>24</sup>. Fosforylering av VP30 styr vilken funktion proteiner utför; fosforylering ökar VP30:s affinitet för NP och minskar dess affinitet för RNA och transkriptionsaktivitet, och vice versa<sup>24</sup>. VP30:s RNA-bindningsförmåga är specifik för ssRNA, främst ebolas eget genom<sup>24</sup>. Seringrupper vid proteinets N-terminal interagerar med en RNA sekundärstruktur vid transkriptionsstartpunkten och därmed aktiveras transkription av genomet<sup>24</sup>.

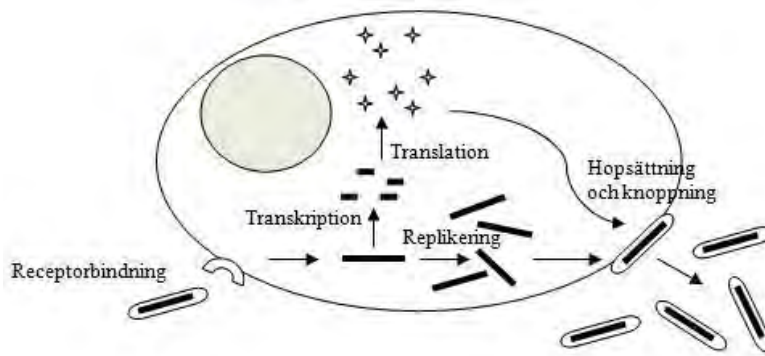
Förutom VP40 har ebola ytterligare ett matrixprotein, VP24, som utgör en mindre del av viruspartikeln<sup>19</sup>. Mycket lite är känt om VP24, men dess association till lipiddubbellagret och dess tendens att spontant bilda komplexa tetramerer tyder på att det har en funktion i viruspartikelns hopsättning och avknoppning<sup>19</sup>. Vissa experiment visar även att VP24 inhiberar interferenssignaler, vilket skulle hämma värdorganismens immunreaktion<sup>43</sup>.

Slutligen kodar ebolagenomet för ett RNA-beroende RNA-polymeras, kallad L-proteinet. L-proteinet katalyserar RNA-syntesen efter att VP30 har aktiverat processen. L-genen är starkt konserverad och alltså väldigt lik den hos andra virus med minuspolaritet, vilket tyder på att L-proteinet troligen är ett mycket gammalt, viktigt, och effektivt protein.<sup>54</sup>



Figur 5. *Zaire ebolavirus* VP40 proteinstruktur. **A:** Monomerstruktur med lila N-terminal och gul C-terminal. **B:** Dimerstruktur med lila och gröna subenheter. **C:** Oktamerstruktur med lila och gröna subenheter.<sup>2</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

## Ebolas livscykel



Figur 6. Schematiskt och förenklat diagram över Ebolavirusets replikation i värdcellen.

En exakt och detaljerad beskrivning av ebolas livscykel kommer ta många år av forskning att fastställa, men idag känner forskare till en någorlunda förenklad version av livs cykeln. Först binder viruspartikelns GP till värdcellens plasmamembran, vilket orsakar att viruset endocyteras<sup>34</sup> (Fig. 6). Virusets höljemembran fuserar med värdcellens plasmamembran så att nukleokapsiden frisätts i cytoplasman<sup>34</sup>. Där avläses virusgenomet för att syntetisera polyadenylerade mRNA-molekyler från virusgenerna<sup>45</sup> (Fig. 6). RNA-syntesen katalyseras av L-proteinet men aktiveras endast då VP30 ackumulerats i katalytiska koncentrationer<sup>2</sup>. Den ökade mängden virusproteiner (främst NP) i cytoplasman signalerar L-proteinet att byta från mRNA-syntes till replikering av RNA-molekylen<sup>45</sup>.

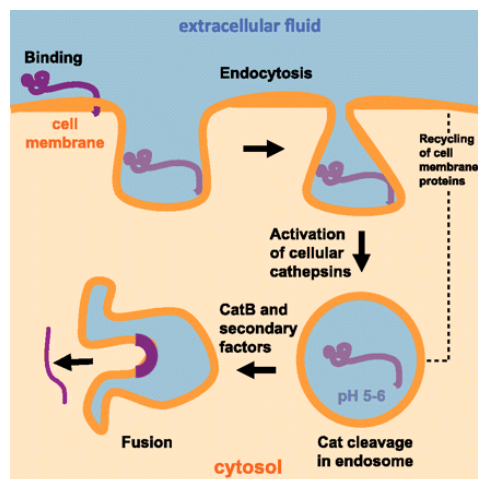
Uttrycket av NP, VP24, och VP35 leder till bildning av nukleokapsider i värdcellens cytoplasma<sup>38</sup>. Dessa nukleokapsider inkorporerar nya RNA-molekyler och transporteras sedan via mikrotubuli till plasmamembranet med hjälp av VP40<sup>38,45</sup>. VP40 transporteras även separat genom att binda via VP40-aminosyrorna 303-307 till Sec24C. Sec24C är en komponent av värdens COPII-transportsystemet, ett proteinkomplex som utför vesikeltransport mellan ER, Golgi-apparaten, och cellens membranet<sup>58</sup>. COPII transporterar då vesiklar med VP40 till plasmamembranet<sup>58</sup>. Då GP uttrycks följer det den vanliga utsöndringsvägen genom ER och Golgi-apparaten och ackumuleras sedan i vesiklar tillsammans med VP40<sup>2</sup>. Dessa tomma vesiklar kan utsöndras av cellen som virusliknande partiklar (VLPs), men vanligtvis inkorporeras även nukleokapsider i vesiklarna, som sedan transporteras vidare till plasmamembranet där det nya viruset släpps ut genom exocytos<sup>2</sup>.

### Cellpenetration

Ebolaviruset kommer in i värdcellen med hjälp av glykoproteiner som sticker ut från virushöljets yta<sup>2</sup>. Glykoproteingenen kodar både för ett protein som utsöndras från den infekterade cellen (sGP), och för ett transmembranprotein (GP) som produceras genom RNA-editering<sup>35</sup>. Det är GP, ett viralt fuseringsprotein tillhörande klass I, som spelar en viktig roll i identifiering av värdcellen och fusion mellan virus- och cellmembranen<sup>46</sup>. Det syntetiseras som en stor polypeptid med 676 aminosyror, men de första 32 aminosyrorna som utgör signalpeptiden klyvs direkt efter translation<sup>35</sup>. Efter det följer GP den vanliga utsöndringsvägen för proteiner, genom ER och Golgi-apparaten, där det redigeras och förvandlas till GP0<sup>35</sup>. GP0 klyvs sedan och bildar två subenheter: GP1, den receptorbindande delen som sitter på virusmembranets yta, och GP2, fusionsdelen som är integrerad i membranet<sup>21,35,46</sup>. Subenheterna är länkade med en disulfidbindning (Cys<sup>53</sup>-Cys<sup>609</sup>) och bildar därmed en heterodimer<sup>21</sup>. Hela GP-komplexet består av en trimer av dessa heterodimerer<sup>21,34</sup>.



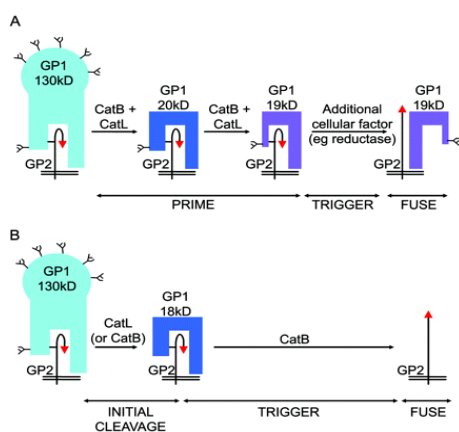
Det är GP1 som står för igenkänning av värdcellen genom att binda till receptorer på värdcellens yta<sup>21</sup>. Den exakta receptorbindningsregionen (RBD) har ännu inte hittats, men den verkar ligga inom de första 150 aminosyrorerna i den N-terminala delen (residuum 33-185)<sup>9, 35</sup>. Inte heller den huvudsakliga kognata receptorn GP1 binder till på värdcellen har ännu hittats<sup>34</sup>. Dock verkar ebolaviruset binda till flera olika cellfaktorer, till exempel, folatreceptor  $\alpha$ , C-typ lektiner (DC-SIGN, L-SIGN, och hMGL), samt Tyro3 familjmedlemmar<sup>1, 12, 47, 51</sup>.



Figur 7. Schematisk modell för viruspartikelns penetration av värdcellen. Först binder GP till värdcellsmembranet, sedan endocyteras viruspartikeln in i värdcellen och GP klyvs i en katepsinbaserad reaktion. Till sist fuseras virus- och värdcellsmembranen.<sup>21</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

Kritiskt för GPs effektivitet verkar vara proteolys med hjälp av katepsiner, proteaser som finns i de flesta celltyper<sup>13, 21, 26, 46</sup>. Proteolysen är en flerstegsprocess där GP1 först klyvs av katepsin B (CatB) och/eller katepsin L (CatL)<sup>13, 26</sup>. Dessa proteaser är endast aktiva vid pH 5-6, vilket gör värdcellens upptag av ebolaviruset pH-beroende<sup>21</sup>.

Klyvning med CatL avlägsnar flera sekvenser från GP1 så att en stabil mellanmolekyl bildas<sup>13, 21, 26, 46</sup>. Storleken på detta fragment är lite kontroversiell då vissa forskare, till exempel Kaletsky m.fl. och Chandran m.fl. påstår att den är 18-kDa, medan andra, till exempel

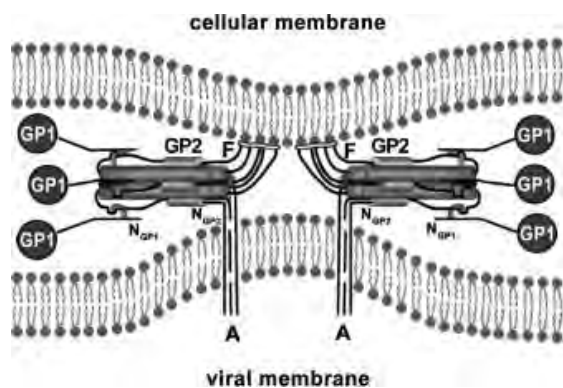


Figur 8. Olika modeller för GP-medierad fusion. **A:** Enligt en modell av Schornberg m.fl. klyvs GP1 av en katepsin (CatB, CatL, eller liknande proteas) för att producera först en 20-kDa form (blå), och sedan en 19-kDa form (lila). GP reduceras av ytterligare ett enzym, vilket tillåter en konformationsändring hos GP2 som inducerar fusion. **B:** Enligt en modell av Chandran m.fl. klyvs GP1 av CatB och/eller CatL för att producera en 18-kDa form (blå). GP1 bryts sedan ned av CatB, vilket tillåter fusion.<sup>46</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

Schornberg m.fl. hävdar att den snarare är 19-kDa<sup>13, 26, 46</sup>. Trots det är alla tre forskningsgrupperna överens om att klyvning av GP1 underlättar bindning mellan RBD och värdcellsreceptor<sup>13, 26, 46</sup>. Det är även tydligt att endast CatL inte är tillräckligt för effektiv bindning och fusion, och minst ett till enzym behövs för att fullborda processen<sup>13, 21, 46</sup>. Enzymets identitet är även den kontroversiell då Chandran m.fl. argumenterar att CatB bryter ned GP1 fragmentet och därmed sätter igång fusionsprocessen, medan Schornberg m.fl. menar att CatB inte är nödvändig<sup>13, 46</sup>. De hävdar i stället att en tredje endosomal eller lysosomal faktor bryter ned eller omvandlar fragmentet för att starta fusionsprocessen<sup>46</sup>.

GPs andra subenhet, GP2, startar den enzymatiska aktiviteten efter att GP1 framgångsrikt har bundit ebolaviruset till en receptor på värdcellens plasmamembran<sup>34</sup>.

GP2 består av en fuseringspeptid följt av två repeterade sjuttaliga enheter som tillsammans bildar en 6-helix bunt under fusionen<sup>34, 46</sup>. Slutligen innehåller GP2 en transmembranregion<sup>46</sup>. När viruspartikeln är innesluten i en endosom i värdcellen undergår GP konformationsändringar så att fuseringspeptiden blir fri<sup>34</sup>.



Figur 9. Modell för Zaire ebolavirus fusionsmekanism. En konformationsändring hos GP2 leder till att N-terminalpeptiderna sträcks fram till värdcellsmembranet. Sedan dras membranerna samman med hjälp av GP2s transmembrana C-terminala del, och membranerna fusionerar.<sup>2</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

Fuseringspeptiden sätts in i värdcellens membran och därmed kopplas viruspartikeln till värdcellsmembranet<sup>34</sup> (Fig. 9). Med fuseringspeptiden kopplad undergår GP2 ytterligare konformationsförändringar och bildar en 6-helix bunt som drar membranerna nära varandra, vilket resulterar i fusion<sup>34</sup>.

Viruspartikelns mekanism för att inducera endocytos är ännu okänd. Inga studier har visat hur viruset tvingar värdcellen att endocytera denna farliga viruspartikel, men experiment utförda av Saeed m.fl. har gett starka indikationer på att viruset på något sätt använder sig av en mycket vanlig cellsignaleringsväg: PI<sub>3</sub>K. Fosfoinositid-3 kinas (PI<sub>3</sub>K) är ett cellsignaleringsenzym som

styr diverse cellaktiviteter inklusive apoptos, migration, differentiering och vesikeltransport. Också involverade i ebolavirusets endocytos är Akt-1, ett enzym som förmedlar signaler från PI<sub>3</sub>K till andra proteiner, och Rac1-GTPas, ett enzym som reglerar aktin-polymerisering och har en viktig roll i receptormedierad endocytos och vesikeltransport. Ebolaviruset aktiverar PI<sub>3</sub>K-Akt1-Rac1-signaleringsvägen på grund av GPs interaktioner med cellreceptorn.<sup>44</sup>

### Relation till immunförsvaret

När ett virus infekterar kroppen startas en immunreaktion med både generella och specifika antivirala respons vilka ofta leder till att attacken stoppas och viruspartiklarna dödas. För att framgångsrikt infektera och replikeras i en värdorganism måste viruset på något sätt kunna ta sig förbi immunförsvaret.

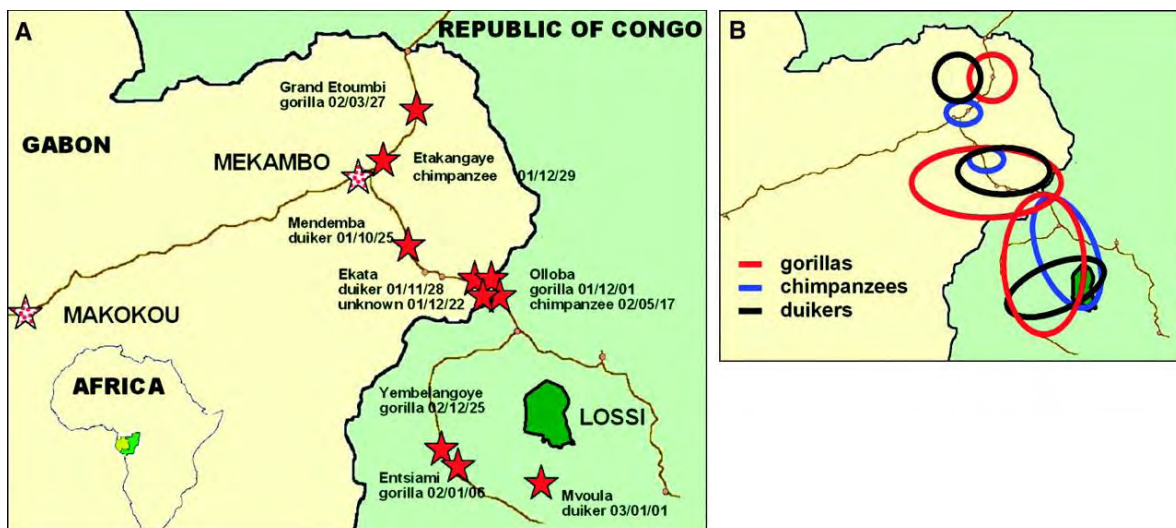
Ebolaviruset gör detta genom att inhibera typ 1-interferonsystemet, som är en viktig komponent i det antivirala immunförsvaret. Lymfocyter utsöndrar interferonproteiner som startar flera olika försvarsmekanismer i immunsystemet, och typ 1-interferoner (IFN) är speciellt effektiva mot virus. En virusinfektion i en cell aktiverar vissa transkriptionsfaktorer som ökar transkriptionen av typ 1-IFN. Dessa utsöndras från cellen och binder till receptorer på närliggande celler, där de inducerar transkription av IFN-känsliga gener, som, till exempel, kodar för antivirala proteiner.<sup>5</sup>

Basler och medarbetare visade att ebolavirusproteinet VP35 är en antagonist till typ 1-IFN hos värdorganismen, och ytterligare forskning har visat att VP35 binder till kinaser som vanligtvis fosforylerar, och därmed aktiverar, typ 1-IFN-transkriptionsfaktorer, till exempel IFN-regleringsfaktor 3 (IRF-3)<sup>5,6,41</sup>. Då IRF-3 fosforyleras av kinaser (på grund av en virusinfektion) bildar den dimorer och börjar ackumuleras i cellens kärna<sup>6</sup>. Där aktiverar den transkription av flera IFN-gener, inklusive genen för typ 1-IFN<sup>6</sup>. Genom att binda till IRF-3:s kinaser VP35 blockerar den hela typ 1-IFN-systemet<sup>41</sup>. Under tiden fosforyleras VP35 av kinaserna, vilket kan betyda att proteinets funktion aktiveras av värdorganismens kinaser<sup>41</sup>.

Utöver detta inhiberar ebolas VP35 även dendritiska celler<sup>23,33</sup>. Dendritiska celler medverkar i immunsystemet på flera olika sätt, bland annat genom att producera cytokiner, presentera antigener, och aktivera T-celler<sup>33</sup>. VP35 blockerar alla dessa funktioner, förmodligen genom att inhibera den mognande processen hos dendritiska celler<sup>23</sup>.

## Epidemiologi

Ebola är en någorlunda tyst sjukdom med endast sporadiska uppträdande bland människor sen dess första utbrott 1976 (Tabell 1). De flesta av dessa utbrott orsakades direkt av mänsklig kontakt med döda vilda djur, till exempel apor. Under de fem utbrotten av ebola mellan oktober 2001 och maj 2003 lyckades Leroy m.fl. spåra de tio första patienternas kontakt med döda djur till specifika djurarter och datum för kontakten (Fig. 10). Döda vilda djur uppträder alltid strax innan människor börjar omkomma, och populationsmätningar visar stora minskningar i djurpopulationer efter ebolautbrott bland människor. De olika djurkällorna infekterade människor med olika ZEBOV stammar, vilket tyder på att även djuren måste ha smittats ett flertal gånger av olika källor.<sup>29</sup>



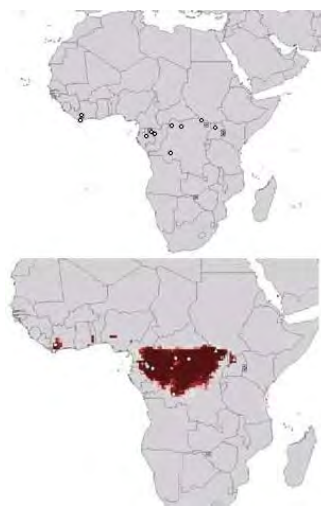
Figur 10. A: Startpunkter för utbrott av Ebola i Gabon och Kongo-Brazzaville mellan oktober 2001 och maj 2003. Stjärnor indikerar platsen för det första mänskliga fallet samt när och hur patienterna infekterades av en djurkälla. Röda stjärnor indikerar kända källor, medan rödvita stjärnor indikerar okända källor. Datum för kontakt med djur samt djurart visas också. B: Områden där döda djur hittades i Gabon under Ebola utbrottet 2001-2002 och i Kongo-Brazzaville under utbrottet 2002-2003.<sup>29</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

### En reservoar för ebolaviruset?

En allmän konsensus bland ebolaforskare är att viruset har en naturlig reservoar, eller art som bär på viruset utan att själv bli sjuk, någonstans i Afrikas, och förmodligen Filippinernas, regnskogar. Vad denna källa kan vara är fortfarande ett mysterium. Då diverse djur, inklusive fåglar, fladdermöss, och små landvertebrater samlades från utbrottsområden i Gabon och Kongo-Brazzaville hittades ZEBOV i tre fladdermössarter. Flera individer av arterna *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti*, och *Myonycteris torquata* bar på viruset utan att visa symtom av sjukdomen, och arternas breda utbredningsområden täcker de mänskliga utbrottsområdena. Fladdermöss som ebolareservoar skulle även kunna förklara sjukdomens episodiska karaktär. Fladdermöss har ett nedsatt immunförsvar under torrsäsongen då det finns mindre mat, vilket skulle öka virusreplikationen i organismen. Samtidigt tvingar torrsäsongen apor och andra djur att söka mat i mer utsträckta regioner, vilket leder till att de kommer mer i kontakt med varandra än vanligt. Detta skulle tillåta mer överföring av viruset mellan arter.<sup>28</sup>

Trots övertygande resultat från Leroy m.fl. att fladdermöss bär på ebola har tidigare försök att hitta ebolas reservoar misslyckats<sup>40</sup>. Sedan det första utbrottet har tusentals djur från utbrottsområden testats, inklusive över 1000 fladdermöss, utan att en enda individ som bär på viruset hittats<sup>40</sup>. Leroy m.fl. har alltså den enda indikationen hittills att fladdermöss är ebolas reservoar. Dessutom kan fladdermushypotesen inte förklara varför sjukdomen först framträdde 1976; om fladdermöss i Afrikas regnskog alltid har burit på ebola borde fler utbrott av sjukdomen inträffat tidigare. Andra forskare pekar på ändringar i miljöfaktorer, den ökade människopopulationen, eller en helt annan reservoar som i sin tur infekterade fladdermöss kring 1976<sup>8</sup>.

Inte alla forskare är eniga om att det ens finns en reservoar för ebola. Studier bland gorillor i centrala Afrika visar att ebola har haft en förödande effekt på populationerna, med 90-95% dödlighet<sup>7</sup>. Dessutom spreds sjukdomen mellan sociala grupper i en nord-sydlig riktning och grupperna avled med mellanrum ungefär lika med sjukdomens tidsförlopp, vilket resulterade i att sjukdomen spred sig med en förutsägbar hastighet och riktning<sup>53</sup>. Dessa observationer tyder på att infektionen sprids från en grupp till en annan, utan kontakt med någon reservoar<sup>7, 53</sup>.



Figur 11. Ebolas geografiska distribution. **A.** Kända utbrottspunkter för Ebola. **B.** Beräknad geografisk spridning av Ebola i naturen baserad på utbrottspunkter.<sup>39</sup> Återgiven med tillstånd av upphovsrättsinnehavaren.

### Geografi

Mänskliga fall av ebola har orsakats av fyra av ebolaarterna: ZEBOV, SEBOV, BEBOV, och CIEBOV<sup>10</sup> (Tabell 1). Alla dessa fall har varit i Central- och Västafrika (Fig. 11) där kontakt med döda djur såsom gorillor, schimpanser, och även skogsantiloper har överfört viruset till mänskliga värdar<sup>29, 57</sup>. Den femte arten, REBOV, har endast upptäckts i Filippinerna (eller med ursprung därifrån), och den har aldrig orsakat ett symptomatiskt fall av ebola<sup>10, 15</sup> (Tabell 1). 1989 dog ett antal krabmakaker (*Macaca fascicularis*) på en karantän i Virginia, USA, av ebola<sup>15</sup>. Makakerna hade fångats i den filippinska djungeln och sedan exporterats till USA<sup>15</sup>. Sedan dess har REBOV upptäckts flera gånger hos filippinska krabmakaker, och trots att några människor i närliggande områden har ännu inga människor i kontakt med REBOV visat symptom på sjukdomen<sup>10</sup>.

Oktober 2008 bekräftades flera fall av ebola i grisar i Filippinerna<sup>15</sup>. Grisarna kom från olika gårdar på ön Lukon och var infekterade med olika distinkta stammar av REBOV samtidigt som de var infekterade med den pandemiska sjukdomen PRRSV, en infektion som dödar unga grisar<sup>4</sup>. På grund av att det var olika stammar som upptäcktes tror epidemiologer att grisarna infekterats av någon reservoar flera gånger över tiden<sup>14</sup>. Då bondgårdspersonalen testades hittades fem arbetare med antikroppar mot ebola i blodet; dock visade de inga sjukdomssymtom<sup>4</sup>. Alla fem jobbade med sjuka grisar och hade förmodligen infekterats mer än sex månader tidigare<sup>4</sup>. Att REBOV nu har smittat grisar är oroväckande då grisar anses vara värdar som gynnar virusmutationer<sup>4</sup>. Risken finns att REBOV:s virulens ökar i denna nya värd.

## Vacciner

Idag finns inget botemedel för ebola, och trots många omfattande försök har forskning om potentiella behandlingsmetoder nästan inte visat några positiva resultat<sup>18</sup>. Därför fokuserar de flesta forskare på att i stället utveckla effektiva vacciner mot ebola. Vaccinforskning har haft framsteg under de senaste åren, och nu finns flera vaccintyper i olika faser av kliniska försök<sup>18, 36, 48</sup>.

Ett potentiellt ebolavaccin är ett DNA-vaccin med plasmider som kodar för ZEBOV:s GP och NP och SEBOV:s GP<sup>36</sup>. Det intramuskulära vaccinet visade sig i ett kliniskt försök vara säkert i friska vuxna människor, där det inducerade T-cellreaktioner mot GP- och NP-antigener (fast mest mot GP-antigener) och satte igång produktionen av ebolaspecifika antikroppar<sup>36</sup>. Vaccinet utvecklas och testas av USA:s National Institutes of Health (NIH) och företaget Vical Inc.<sup>16</sup>.

Ytterligare ett vaccin i kliniska försök är byggt på det ofarliga viruset rekombinant adenovirus 5 (rAd5) som vektor för ebolas GP. Vaccinet har varit effektivt apor och kommer förmodligen testas vid nästa ebolautbrott, främst för människor i riskgrupper, såsom hälsovårdsarbetare.<sup>48</sup>

Ett annat vektorvaccin använder sig av viruset som orsakar vesikulär stomatit (vesicular stomatitis virus, VSV), en smittsam men ofarlig sjukdom<sup>18</sup>. VSV-vaccinet fungerar som rAd5-vaccinet genom att vara en vektor för ZEBOV:s GP<sup>18</sup>. En intramuskulär injektion med vaccinet inducerar både humoral och cellulära immunreaktioner och ger fullt skydd i apor mot en annars dödlig ebolainfektion<sup>25</sup>. Senare försök med samma vaccin har visat att vaccinet också fungerar om det ges några timmar efter infektion med ebola, vilket kan vara viktigt till exempel vid olyckor på ebolalaboratorier<sup>18</sup>. Andra forskare har även demonstrerat att VSV-vaccinet ger fullt skydd när det ges oralt eller genom näsan<sup>42</sup>. En sådan metod skulle underlätta stora vaccinationsprogram under ett utbrott, och kunde användas för att skydda vilda apor som också drabbas av ebola<sup>42</sup>.



## Diskussion

Som denna översikt över ebola visar har mycket forskning utförts på ebolaviruset och sjukdomen det orsakar. Med informationen som framkommit av de många forskningsprojekten kan man försöka utvärdera ebolas betydelse för människor.

### Hotet idag

Jag anser inte att ebola idag utgör ett allvarligt hot mot mänskligheten. Få människor har infekterats hittills (Tabell 1), och de tidigare utbrotten har kontrollerats effektivt<sup>10</sup>. Ebola existerar på ett mycket begränsat område (Fig. 11) och det krävs direkt kontakt med vilda djur och djungel för att sjukdomen ska spridas till människor<sup>10, 29, 39</sup>. Då ett utbrott startar hos människor är det relativt svårt för viruset att sprida sig då smittöverföring endast sker genom direkt kontakt med infekterade kroppsvätskor<sup>11</sup>. Detta gör det lätt att hindra spridning av sjukdomen med hjälp av skyddsutrustning och isolering av patienter<sup>31</sup>. Dessutom brukar det finnas tecken i förväg på eventuella utbrott från ett ökat antal döda vilda djur i regionen<sup>29</sup>.

Ebolaviruset är ett relativt enkelt virus med endast åtta proteiner (Fig. 4), som forskare redan har identifierat och börjat karakterisera<sup>2</sup>. Flera nödvändiga steg i virusets livscykel har identifierats, som till exempel proteasklyvning av GP1 som behövs för värdcellens upptag av viruset<sup>21</sup>. Dessutom har forskare visat att virusets virulens beror på proteinet VP35:s förmåga att binda till (och därmed blockera) interferonaktiverande kinaser<sup>5, 41</sup>. Ebolaforskning har upptäckt flera nyckelegenskaper hos ebolaviruset som nu kan användas för att driva ebolabekämpningsförsök.

Oberoende av ebolastatus i världen just nu måste man också minnas att det finns många infektionssjukdomar som utgör större hot mot mänskligheten idag, såväl globalt som i ebolas smittregion. I Kongo-Kinshasa, som 2009 hade det senaste utbrottet av ZEBOV, rapporterades 2004 10 369 nya fall av afrikansk sömnsjuka, en smärtsam och potentiellt dödlig parasitsjukdom<sup>56</sup>. Det är mer än alla ebolafall under alla år och i alla länder tillsammans<sup>10</sup>. Därför tycker jag inte att man skall betrakta ebola ensamt, utan i stället utifrån ett större perspektiv med andra sjukdomar som hotar människor idag.

### Hotet i framtiden

Trots att jag inte anser att ebola utsätter människor för ett allvarligt hot idag, inser jag att den kan göra det i framtiden, och tycker därför att man borde fortsätta att forska på viruset och eventuella bekämpningsmedel. Det är lättare att hitta svar mot ebola nu än under en potentiell epidemi, inte minst för att ebolaforskning kräver ett laboratorium med biosäkerhet nivå 4<sup>57</sup>.

Trots den låga frekvensen av ebolafall och -utbrott finns det flera oroande tecken på att denna frekvens kan öka i framtiden. Det är framförallt oroväckande att virusets reservoar och/eller vektor förblir okänd<sup>11, 40</sup>. Data som pekar mot fladdermöss som reservoar är obekräftade<sup>28, 40</sup>. Det är relativt lätt att starta ett ebolautbrott eftersom kontakt mellan människor och döda vilda djur är en vanlig förekomst i Central- och Västafrika<sup>29</sup>. Dessutom har kontakten ökat på senaste tiden då många vilda djur, framförallt gorillor, dör av ebolainfektioner<sup>7, 53</sup>.

Ebolavirusets märkbara förmåga att mutera är också bekymmersamt. Nya arter av ebola har framträtt flera gånger: CIEBOV i 1994, och BEBOV så sent som 2007<sup>2, 52</sup>. Utöver dessa finns det en chans att REBOV snart kan mutera till en mer virulent form i grisarna det nyligen har infekterat<sup>4</sup>. Att REBOV redan har hittats i USA och Italien visar hur ebola kan spridas globalt via, till exempel, apor<sup>10</sup>.

Det finns många obesvarade frågor om ebolavirusets livscykel, infektionsmekanismer och patogenes, och trots att ebola kanske inte är den mest allvarlig eller omfattande infektionssjukdom som hotar människor idag borde man fortfarande försöka svara på dessa frågor. Framstegen med potentiella vacciner mot ebola borde fortsätta, och mer tid borde ägnas åt forskning på post-infektionsmediciner, så att om ebola någon dag blir ett allvarligt hot mot mänskligheten kan vi bekämpa och kontrollera sjukdomen på ett effektivt sätt.

## Referenser

1. Alvarez CP, Lasala F, Carrillo J, Muniz O, Corbi AL, Delgado R. 2002. C-Type Lectins DC-SIGN and L-SIGN Mediate Cellular Entry by Ebola Virus in cis and in trans. *Journal of Virology* **76**: 6841-6844.
2. Ascenzi P, Bocedi A, Heptonstall J, Capobianchi MR, Di Caro A, Mastrangelo E, Bolognesi M, Ippolito G. 2008. Ebolavirus and Marburgvirus: Insight the *Filoviridae* family. *Molecular Aspects of Medicine* **29**: 151-185.
3. Baron RC, McCormick JB, Zubeir OA. 1983. Ebola virus disease in southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bulletin of the World Health Organization* **61**: 997-1003.
4. Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, Xu L, Zaki SR, Nichol ST, Rollin PE, Towner JS, Shieh WJ, Batten B, Sealy TK, Carillo C, Moran KE, Bracht AJ, Mayr GA, Sirios-Cruz M, Catbagan DP, Lautner EA, Ksiazek TG, White WR, McIntosh MT. 2009. Discovery of Swine as a Host for the *Reston ebolavirus*. *Science* **325**: 204-206.
5. Basler CF, Wang X, Mühlberger E, Volchkov V, Paragas J, Klenk HD, García-Sastre A, Palese P. 2000. The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **97**: 12289-12294.
6. Basler CF, Mikulasova A, Martinez-Sobrido Luis, Paragas J, Mühlberger E, Bray M, Klenk HD, Palese P, García-Sastre A. 2003. The Ebola Virus VP35 Protein Inhibits Activation of Interferon Regulatory Factor 3. *Journal of Virology* **77**: 7945-7956.
7. Bermejo M, Rodríguez-Teijeiro JD, Illera G, Barroso A, Vilá C, Walsh PD. 2006. Ebola Outbreak Killed 5000 Gorillas. *Science* **314**: 1564.
8. Biek R, Walsh PD, Leroy EM, Real LA. 2006. Recent Common Ancestry of Ebola Zaire Virus Found in a Bat Reservoir. *PLoS Pathogens* **2**: e90.
9. Brindley MA, Hughes L, Ruiz A, McCray Jr. PB, Sanchez A, Sanders DA, Maury W. 2007. Ebola Virus Glycoprotein 1: Identification of Residues Important for Binding and Postbinding Events. *Journal of Virology* **81**: 7702-7709.
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2006. Known Cases and Outbreaks of Ebola Hemorrhagic Fever, in Chronological Order. WWW-dokument 2010-04-12: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/ebola/ebolatable.htm>. Hämtad 2010-04-21.
11. Centers for Disease Control and Prevention. 2009. Ebola Hemorrhagic Fever Information Packet. WWW-dokument 2010-04-09: [http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/Fact\\_Sheets/Ebola\\_Fact\\_Booklet.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/Fact_Sheets/Ebola_Fact_Booklet.pdf). Hämtad 2010-04-21.
12. Chan SY, Empig CJ, Welte FJ, Speck RF, Schmaljohn A, Kreisberg JF, Goldsmith MA. 2001. Folate receptor-alpha is a cofactor for cellular entry by Marburg and Ebola viruses. *Cell* **106**: 117-126.
13. Chandran K, Sullivan NJ, Felbor U, Whelan SP, Cunninghamd JM. 2005. Endosomal Proteolysis of the Ebola Virus Glycoprotein Is Necessary for Infection. *Science* **308**: 1643-1645.
14. Cyranoski D. 2009. Ebola outbreak has experts rooting for answers. *Nature* **457**: 364-365.
15. Editorial team. 2009. Ebola Reston virus detected pigs in the Philippines. *Euro Surveillance* **14**: 29.
16. Dery M, Bausch DG. 2008. A DNA vaccine for the prevention of Ebola virus infection. *Current Opinion in Molecular Therapeutics* **10**: 285-293.

17. Falzarano D, Krokhnin O, Wahl-Jensen V, Seebach J, Wolf K, Schnittler HJ, Feldmann H. 2006. Structure-Function Analysis of the Soluble Glycoprotein, sGP, of Ebola Virus. *ChemBioChem* **7**: 1605-1611.
18. Feldmann H, Jones SM, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Ströher U, Grolla A, Bray M, Fritz EA, Fernando L, Feldmann F, Hensley LE, Geisbert TW. 2007. Effective Post-Exposure Treatment of Ebola Infection. *PLoS Pathogens* **3**: e2.
19. Han Z, Boshra H, Sunyer JO, Zwiers SH, Paragas J, Harty RN. 2003. Biochemical and Functional Characterization of the Ebola Virus VP24 Protein: Implications for a Role in Virus Assembly and Budding. *Journal of Virology* **77**: 1793-1800.
20. Hoenen T, Volchkov V, Kolesnikova L, Mittler E, Timmins J, Ottmann M, Reynard O, Becker S, Weissenhorn W. 2005. VP40 Octamers Are Essential for Ebola Virus Replication. *Journal of Virology* **79**: 1898-1905.
21. Hood CL, Abraham J, Boyington JC, Leung K, Kwong PD, Nabel GJ. 2010. Biochemical and Structural Characterization of Cathepsin L-Processed Ebola Virus Glycoprotein: Implications for Viral Entry and Immunogenicity. *Journal of Virology* **84**: 2972-2982.
22. Huang Y, Xu L, Sun Y, Nabel GJ. 2002. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion—associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Molecular Cell* **10**: 307-316.
23. Jin H, Yan Z, Prabhakar BS, Feng Z, Ma Y, Verpooten D, Ganesh B, He B. 2009. The VP35 protein of Ebola virus impairs dendritic cell maturation induced by virus and lipopolysaccharide. *Journal of General Virology* **91**: 352-361.
24. John SP, Wang T, Steffen S, Longhi S, Schmaljohn CS, Jonsson CB. 2007. Ebola Virus VP30 Is an RNA Binding Protein. *Journal of Virology* **81**: 8967-8976.
25. Jones SM, Feldmann H, Ströher U, Geisbert JB, Fernando L, Grolla A, Klenk HD, Sullivan NJ, Volchkov VE, Fritz EA, Daddario KM, Hensley LE, Jahrling PB, Geisbert TW. 2005. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nature Medicine* **11**: 786-790.
26. Kaletsky RL, Simmons G, Bates P. 2007. Proteolysis of the Ebola Virus Glycoproteins Enhances Virus Binding and Infectivity. *Journal of Virology* **81**: 13378-13384.
27. Lee JE, Fusco ML, Hessel AJ, Oswald WB, Burton DR, Saphire EO. 2008. Structure of the Ebola virus glycoprotein bound to an antibody from a human survivor. *Nature* **454**: 177-182.
28. Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, Délicat, A, Paweska JT, Gonzalez JP, Swanepoel R. 2005. Fruit bats as reservoir of Ebola virus. *Nature* **438**: 575-576.
29. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, Souquière S, Kilbourne A, Froment JM, Bermejo M, Smit S, Karesh W, Swanepoel R, Zaki, SR, Rollin PE. 2004. Multiple Ebola Virus Transmission Events and Rapid Decline of Central African Wildlife. *Science* **303**: 387-390.
30. Läkare utan gränser. 2007. Ebolautbrott i Kongo.Kinshasa: Läkare Utan Gränser utökar insatser. WWW-dokument 2007-09-13:  
<http://www.lakareutangranser.se/nyheter/2007/September/Ebolautbrott-i-Kongo-Kinshasa-Lakare-Utan-Granser-utokar-insatser/>. Hämtad 2010-04-21.
31. Läkare Utan Gränser. Fakta om Ebola. WWW-dokument:  
<http://www.lakareutangranser.se/uppdrag/sjukdomar/Ebola/>. Hämtad 2010-04-21.
32. Mahanty S, Bray M. 2004. Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *The Lancet Infectious Diseases* **4**: 487-498.
33. Mahanty S, Hutchinson K, Agarwal S, Mcrae M, Rollin PE, Pulendran B. 2003. Cutting Edge: Impairment of Dendritic Cells and Adaptive Immunity by Ebola and Lassa Viruses. *The Journal of Immunology* **170**: 2797-2801.

34. Manicassamy B, Rong L. 2009. Expression of Ebolavirus glycoprotein on the target cells enhances viral entry. *Virology Journal* **6**: 75-89.
35. Manicassamy B, Wang J, Jiang H, Rong L. 2005. Comprehensive Analysis of Ebola Virus GP1 Viral Entry. *Journal of Virology* **79**: 4793-4805.
36. Martin JE, Sullivan NJ, Enama ME, Gordon IJ, Roederer M, Koup RA, Bailer RT, Chakrabarti BK, Bailey MA, Gomez PL, Andrews CA, Moodie Z, Gu L, Stein JA, Nabel GJ, Graham BS, VRC 204 Study Team. 2006. *Clinical and Vaccine Immunology* **13**: 1267-1277.
37. Martínez MJ, Biedenkopf N, Volchkova V, Hartlieb B, Alazard-Dany N, Reynard O, Becker S, Volchkov V. 2008. Role of Ebola Virus VP30 in Transcription Reinitiation. *Journal of Virology* **82**: 12569-12573.
38. Noda T, Ebihara H, Muramoto Y, Fujii K, Takada A, Sagara H, Kim JH, Kida H, Feldmann H, Kawaoka Y. 2006. *PLoS Pathogens* **2**: e99.
39. Peterson AT, Bauer JT, Mills JN. 2004. Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerging Infectious Diseases* **10**: 40-47.
40. Pourrut X, Kumulungui B, Wittmann T, Moussavou G, Délicat A, Yaba P, Nkoghe D, Gonzalez JP, Leroy EM. 2005. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes and Infection* **7**: 1005-1014.
41. Prins KC, Cárdenas WB, Basler CF. 2009. Ebola Virus Protein VP35 Impairs the Function of Interferon Regulatory Factor-Activating Kinases IKK $\epsilon$  and TBK-1. *Journal of Virology* **83**: 3069-3077.
42. Qiu X, Fernando L, Alimonti JB, Melito PL, Feldmann F, Dick D, Ströher U, Feldmann H, Jones SM. 2009. *PLoS ONE* **4**: e5547.
43. Reid St.P, Leung LW, Hartman AL, Martinez O, Shaw ML, Carbonelle C, Volchkov VE, Nichol ST, Basler CF. 2006. Ebola Virus VP24 Binds Karyopherin  $\alpha$ 1 and Blocks STAT1 Nuclear Accumulation. *Journal of Virology* **80**: 5156-5167.
44. Saeed MF, Kolokoltsov AA, Freiberg AN, Holbrook MR, Davey RA. 2008. Phosphoinositide-3 Kinase-Akt Pathway Controls Cellular Entry of Ebola Virus. *PLoS Pathogens* **4**: e1000141.
45. Sanchez A, Geisbert TW, Feldmann H. 2007. *Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses*. I: Knipe DM, Howley PM (red.). *Fields Virology*, ss. 1409-1448. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
46. Schornberg K, Matsuyama S, Kabsch K, Delos S, Bouton A, White J. 2006. Role of Endosomal Cathepsins in Entry Mediated by the Ebola Virus Glycoprotein. *Journal of Virology* **80**: 4174-4178.
47. Shimojima M, Takada A, Ebihara H, Neumann G, Fujioka K, Irimura T, Jones S, Feldmann H, Kawaoka Y. 2006. Tyro3 family-mediated cell entry of ebola and Marburg viruses. *Journal of Virology* **80**: 10109-10116.
48. Sullivan NJ, Geisbert TW, Geisbert JB, Shedlock DJ, Xu L, Lamoreaux L, Custers JHHV, Popernack PM, Yang ZY, Pau MG, Roederer M, Koup RA, Goudsmit J, Jahrling PB, Nabel GJ. 2006. *PLoS Medicine* **3**: e177.
49. Sullivan NJ, Peterson M, Yang Z, Kong W, Duckers H, Nabel E, Nabel GJ. 2005. Ebola Virus Glycoprotein Toxicity Is Mediated by a Dynamin-Dependent Protein-Trafficking Pathway. *Journal of Virology* **79**: 547-553.
50. Swiss Institute of Bioinformatics. Ebola-like viruses. WWW-dokument: [http://www.expasy.org/viralzone/all\\_by\\_species/207.html](http://www.expasy.org/viralzone/all_by_species/207.html). Hämtad 2010-04-21.
51. Takada A, Fujioka K, Tsuiji M, Morikawa A, Higashi N, Ebihara H, Kobasa D, Feldmann H, Irimura T, Kawaoka Y. 2004. Human macrophage C-type lectin specific for galactose and N-acetylgalactosamine promotes filovirus entry. *Journal of Virology* **78**: 2943-2947.



52. Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, Albariño CG, Conlan S, Reeder SA, Quan PL, Lipkin WI, Downing R, Tappero JW, Okware S, Lutwama J, Bakamutumaho B, Kayiwa J, Corner JA, Rollin PE, Ksiazek TG, Nichol ST. 2008. Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda. *PLoS Pathogens* **4**: e1000212.
53. Vogel, G. 2006. Tracking Ebola's Deadly March Among Wild Apes. *Science* **314**: 1522-1523.
54. Volchkov VE, Volchkova VA, Chepurinov AA, Blinov VM, Dolnik O, Netesov SV, Feldmann H. 1999. Characterization of the L gene and 5' trailer region of Ebola virus. *Journal of General Virology* **80**: 355-362.
55. Watanabe S, Noda T, Kawaoka Y. 2006. Functional Mapping of the Nucleoprotein of Ebola Virus. *Journal of Virology* **80**: 3743-3751.
56. World Health Organization (WHO). 2006. Human African trypanosomiasis (sleeping sickness): epidemiological update. *Weekly epidemiological record* **81**: 71-80.
57. World Health Organization (WHO). 2008. Fact sheet N°103: Ebola haemorrhagic fever. WWW-dokument: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/index.html>. Hämtad 2010-04-21.
58. Yamayoshi S, Noda T, Ebihara H, Goto H, Morikawa Y, Lukashevich IS, Neumann G, Feldmann H, Kawaoka Y. 2008. Ebola Virus Matrix VP40 Protein Uses the COPII Transport System for Its Intracellular Transport. *Cell Host & Microbe* **13**: 168-177.