

1. ウイルスによる膜融合

鶴留 雅人

三重大学大学院医学系研究科 病態解明医学講座

ウイルスの膜融合蛋白の大多数は2つのクラスに分類できる。クラスIに属するインフルエンザウイルスの膜融合蛋白(HA)は酸性pHで構造変化を起こして膜融合を媒介する。X線結晶構造解析の結果、HAの構造変化前の(prefusion)構造が1981年に、構造変化後の(postfusion)構造が1994年に明らかになり、これらに基づいて(HAの構造変化で媒介される)膜融合のモデルが提示されている。クラスIIに属するフラビウイルスのEやアルファウイルスのE1も酸性pHで膜融合を媒介する膜融合蛋白である。そのprefusion構造はHAとはかなり異なるが、postfusion構造同士には類似性があることが昨年明らかになった。一方、パラミクソウイルスのFはクラスIの膜融合蛋白であるが、その構造変化には受容体結合蛋白との相互作用が必要であること、中性pHで膜融合を媒介するのでウイルス感染細胞と隣接する非感染細胞との融合が起こることが特徴である。近年、Fや受容体結合蛋白HNの結晶構造が明らかになったことにより、Fによる膜融合の分子機構の研究が促進されつつある。

はじめに

エンベロープを持つウイルスは、宿主細胞表面の受容体に吸着した後にエンベロープと宿主細胞膜との膜融合を引き起こし、細胞質内へヌクレオカプシドを侵入させることで増殖を開始するが、(pH非依存性に)細胞膜と融合するものと、受容体媒介エンドサイトーシス後にエンドソーム膜と(酸性pH依存性に)融合するものとに大別される。なお、このいずれかを細胞の種類に応じて使い分けるウイルスも存在する。膜融合はエンベロープにある膜貫通型のウイルス糖蛋白(膜融合蛋白)の構造変化により媒介されるが、これまでに報告された膜融合蛋白の大半は受容体結合能を有しており、単独で吸着と膜融合を媒介する。一方、パラミクソウイルス科のウイルスは2種類、さらにヘルペスウイルス科のウイルスは5種類ものウイルス糖蛋白を必要とする。昨年、まったく異なる構造を持つ膜融合蛋白でも、その構造変化の分子機構には共通性が見られることが明らかになった。本稿ではパラミクソウイルスによる膜融合に関するものを中心に最近の知見を紹介する。

1. クラスIとクラスIIの膜融合蛋白

2001年にLescarらはX線結晶構造解析によりトガウイ

ルス科アルファウイルス属のセムリキ森林ウイルス(SFV)の膜融合蛋白(E1)の立体構造を明らかにしたが、その報告の中で、ウイルスの膜融合蛋白のほとんどが二つのカテゴリー(クラスIとクラスII)に分類できることを提案した⁴⁹⁾。

クラスIの膜融合蛋白はTypeIの膜貫通型蛋白で、その成熟蛋白はホモ3量体である。それぞれの単量体が宿主細胞由来のプロテアーゼによる解裂を受けて2つのサブユニットとなることが膜融合能発現の前提となる。膜貫通ドメインを持つカルボキシル末端側のサブユニットのアミノ末端(あるいはアミノ末端近傍)に融合ペプチドと呼ばれる疎水性領域が存在することが特徴である。オルソミクソウイルス科、パラミクソウイルス科、およびレトロウイルス科に属するウイルスの膜融合蛋白がクラスIに該当するとされている^{43, 49)}。フィロウイルス科やコロナウイルス科のウイルスの膜融合蛋白もクラスIのカテゴリーに含まれると考えることもできるが^{4, 21)}、フィロウイルス科のエボラウイルスの膜融合蛋白の解裂は培養細胞における増殖には必須ではなく⁵⁷⁾、コロナウイルス科のマウス肝炎ウイルスの変異株やSARSコロナウイルスの膜融合蛋白は解裂しなくても膜融合能を媒介できることが報告されている^{81, 88, 112)}。

クラスIの膜融合蛋白は不可逆的な構造変化により膜融合を媒介すると考えられている。そのほとんどが受容体結合能を併せ持っており、その活性部位はアミノ末端側のサブユニット内に存在する。たとえばA型インフルエンザウイルスの膜融合蛋白(HA)はS-S結合で連結したHA1とHA2のサブユニット構造であるが、HA1に受容体結合部位

連絡先

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174
 三重大学大学院医学系研究科 病態解明医学講座
 TEL&FAX: 059-231-5008
 E-mail: turudome@doc.medic.mie-u.ac.jp

が、膜貫通ドメインを持つ HA2 のアミノ末端に融合ペプチドが存在する¹¹⁰⁾ (図 1, BHA). HA1 は主に β シートにより構成されているが、HA2 (BHA2) はヘプタッドリピート配列からなる α ヘリックスが主体である. HA は、エンドソーム内の酸性 pH が引き金となって構造変化を起こし、膜融合を媒介すると考えられているが⁸⁰⁾, BHA を酸性 pH で処理して得られた TBHA2 においては、HA2 に α ヘリックスの再編成が認められる⁹⁾. 興味深いことに、大腸菌で発現させた HA2 の細胞外ドメイン (EHA2) は (酸性 pH にしなくても) TBHA2 と同様の構造をしていることから、このような構造がエネルギー的に最も安定な HA2 の状態であると考えられている¹⁴⁾. 図 2 に示すように、中性 pH の HA2 (BHA2) にはヘリックス 4 と 5 およびその介在部で

形成されたループがあり、ヘリックス 4 のアミノ末端側にある融合ペプチドはヘリックス 5 のカルボキシル末端付近に位置している. TBHA2 や EHA2 ではこの介在部が α ヘリックスに変化し、さらにヘリックス 5 がそのカルボキシル末端近くで反転することによって、ヘアピン構造が形成されている. その結果、膜貫通ドメインと (結晶中には存在しない) 融合ペプチドとはその同一末端 (すなわち同一の膜内) に位置していると推定される^{9, 14)} (図 2). なお、HA の融合ペプチドは、酸性 pH による膜融合媒介の初期過程で標的膜に挿入されることが示されている^{37, 82, 99)}. 以上のことから、TBHA2 や EHA2 の構造は膜融合誘導後の postfusion 構造であると見なされている⁸⁰⁾. 他のクラス I の膜融合蛋白では、1 次構造上で、融合ペプチドのす

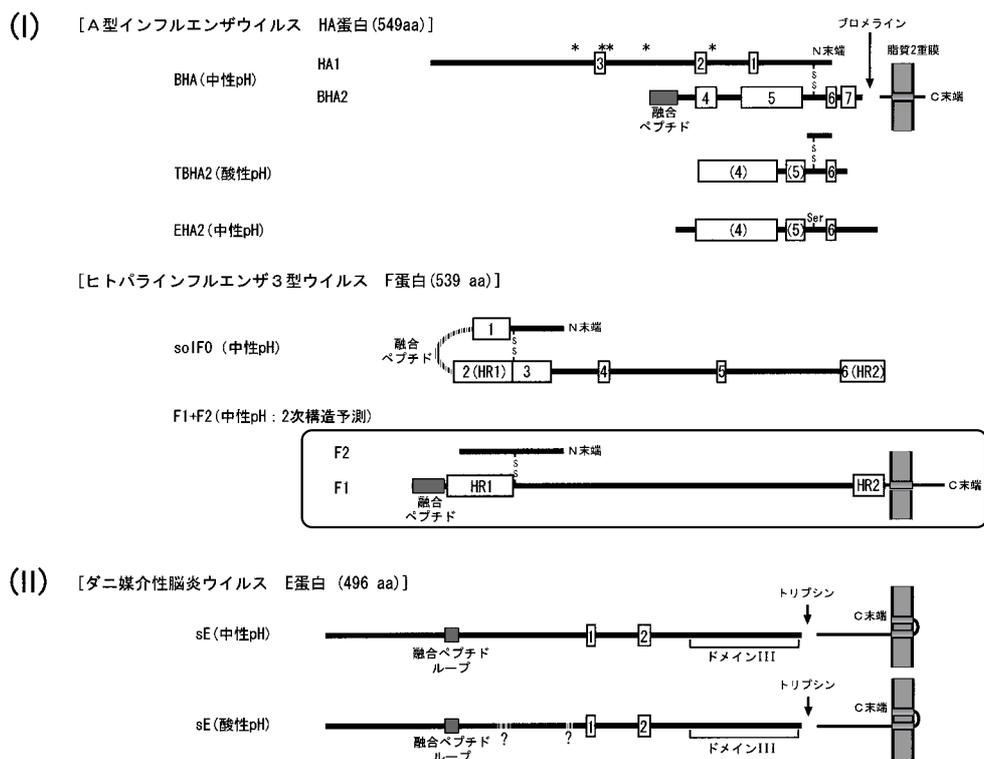


図 1 クラス I とクラス II の膜融合蛋白の 2 次構造の比較

各膜融合蛋白の細胞外ドメインの X 線結晶構造解析の結果に基づいた模式図である (白いボックスは α ヘリックスの位置と便宜上の通し番号) .

BHA : A 型インフルエンザウイルス粒子をプロメラインで消化して得られた HA の細胞外ドメイン¹¹⁰⁾ (* : 受容体結合に関わるアミノ酸の位置) .

TBHA2 : 結晶化の便宜のために酸性 pH 処理後の BHA をトリプシンとサーモリシンで消化したもので、HA1 の大部分および HA2 の融合ペプチドなどは失われている⁹⁾ .

EHA2 : HA2 の細胞外ドメイン (融合ペプチドは含まない) を大腸菌で発現させたもの¹⁴⁾ .

solF0 : 解裂しないように変異を導入したヒトパラインフルエンザ 3 型ウイルス (hPIV3) の F の細胞外ドメインを、バキュロウイルスベクターを用いて昆虫細胞で発現させたもの¹¹⁴⁾ . 参考のため、解裂後の F の模式図 (2 次構造予測) を付記した .

sE : ダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) 粒子をトリプシンで消化して得られた E の細胞外ドメイン (領域 III に受容体結合部位が存在すると考えられている)^{6, 17, 69)} .

が膜融合蛋白の機能発現の前提となる。クラス I の膜融合蛋白とは対照的に, coiled coil を形成すると予想されるヘプタッドリピート配列はなく (図 1), X 線結晶構造解析により, β シートで形成される 3 つのドメインを持っていることが判明している^{49, 54, 69} (図 2)。なお, 受容体結合部位はドメイン III に存在すると考えられている¹⁷。フラビウイルス科のデングウイルスやダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) の E はシャペロン蛋白 prM とヘテロ 2 量体を形成しており, prM の解裂後に対向性のホモ 2 量体となる。融合ペプチドループはホモ 2 量体の境界面に位置している。また E ホモ 2 量体の細胞外ドメインの orientation はウイルス膜面に対して平行である^{28, 45} (図 2)。一方, トガウイルス科の SFV の E1 は小胞体内ではシャペロン蛋白 p62 とヘテロ 2 量体を形成しており, p62 が E2 と E3 に解裂すると E1 と E2 のヘテロ 2 量体となる。受容体結合部位は E2 に存在すると考えられている。E1 の細胞外ドメインの 3 次構造は E とよく似ており, 同様にウイルス膜面に平行な orientation を持っている⁴⁹。

E や E1 はエンドソーム内の酸性 pH により構造変化を起こして膜融合を媒介すると考えられており, E ホモ 2 量体や E1-E2 ヘテロ 2 量体は酸性 pH により解離して, それぞれ E ホモ 3 量体や E1 ホモ 3 量体を形成する^{1, 31, 84, 106, 107}。昨年, このホモ 3 量体の postfusion 構造が相次いで報告されたが, prefusion 構造との主な相違点はドメイン I とドメイン III の間の介在部 (蝶番) の構造が変化してヘアピン構造が形成されていることであり^{6, 33, 55}, ホモ 3 量体の同じ末端に膜貫通ドメインと融合ペプチドループが位置していることが示唆された (図 2)。したがって, クラス I とクラス II の膜融合蛋白の prefusion 構造はまったく異なるが, いずれの postfusion 構造もヘアピン構造に変化した 3 つの単量体で構成されていることから, その融合機構には共通点があるものと考えられている⁴³。なお, 5~6 個の E1 ホモ 3 量体が融合ペプチドループを中心に環状に配列し, これら複数のホモ 3 量体の共同作用により膜融合誘導が融合されることも示唆されている^{32, 33}。一方, HA による膜融合誘導には少なくとも 3 個のホモ 3 量体が必要とされる¹⁸。

2. クラス I とクラス II 以外の膜融合蛋白

ラブドウイルス科の狂犬病ウイルスの膜融合蛋白 G も Type I の膜貫通型蛋白であり, クラス I の膜融合蛋白と同様に, 成熟した蛋白はホモ 3 量体である^{29, 111}。しかし G 蛋白は宿主細胞由来のプロテアーゼによる解裂を受けず, ポリペプチド鎖内部に融合ペプチド領域の存在が示唆されている²⁵。G は受容体結合能を持ち, エンドソーム内の酸性 pH により構造変化を起こして膜融合を媒介すると考えられているが, 可逆的な構造変化をすることが特徴であり, native 型 (中性 pH), 非活性型 (酸性 pH), 活性型 (酸性

pH : postfusion) の 3 種類の構造の間で平衡状態を形成する³⁰。現時点では G の立体構造は明らかではないが, 2 次構造予測では, coiled coil 構造を形成しうる (明瞭な) ヘプタッドリピート配列は見つかっていない。なお, G 蛋白による膜融合には 13~19 個のホモ 3 量体が必要であると推定されている⁷²。

3. パラミクソウイルスによる膜融合

モノネガウイルス目パラミクソウイルス科 (パラミクソウイルス亜科とニューモウイルス亜科) のウイルスのエンベロープには 2 種類の膜貫通型の糖蛋白 (受容体結合蛋白と膜融合蛋白) のスパイクが存在している。いずれのウイルスの膜融合蛋白も F と呼ばれており, 前駆体 (F0) が宿主細胞由来のプロテアーゼによる解裂を受けて S-S 結合で連結した F1 と F2 のサブユニット構造となる。その 1 次構造は属間でかなり異なるが, F1 サブユニット内の融合ペプチド, 二つのヘプタッドリピート配列 (HR1 と HR2) などの位置はよく保存されている⁴⁶。いずれの F も膜融合を媒介するためには, 受容体結合蛋白との相互作用が必要である^{5, 39, 83, 90, 109}。ただしニューモウイルス亜科の respiratory syncytial virus (RSV) においては, エンベロープ蛋白として F だけを持つ変異ウイルスや組換えウイルスでも感染能があり, その感染細胞には細胞膜-細胞膜融合が観察されることが報告されている^{44, 96}。なお, RSV の F の受容体としてヘパラン硫酸が候補に上っている²⁶。パラミクソウイルス亜科の中では, ルブラウイルス属の simian virus 5 (SV5) の W3A 株の F だけが受容体結合蛋白なしで膜融合を媒介できることが知られている⁶⁴。

パラミクソウイルス亜科のレスピロウイルス属, ルブラウイルス属およびアブラウイルス属のウイルスの受容体結合蛋白である HN は Type II の膜貫通型蛋白である。HN は 2 つのホモ 2 量体が会合したホモ 4 量体を形成しており, その細胞外ドメインは globular head および stalk と呼ばれる 2 つの領域からなると考えられている (図 3)。HN は受容体 (糖蛋白やガングリオシドのシアル酸) への結合能 (血球凝集活性) およびその破壊能 (ノイラミニダーゼ活性) を持ち, その活性部位は globular head 領域に存在する^{16, 48, 116}。一方, 同亜科のモルビリウイルス属の受容体結合蛋白 H やヘニパウイルス属の受容体結合蛋白 G も Type II の膜貫通型蛋白であり, HN と同様な globular head 領域を持つことが推定されている^{47, 115}。モルビリウイルス属の麻疹ウイルス (MV), ジステンパーウイルス (CDV) および牛疫ウイルスの H の受容体は CD150 であるが^{94, 95}, MV の実験室株の H は CD46 を受容体として用いており^{24, 56}, これらの受容体に対する結合部位はオーバーラップした形で globular head 領域に存在する⁵²。一方, ヘニパウイルス属のヘンドラウイルスやニパウイルスの G の受容体は ephrin-B2 であることが, ごく最近報告さ

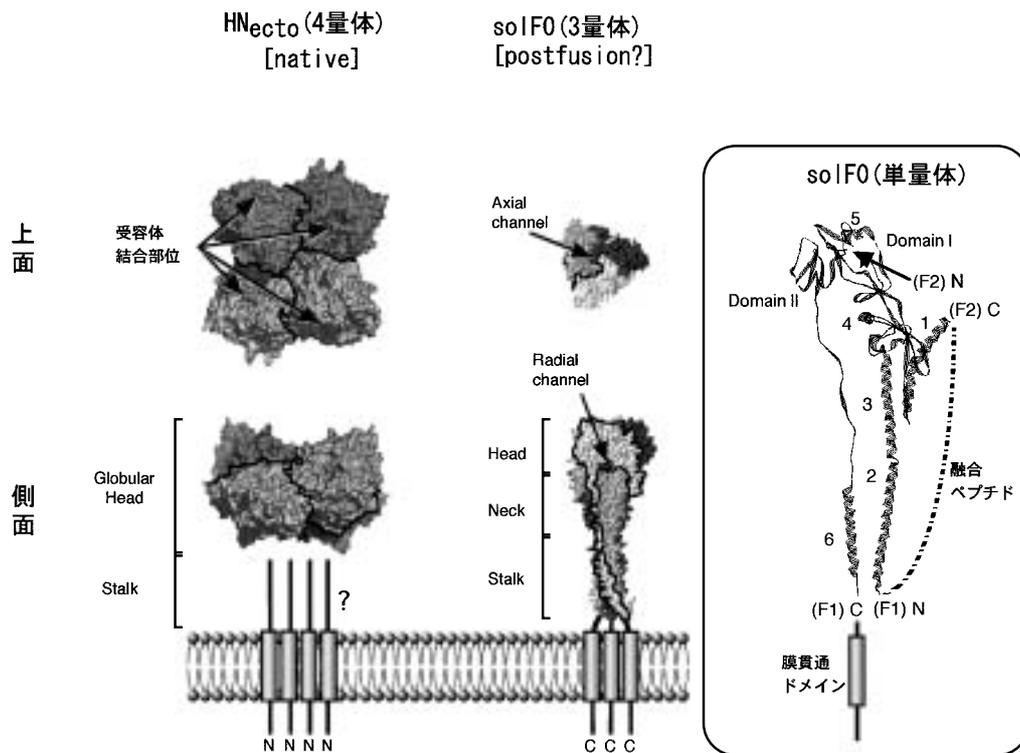


図3 パラミクソウイルスのHNとFの立体構造（枠内はF単量体の3次構造）

HNecto：SV5のHNの細胞外ドメインをバキュロウイルスベクターを用いて昆虫細胞で発現させたもの。結晶中にはstalk領域も含まれているが、電子密度マップでは観察されない（文献116より改変）。

solF0：hPIV3のFの細胞外ドメインをバキュロウイルスベクターを用いて昆虫細胞で発現させたもの。枠内の数字は α ヘリックスの通し番号（図1に対応）。解裂していない状態であるが、F1とF2の解裂部位周辺（融合ペプチドなど）の構造は電子密度マップでは観察されない。もし解裂していれば、ヘリックス2と6の下端部に融合ペプチドと膜貫通ドメインが共存するものと考えられる。（文献114より改変）。

れた³⁾。

パラミクソウイルスはpH非依存性に膜融合を引き起こすため、エンベロープ細胞膜融合は細胞表面で起こり、感染細胞表面に発現した受容体結合蛋白と（解裂した）Fは隣接する非感染細胞との細胞膜-細胞膜融合により感染を拡大することができる。しかし、ブタ由来のSV5（SER株）やイヌ由来のSV5（T1株）は細胞膜-細胞膜融合をほとんど起こさずに増殖することが知られている^{41, 98)}。SER株においては、Fの膜融合の至適pHが酸性であること、ウイルス感染がバフィロマイシンA1や塩化アンモニウムで抑制されることから、このウイルスのエンベロープがエンドソーム膜と融合することが示唆されている⁷⁹⁾。ちなみに、アブラウイルス属のニューカッスル病ウイルス（NDV）の弱毒株（clone 30）もエンドソーム膜と膜融合することが示唆されている⁷⁵⁾。

4. Fの構造変化

近年、アブラウイルス属のNDVとレスピロウイルス属

のヒトパラインフルエンザ3型ウイルス（hPIV3）のFのX線結晶構造が明らかになった^{12, 114)}。Fの構造を安定化させるために、何れの実験でも細胞内で解裂しないようなFの細胞外ドメインを発現させて結晶化しているが、その結晶をSDS-PAGEで調べたところ、hPIV3のFは解裂していなかったものの、NDVのFはその約75%が解裂していた^{12, 114)}。それに関わらず、これらのFは極めてよく似た立体構造をもっていることが判明した¹¹⁴⁾。図3に示したのは、より完全な情報が得られたhPIV3のFの立体構造である。3量体はhead, neckおよびstalkの3つの領域に分けられるが、head領域の3量体境界面に腔構造（3つのradial channelと1つのaxial channel）が存在するのが特徴である。なおこれらのchannelはhead領域内でお互いに連絡している。期待に反してその単量体はヘアピン構造をしており、3量体ではそのstalk領域においてヘリックス2（HR1）とヘリックス6（HR2）による6ヘリックス束が形成されていることが明らかになった（図4b）。この6ヘリックス束はクラスIの膜融合蛋白のpostfusion構造の

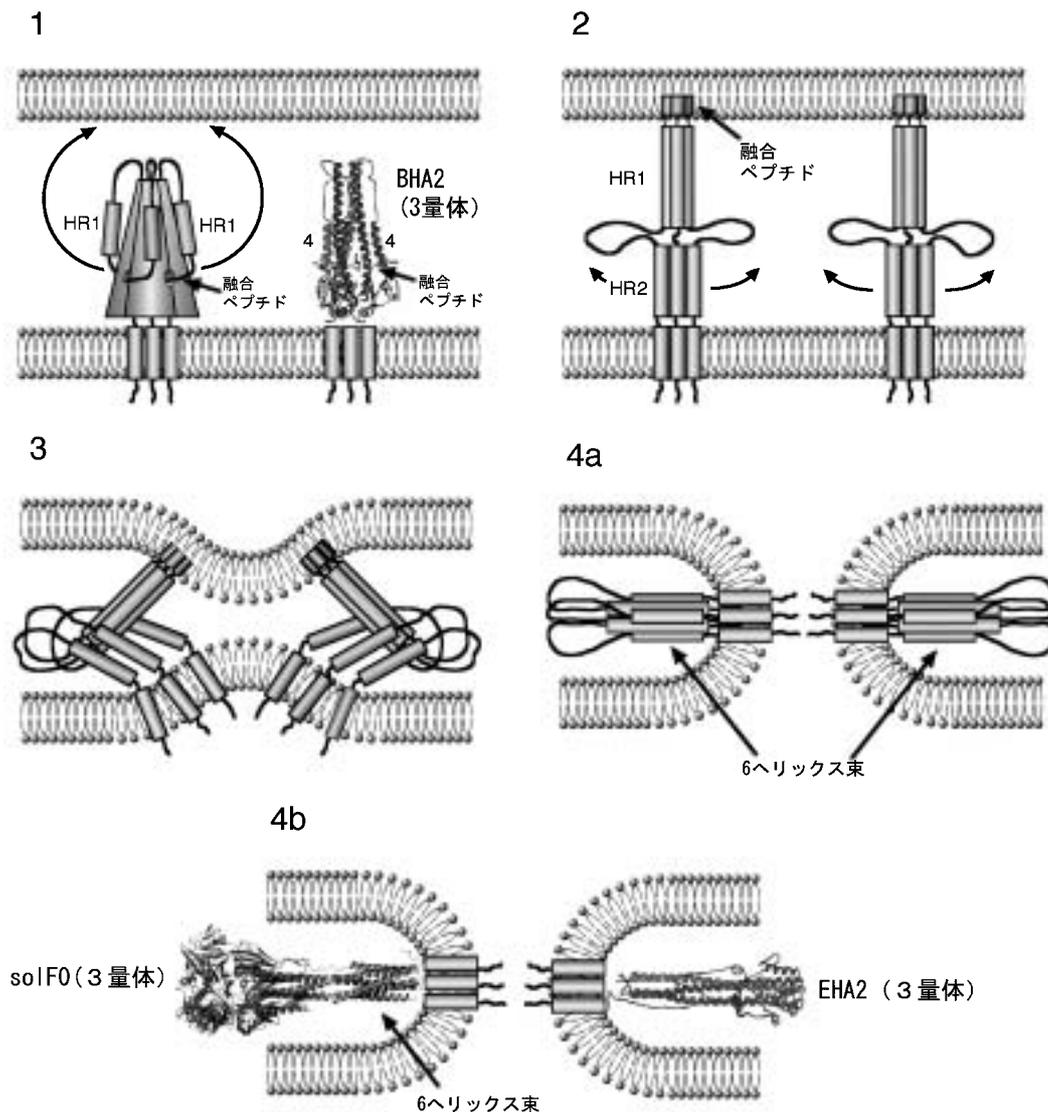


図4 パラミクソウイルスのFの構造変化による膜融合の誘導（仮説）

HAなどのクラスIの膜融合蛋白の構造変化のモデル^{43, 80}に準じて作図した。

1. 構造変化前の準安定な状態（prefusion 構造）。この状態のFの構造は未知なので、BHA2のリボンモデルを付記した（文献14より改変）。HA前駆体（HA0）の解裂部位は3量体の外面にループ状に突出しているが、解裂すると、3量体境界面に存在する腔内へ融合ペプチドのアミノ末端が入り込むことが分かっている^{13, 110}。解裂後のFの融合ペプチドのアミノ末端も同様の腔（radial channel）内に存在すると考えられる。
2. プレヘアピン中間体。3つのHR1領域（ α ヘリックス）からなるcoiled coil構造が形成され、融合ペプチドが標的膜に挿入される。HA2の融合ペプチドは、リン脂質プローブを用いた光架橋法により、脂質2重膜の外側の単分子層に挿入されることが明らかにされている^{7, 8, 37}。
3. 蛋白の再折りたたみ。プレヘアピン中間体で形成されたcoiled coil構造の外面に向かってHR2領域が移動することにより、標的膜とウイルス膜の曲率が変化し、互いに接近する。この過程では一時的に3量体の回転対称性が失われると考えられる。
- 4a. 6ヘリックス束の形成（postfusion 構造）。HR2領域（ α ヘリックス）がcoiled coil構造の外面に逆向きで結合することにより、6ヘリックス束を形成する。その結果、3量体の融合ペプチドと膜貫通ドメインがこの6ヘリックス束の一端に集まり、それと同時に膜の融合が完了するものと考えられている⁷³。
- 4b. 報告されたhPIV3のsolF0（3量体）のstalk領域には明瞭な6ヘリックス束が形成されていることから、この3量体はpostfusion構造であると見なしうる（文献114より改変）。比較のためEHA2（3量体）のpostfusion構造を付記した（文献14より改変）。

特徴であると考えられており、報告された NDV と hPIV3 の F の構造は postfusion 構造を示している可能性が濃厚である¹¹⁴⁾。したがって、ウイルス粒子から分離した HA (BHA) とは異なり、膜貫通ドメインや細胞内ドメインのない分泌蛋白として発現させた F は構造変化を起こしたか、あるいは最も安定な構造として折りたたまれた可能性があり¹¹⁴⁾、これは大腸菌で発現させた EHA2 の場合と同様の現象かもしれない。なお、F 蛋白の HR1 と HR2 の介在部は他のクラス I の膜融合蛋白に比べてきわめて長いことが特徴であるが (図 1)、F の head 領域にはこの介在部の一部からなる 2 つの β シートドメインが形成されている (図 3)。

パラミクソウイルスの F はクラス I の膜融合蛋白に該当し、その構造変化は、HA と同様に、プレヘアピン中間体を介したダイナミックなものであると考えられている (図 4)。クラス II の膜融合蛋白もホモ 3 量体の postfusion 構造を形成する過程で、図 4 の (2) あるいは (3) 以降に準じた構造変化をすることを考えられる⁴³⁾。ところで、クラス I の膜融合蛋白のホモ 3 量体は回転対称性であるが、これが (回転対称性の) postfusion 3 量体に構造変化する過程では、図 4 の (3) に示したように各単量体がそれぞれ異なる構造変化をする必要があり、このような非対称的な構造変化には無理があるように思われる。また、同様にクラス II の膜融合蛋白もこの段階での回転対称性の制約が想定される。興味深いことに、膜融合蛋白のホモ 3 量体のうちの 1 つが HR2 領域と膜貫通ドメインの間で切断されればこの制約が軽減されるというのではないか、という仮説が提唱されている¹⁰⁵⁾。実際に CDV や MV のウイルス粒子や感染細胞の F がこのような切断を受けていることが示されており、また、この切断が起らないように改変した変異 F は融合能を失うことが報告されている¹⁰⁵⁾。しかし、細胞のどのようなプロテアーゼがこのような絶妙な解裂をもたらすのか、これがクラス I の膜融合蛋白に普遍的な現象であるのかは現在のところ不明である。一方、クラス II の膜融合蛋白については、ドメイン I とドメイン III の蝶番部の柔軟性により、回転対称性の破綻が起りうると想定されている⁵⁵⁾。

5. 受容体結合蛋白の役割

レスピロウイルス属、ルブラウイルス属およびアブラウイルス属のウイルスの F は小胞体内で受容体結合蛋白 HN と結合して HN-F 複合体を形成することが報告されている^{76, 85, 93, 97)}。X 線結晶解析の結果から、NDV の HN は受容体に結合するとその構造変化が起こること¹⁶⁾、NDV の HN には 2 つの受容体結合部位が存在し、第 1 の受容体結合部位がシアル酸と結合することにより、globular head 領域が構造変化を起こして 2 量体境界部に第 2 の受容体結合部位が出現することが見出された¹¹⁷⁾。このことから、細胞表面やウイルス表面の HN-F 複合体においては、HN が受

容体に結合して構造変化を起こすと、F が複合体から解放されると同時に構造変化を起こして膜融合を媒介するというモデルが提示されている⁹¹⁾。しかし、hPIV3 や SV5 の HN の X 線結晶解析では、第 2 の受容体結合部位の存在は確認されず、受容体への結合も HN の globular head 領域の立体構造に大きな変化をもたらさないことから^{48, 116)}、トリのウイルス (NDV) の HN と、ほ乳類類のウイルス (SV5 と hPIV3) の HN とでは受容体に対する結合様式が異なることが示唆されている。

レスピロウイルス属、ルブラウイルス属およびアブラウイルス属のウイルスの HN がその stalk 領域を介して F と結合することがキメラ解析によって示唆され^{19, 92, 104)}、さらに免疫共沈実験により、実際に NDV の HN の stalk 領域が F との結合に関わることが示されている²⁰⁾。しかし、これまでに報告された HN の結晶構造からは、stalk 領域の立体構造についての情報は得られていない^{16, 48, 116)}。一方、F のキメラ解析により、hPIV2 の F が F1 の中央部領域を介して HN と結合することが示唆されている¹⁰¹⁾。この F1 中央部領域は報告された hPIV3 の F の立体構造 (図 3 の枠内) では head 領域のドメイン I に相当しており、ここが HN の stalk 領域と相互作用すると仮定すると、F の (仮想上の) prefusion 構造におけるドメイン I の位置は膜の近傍であることが推測される。

通常は F だけを細胞に発現させても融合能は示さないが、高温 (53 °C) で処理することにより F 単独で膜融合を起こすようになる⁶⁵⁾。また、F にアミノ酸変異を導入することにより、F 単独で膜融合を起こすようになるが^{40, 41, 74, 77, 78)}、このような変異 F の立体構造は、もとの F とは異なっていることが示されている^{50, 100)}。さらに、この種の変異によって 22 °C でも膜融合が誘導されるようになることから、HN の役割は F の構造変化に必要なエネルギーを供給することであると考えられている⁶⁵⁾。なお、F の構造変化に (仮想上の) F の受容体が関与しているかどうかは不明である。

6. パラミクソウイルスの膜融合に 影響を与える宿主因子

(1) 脂質ラフト

A 型インフルエンザウイルスの HA は脂質ラフトに親和性をもっており、脂質ラフトに分布しないようなアミノ酸変異を膜貫通ドメインに導入すると、膜融合能 (エンベロープ-細胞膜融合および細胞膜-細胞膜融合) が低下することが報告されている⁸⁹⁾。一方、NDV の F も脂質ラフトへの親和性を持つが、F の脂質ラフトへの分布とその膜融合能 (細胞膜-細胞膜融合) には関連がないことが報告されている²³⁾。しかし、脂質ラフトは HN の受容体 (ガングリオシド) に富んでいるので^{36, 51)}、受容体結合蛋白として HN を持つパラミクソウイルスの膜融合に標的細胞膜の脂

質ラフトが関わっている可能性はある。ちなみにヒト免疫不全ウイルス (HIV) やヒト T 細胞白血病ウイルス I 型による膜融合では、標的細胞膜上の脂質ラフト (あるいは脂質ラフトに局在する受容体) が重要な役割を演じていることが示されている^{58, 68)}。

(2) 細胞骨格

細胞内の低分子量 GTP 結合蛋白の一つである Rho A が活性化すると、アクチンストレスファイバーの形成による細胞骨格の変化と接着斑の形成⁷⁰⁾、Rho kinase を介したモエシンのリン酸化および微絨毛形成が起こることが報告されている⁶¹⁾。興味深いことに、RSV 感染により Rho A およびその下流のシグナル伝達系が活性化し³⁵⁾、その結果、微絨毛様の RSV ウイルス粒子形成が誘導されて隣接する細胞との細胞膜-細胞膜融合を媒介していることが報告された³⁴⁾。不思議なことに、Rho A は RSV の F の細胞外ドメイン (融合ペプチドと HR1 領域の介在部) に結合すること⁶²⁾、F 蛋白との結合部位に相当する Rho A ペプチドが、RSV 感染細胞だけでなく、hPIV3 感染細胞でも細胞膜-細胞膜融合を抑制することが報告されている⁶³⁾。

微絨毛様のウイルス粒子形成は SV5 や hPIV2 でも認められており^{71, 113)}、hPIV2 の微絨毛用ウイルス粒子の形成は RSV の場合と同様にアクチンの機能に依存するようであるが、Rho A の活性化や細胞膜-細胞膜融合との関連性については明らかではない¹¹³⁾。MV においても、細胞膜-細胞膜融合における細胞骨格の関与が示唆されている^{2, 22)}。一方、HIV においては、膜融合蛋白とコレセプターとの相互作用により、標的細胞内の Rac-1 が活性化してアクチンの再構成が起こることが、細胞膜-細胞膜融合だけでなくエンベロープ-細胞膜融合においても重要であることが示されている⁶⁷⁾。

(3) 融合制御蛋白

細胞の表面には融合制御蛋白 (FRP-1) が存在しており、抗 FRP-1 抗体の存在下で NDV や HIV の膜融合蛋白による細胞膜-細胞膜融合が促進されることが報告されている^{42, 60)}。また、同じ抗 FRP-1 抗体を単球に作用させると、細胞凝集と細胞膜-細胞膜融合が誘導され、さらに破骨細胞が形成されることも示されている^{38, 87)}。いずれの系でも抗 FRP-1 抗体の結合によりチロシンキナーゼが活性化して、約 130kDa の細胞内蛋白がリン酸化されており^{53, 86)}、この蛋白が膜融合の制御に関係していると思われる。なお、FRP-1 は S-S 結合で連結された重鎖 (CD98) と軽鎖 (L 系 アミノ酸トランスポーター: LAT-1) からなるヘテロダイマーであり^{59, 102, 103)}、抗 FRP-1 抗体のエピトープは CD98 に存在する⁶⁰⁾。CD98 は Type II の膜貫通型蛋白で、その細胞内ドメインで β 1 インテグリンと結合しており、抗 CD98 抗体でクロスリンクすると、インテグリンを介した細胞外マトリクスに対する細胞接着が亢進することが報告されている²⁷⁾。

7. おわりに

パラミクソウイルスによる膜融合は受容体結合蛋白と膜融合蛋白 (F) との相互作用が必要であることが特徴である。膜融合の誘導を引き起こす F の構造変化は、クラス I の膜融合蛋白 HA と同様であると推測されているが、F の prefusion 構造が不明であるため、本稿 (図 4) で紹介したのとは異なるモデルも存在する^{15, 66)}。さらに、近年相次いで報告された受容体結合蛋白 HN の結晶構造からは、F との相互作用に関わっていることが分子生物学的解析から想定されていた stalk 領域の情報が得られなかったことから、この相互作用の詳細な分子機構は現在でも不明である。HN-F 複合体の結晶構造が解明されることが望まれるが、HN と F の細胞外領域の native 構造を如何にして安定化するかが課題であると思われる。一方、狂犬病ウイルスの G はクラス I やクラス II の範疇以外の膜融合蛋白であると考えられることから、その prefusion 構造と postfusion 構造が解明されれば、ウイルス膜融合蛋白の領域にパラダイムシフトが起こるものと期待される。

文 献

- 1) Allison SL, Schalich J, Stiasny K, Mandl CW, Kunz C, Heinz FX: Oligomeric rearrangement of tick-borne encephalitis virus envelope proteins induced by an acidic pH. *J Virol* 69: 695-700, 1995.
- 2) Bedows E, Rao KM, Welsh MJ: Fate of microfilaments in Vero cells infected with measles virus and herpes simplex virus type 1. *Mol Cell Biol* 3: 712-719, 1983.
- 3) Bonaparte MI, Dimitrov AS, Bossart KN, Cramer G, Mungall BA, Bishop KA, Choudhry V, Dimitrov DS, Wang LF, Eaton BT, Broder CC: Ephrin-B2 ligand is a functional receptor for Hendra virus and Nipah virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 10652-10657, 2005.
- 4) Bosch BJ, van der Zee R, de Haan CA, Rottier PJ: The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J Virol* 77: 8801-8811, 2003.
- 5) Bossart KN, Wang LF, Eaton BT, Broder CC: Functional expression and membrane fusion tropism of the envelope glycoproteins of Hendra virus. *Virology* 290: 121-135, 2001.
- 6) Bressanelli S, Stiasny K, Allison SL, Stura EA, Duquerroy S, Lescar J, Heinz FX, Rey FA: Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation. *EMBO J* 23: 728-738, 2004.
- 7) Brunner J: Testing topological models for the membrane penetration of the fusion peptide of influenza virus hemagglutinin. *FEBS Lett* 257: 369-372, 1989.
- 8) Brunner J, Tsurudome M: Fusion-protein membrane interactions as studied by hydrophobic photolabeling. pp. 69-88. In Benz J (ed.): *Viral fusion mechanisms*. CRC Press, Boca Laton, Florida, 1993.
- 9) Bullough PA, Hughson FM, Skehel JJ, Wiley DC:

- Structure of influenza haemagglutinin at the pH of membrane fusion. *Nature* 371: 37-43, 1994.
- 10) Caffrey M, Cai M., Kaufman J, Stahl SJ, Wingfield PT, Covell DG, Gronenborn AM, Clore GM: Three-dimensional solution structure of the 44 kDa ectodomain of SIV gp41. *EMBO J* 17: 4572-4584, 1998.
 - 11) Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS: Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* 89: 263-273, 1997.
 - 12) Chen L, Gorman JJ, McKimm-Breschkin J, Lawrence LJ, Tulloch PA, Smith BJ, Colman PM, Lawrence MC: The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion. *Structure* 9: 255-266, 2001.
 - 13) Chen J, Lee KH, Steinhauer DA, Stevens DJ, Skehel JJ, Wiley DC: Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation. *Cell* 95: 409-417, 1998.
 - 14) Chen J, Skehel JJ, Wiley DC: N- and C-terminal residues combine in the fusion-pH influenza hemagglutinin HA(2) subunit to form an N cap that terminates the triple-stranded coiled coil. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 8967-8672, 1999.
 - 15) Colman PM, Lawrence MC: The structural biology of type I viral membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4: 309-319, 2003.
 - 16) Crennell S, Takimoto T, Portner A, Taylor G: Crystal structure of the multifunctional paramyxovirus hemagglutinin-neuraminidase. *Nat Struct Biol* 7: 1068-1074, 2000.
 - 17) Crill WD, Roehrig JT: Monoclonal antibodies that bind to domain III of dengue virus E glycoprotein are the most efficient blockers of virus adsorption to Vero cells. *J Virol* 75: 7769-7773, 2001.
 - 18) Danieli T, Pelletier SL, Henis YI, White JM: Membrane fusion mediated by the influenza virus hemagglutinin requires the concerted action of at least three hemagglutinin trimers. *J Cell Biol* 133: 559-569, 1996.
 - 19) Deng R, Mirza AM, Mahon PJ, Iorio RM: Functional chimeric HN glycoproteins derived from Newcastle disease virus and human parainfluenza virus-3. *Arch Virol* 13 (Supplement): 115-130, 1997.
 - 20) Deng R, Wang Z, Mahon PJ, Marinello M, Mirza A, Iorio RM: Mutations in the Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase protein that interfere with its ability to interact with the homologous F protein. *Virology* 253: 43-54, 1999.
 - 21) Dimitrov DS: Virus entry: molecular mechanisms and biomedical applications. *Nat Rev Microbiol* 2: 109-122, 2004.
 - 22) Doi Y, Kurita M, Matsumoto M, Kondo T, Noda T, Tsukita S, Tsukita S, Seya T: Moesin is not a receptor for measles virus entry into mouse embryonic stem cells. *J Virol* 72: 1586-1592, 1998.
 - 23) Dolganiuc V, McGinnes L, Luna EJ, Morrison TG: Role of the cytoplasmic domain of the Newcastle disease virus fusion protein in association with lipid rafts. *J Virol* 77: 12968-12979, 2003.
 - 24) Dorig RE, Marcil A, Chopra A, Richardson CD: The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell* 75: 295-305, 1993.
 - 25) Durrer P, Galli C, Hoenke S, Corti C, Glück R, Vorherr T, Brunner J: H⁺-induced membrane insertion of influenza virus hemagglutinin involves the HA2 amino-terminal fusion peptide but not the coiled coil region. *J Biol Chem* 271: 13417-13421, 1996.
 - 26) Feldman SA, Audet S, Beeler JA: The fusion glycoprotein of human respiratory syncytial virus facilitates virus attachment and infectivity via an interaction with cellular heparan sulfate. *J Virol* 74: 6442-6447, 2000.
 - 27) Fenczik CA, Sethi T, Ramos JW, Hughes PE, Ginsberg MH: Complementation of dominant suppression implicates CD98 in integrin activation. *Nature* 390: 81-85, 1997.
 - 28) Ferlenghi I, Clarke M, Ruttan T, Allison SL, Schalich J, Heinz FX, Harrison SC, Rey FA, Fuller SD: Molecular organization of a recombinant subviral particle from tick-borne encephalitis virus. *Mol Cell* 7: 593-602, 2001.
 - 29) Gaudin Y, Ruigrok RW, Tuffereau C, Knossow M, Flamand A: Rabies virus glycoprotein is a trimer. *Virology* 187: 627-632, 1992.
 - 30) Gaudin Y, Tuffereau C, Durrer P, Brunner J, Flamand A, Ruigrok R: Rabies virus-induced membrane fusion. *Mol Membr Biol* 16: 21-31, 1999.
 - 31) Gibbons DL, Ahn A, Chatterjee PK, Kielian M: Formation and characterization of the trimeric form of the fusion protein of Semliki Forest Virus. *J Virol* 74: 7772-7780, 2000.
 - 32) Gibbons DL, Erk I, Reilly B, Navaza J, Kielian M, Rey FA, Lepault J: Visualization of the target-membrane-inserted fusion protein of Semliki Forest virus by combined electron microscopy and crystallography. *Cell* 114: 573-583, 2003.
 - 33) Gibbons DL, Vaney MC, Roussel A, Vigouroux A, Reilly B, Lepault J, Kielian M, Rey FA: Conformational change and protein-protein interactions of the fusion protein of Semliki Forest virus. *Nature* 427: 320-325, 2004.
 - 34) Gower TL, Pastey MK, Peeples ME, Collins PL, McCurdy LH, Hart TK, Guth A, Johnson TR, Graham BS: RhoA signaling is required for respiratory syncytial virus-induced syncytium formation and filamentous virion morphology. *J Virol* 79: 5326-5336, 2005.
 - 35) Gower TL, Peeples ME, Collins PL, Graham BS: RhoA is activated during respiratory syncytial virus infection. *Virology* 283: 188-196, 2001.
 - 36) Harder T, Scheiffele P, Verkade P, Simons K: Lipid domain structure of the plasma membrane revealed by patching of membrane components. *J Cell Biol* 141: 929-942, 1998.
 - 37) Harter C, James P, Bächli T, Semenza G, Brunner J: Hydrophobic binding of the ectodomain of influenza hemagglutinin to membranes occurs through the "fusion peptide". *J Biol Chem* 264: 6459-6464, 1989.

- 38) Higuchi S, Tabata N, Tajima M, Ito M, Tsurudome M, Sudo A, Uchida A, Ito Y: Induction of human osteoclast-like cells by treatment of blood monocytes with anti-fusion regulatory protein-1/CD98 monoclonal antibodies. *J Bone Miner Res* 13: 44-49, 1998.
- 39) Hu X, Ray R, Compans RW: Functional interactions between the fusion protein and hemagglutinin-neuraminidase of human parainfluenza viruses. *J Virol* 66: 1528-1534, 1992.
- 40) Ito M, Nishio M, Kawano M, Kusagawa S, Komada H, Ito Y, Tsurudome M: Role of a single amino acid at the amino terminus of the simian virus 5 F2 subunit in syncytium formation. *J Virol* 71: 9855-9858, 1997.
- 41) Ito M, Nishio M, Komada H, Ito Y, Tsurudome M: An amino acid in the heptad repeat 1 domain is important for the haemagglutinin-neuraminidase-independent fusing activity of simian virus 5 fusion protein. *J Gen Virol* 81: 719-727, 2000.
- 42) Ito Y, Komada H, Kusagawa S, Tsurudome M, Matsumura H, Kawano M, Ohta H, Nishio M: Fusion regulation proteins on the cell surface: isolation and characterization of monoclonal antibodies which enhance giant polykaryocyte formation in Newcastle disease virus-infected cell lines of human origin. *J Virol* 66: 5999-6007, 1992.
- 43) Jardetzky TS, Lamb RA: *Virology: a class act*. *Nature* 427, 307-308, 2004.
- 44) Karron RA, Buonagurio DA, Georgiu AF, Whitehead SS, Adamus JE, Clements-Mann ML, Harris DO, Randolph VB, Udem SA, Murphy BR, Sidhu MS: Respiratory syncytial virus (RSV) SH and G proteins are not essential for viral replication in vitro: clinical evaluation and molecular characterization of a cold-passaged, attenuated RSV subgroup B mutant. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13961-13966, 1997.
- 45) Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletnev SV, Corver J, Lenches E, Jones CT, Mukhopadhyay S, Chipman PR, Strauss EG, Baker TS, Strauss JH: Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 108: 717-725, 2002.
- 46) Lamb RA, Kolakofsky D, 2001: Paramyxoviridae: the viruses and their replication. pp. 1305-1340. In Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE (eds.): *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
- 47) Langedijk JP, Daus FJ, van Oirschot JT: Sequence and structure alignment of Paramyxoviridae attachment proteins and discovery of enzymatic activity for a morbillivirus hemagglutinin. *J Virol* 71: 6155-6167, 1997.
- 48) Lawrence MC, Borg NA, Streltsov VA, Pilling PA, Epa VC, Varghese JN, McKimm-Breschkin JL, Colman PM: Structure of the haemagglutinin-neuraminidase from human parainfluenza virus type III. *J Mol Biol* 335: 1343-1357, 2004.
- 49) Lescar J, Roussel A, Wien MW, Navaza J, Fuller SD, Wengler G, Wengler G, Rey FA: The Fusion glycoprotein shell of Semliki Forest virus: an icosahedral assembly primed for fusogenic activation at endosomal pH. *Cell* 105: 137-148, 2001.
- 50) Li J, Melanson VR, Mirza AM, Iorio RM: Decreased dependence on receptor recognition for the fusion promotion activity of L289A-mutated Newcastle disease virus fusion protein correlates with a monoclonal antibody-detected conformational change. *J Virol* 79: 1180-1190, 2005.
- 51) Markwell MA, Paulson JC: Sendai virus utilizes specific sialyloligosaccharides as host cell receptor determinants. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 5693-5697, 1980.
- 52) Massé N, Ainouze M, Neél B, Wild TF, Buckland R, Langedijk JP: Measles virus (MV) hemagglutinin: evidence that attachment sites for MV receptors SLAM and CD46 overlap on the globular head. *J Virol* 78: 9051-9063, 2004.
- 53) Miyamoto N, Higuchi Y, Tsurudome M, Ito M, Nishio M, Kawano M, Sudo A, Kato K, Uchida A, Ito Y: Induction of c-Src in human blood monocytes by anti-CD98/FRP-1 mAb in an Sp1-dependent fashion. *Cell Immunol* 204: 105-113, 2000.
- 54) Modis Y, Ogata S, Clements D, Harrison SC: A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 6986-6991, 2003.
- 55) Modis Y, Ogata S, Clements D, Harrison SC: Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. *Nature* 427: 313-319, 2004.
- 56) Nanche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, Wild TF, Rossi B, Roubourdin-Combe C, Gerlier D: Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus. *J Virol* 67: 6025-6032, 1993.
- 57) Neumann G, Feldmann H, Watanabe S, Lukashevich I, Kawaoka Y: Reverse genetics demonstrates that proteolytic processing of the Ebola virus glycoprotein is not essential for replication in cell culture. *J Virol* 76: 406-410, 2002.
- 58) Niyogi K, Hildreth JE: Characterization of new syncytium-inhibiting monoclonal antibodies implicates lipid rafts in human T-cell leukemia virus type 1 syncytium formation. *J Virol* 75: 7351-7361, 2001.
- 59) Ohgimoto S, Tabata N, Suga S, Nishio M, Ohta H, Tsurudome M, Komada H, Kawano M, Watanabe N, Ito Y: Molecular characterization of fusion regulatory protein-1 (FRP-1) that induces multinucleated giant cell formation of monocytes and HIV gp160-mediated cell fusion. FRP-1 and 4F2/CD98 are identical molecules. *J Immunol* 155: 3585-3592, 1995.
- 60) Ohta H, Tsurudome M, Matsumura H, Koga Y, Morikawa S, Kawano M, Kusagawa S, Komada H, Nishio M, Ito Y: Molecular and biological characterization of fusion regulatory proteins (FRPs): anti-FRP mAbs induced HIV-mediated cell fusion via an integrin system. *EMBO J* 13: 2044-2055, 1994.
- 61) Oshiro N, Fukata Y, Kaibuchi K: Phosphorylation of moesin by rho-associated kinase (Rho-kinase) plays a crucial role in the formation of microvilli-like structures. *J Biol Chem* 273: 34663-34666, 1998.
- 62) Pasty MK, Crowe JE Jr, Graham BS: RhoA interacts with the fusion glycoprotein of respiratory syncytial virus and facilitates virus-induced syncytium forma-

- tion. *J Virol* 73:7262-7270, 1999.
- 63) Pastey MK, Gower TL, Spearman PW, Crowe JE Jr, Graham BS: A RhoA-derived peptide inhibits syncytium formation induced by respiratory syncytial virus and parainfluenza virus type 3. *Nat Med* 6: 35-40, 2000.
 - 64) Paterson RG, Hiebert SW, Lamb RA: Expression at the cell surface of biologically active fusion and hemagglutinin/neuraminidase proteins of the paramyxovirus simian virus 5 from cloned cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7520-7524, 1985.
 - 65) Paterson RG, Russell CJ, Lamb RA: Fusion protein of the paramyxovirus SV5: destabilizing and stabilizing mutants of fusion activation. *Virology* 270: 17-30, 2000.
 - 66) Peisajovich SG, Shai Y: New insights into the mechanism of virus-induced membrane fusion. *Trends Biochem Sci* 27: 183-190, 2002.
 - 67) Pontow SE, Heyden NV, Wei S, Ratner L: Actin cytoskeletal reorganizations and coreceptor-mediated activation of Rac during human immunodeficiency virus-induced cell fusion. *J Virol* 78: 7138-7147, 2004.
 - 68) Popik W, Alce TM, Au WC: Human immunodeficiency virus type 1 uses lipid raft-colocalized CD4 and chemokine receptors for productive entry into CD4(+) T cells. *J Virol* 76: 4709-4722, 2002.
 - 69) Rey FA, Heinz FX, Mandl C, Kunz C, Harrison SC: The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2Å resolution. *Nature* 375: 291-298, 1995.
 - 70) Ridley AJ, Hall A: The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 70: 389-399, 1992.
 - 71) Rindler MJ, Ivanov IE, Plesken H, Rodriguez-Boulan E, Sabatini DD: Viral glycoproteins destined for apical or basolateral plasma membrane domains traverse the same Golgi apparatus during their intracellular transport in doubly infected Madin-Darby canine kidney cells. *J Cell Biol* 98: 1304-1319, 1984.
 - 72) Roche S, Gaudin Y: Characterization of the equilibrium between the native and fusion-inactive conformation of rabies virus glycoprotein indicates that the fusion complex is made of several trimers. *Virology* 297: 128-135, 2002.
 - 73) Russell CJ, Jardetzky TS, Lamb RA: Membrane fusion machines of paramyxoviruses: capture of intermediates of fusion. *EMBO J* 20: 4024-4034, 2001.
 - 74) Russell CJ, Jardetzky TS, Lamb RA: Conserved glycine residues in the fusion peptide of the paramyxovirus fusion protein regulate activation of the native state. *J Virol* 78: 13727-13742, 2004.
 - 75) San Román K, Villar E, Muñoz-Barroso I: Acidic pH enhancement of the fusion of Newcastle disease virus with cultured cells. *Virology* 260: 329-341, 1999.
 - 76) Segawa H, Kato M, Yamashita T, Taira, H: The roles of individual cysteine residues of Sendai virus fusion protein in intracellular transport. *J Biochem* 123, 1064-1072, 1998.
 - 77) Sergel TA, McGinnes LW, Morrison TG: A single amino acid change in the Newcastle disease virus fusion protein alters the requirement for HN protein in fusion. *J Virol* 74: 5101-5107, 2000.
 - 78) Seth S, Vincent A, Compans RW: Mutations in the cytoplasmic domain of a paramyxovirus fusion glycoprotein rescue syncytium formation and eliminate the hemagglutinin-neuraminidase protein requirement for membrane fusion. *J Virol* 77: 167-178, 2003.
 - 79) Seth S, Vincent A, Compans RW: Activation of fusion by the SER virus F protein: a low-pH-dependent paramyxovirus entry process. *J Virol* 77: 6520-6527, 2003.
 - 80) Skehel JJ, Wiley DC: Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu Rev Biochem* 69: 531-569, 2000.
 - 81) Stauber R, Pfeleiderera M, Siddell S: Proteolytic cleavage of the murine coronavirus surface glycoprotein is not required for fusion activity. *J Gen Virol* 74: 183-191, 1993.
 - 82) Stegmann T, Delfino JM, Richards FM, Helenius A: The HA2 subunit of influenza hemagglutinin inserts into the target membrane prior to fusion. *J Biol Chem* 266: 18404-18410, 1991.
 - 83) Stern LB, Greenberg M, Gershoni JM, Rozenblatt S: The hemagglutinin envelope protein of canine distemper virus (CDV) confers cell tropism as illustrated by CDV and measles virus complementation analysis. *J Virol* 69: 1661-1668, 1995.
 - 84) Stiasny K, Allison SL, Marchler-Bauer A, Kunz C, Heinz FX: Structural requirements for low-pH-induced rearrangements in the envelope glycoprotein of tick-borne encephalitis virus. *J Virol* 70: 8142-8147, 1996.
 - 85) Stone-Hulslander J, Morrison TG: Detection of an interaction between the HN and F proteins in Newcastle disease virus-infected cells. *J Virol* 71: 6287-6295, 1997.
 - 86) Tabata N, Ido M, Suga S, Ohgimoto S, Tsurudome M, Kawano M, Nishio M, Watanabe N, Okamoto K, Komada H, Sakurai M, Ito Y: Protein tyrosine kinase activation provides an early and obligatory signal in anti-FRP-1/CD98/4F2 monoclonal antibody induced cell fusion mediated by HIV gp160. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 186: 115-123, 1997.
 - 87) Tabata N, Ito M, Shimokata K, Suga S, Ohgimoto S, Tsurudome M, Kawano M, Matsumura H, Komada H, Nishio M, Ito Y: Expression of fusion regulatory proteins (FRPs) on human peripheral blood monocytes. Induction of homotypic cell aggregation and formation of multinucleated giant cells by anti-FRP-1 monoclonal antibodies. *J Immunol* 153: 3256-3266, 1994.
 - 88) Taguchi F: Fusion formation by the uncleaved spike protein of murine coronavirus JHMV variant cl-2. *J Virol* 67: 1195-1202, 1993.
 - 89) Takeda M, Leser GP, Russell CJ, Lamb RA: Influenza virus hemagglutinin concentrates in lipid raft microdomains for efficient viral fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 14610-14617, 2003.
 - 90) Tamin A, Harcourt BH, Ksiazek TG, Rollin PE, Bellini WJ, Rota PA: Functional properties of the fusion and

- attachment glycoproteins of Nipah virus. *Virology* 296: 190-200, 2002.
- 91) Takimoto T, Taylor GL, Connaris HC, Crennell SJ, Portner A: Role of the Hemagglutinin-neuraminidase protein in the mechanism of paramyxovirus-cell membrane fusion. *J Virol* 76: 13028-13033, 2002.
 - 92) Tanabayashi K, Compans RW: Functional interaction of paramyxovirus glycoproteins: identification of a domain in Sendai virus HN which promotes cell fusion. *J Virol* 70: 6112-6118, 1996.
 - 93) Tanaka Y, Heminway BR, Galinski MS: Down-regulation of paramyxovirus hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein surface expression by a mutant fusion protein containing a retention signal for the endoplasmic reticulum. *J Virol* 70: 5005-5015, 1996.
 - 94) Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y: SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* 406: 893-897, 2000.
 - 95) Tatsuo H, Ono N, Yanagi Y: Morbilliviruses use signaling lymphocyte activation molecules (CD150) as cellular receptors. *J Virol* 75: 5842-5850, 2001.
 - 96) Techaarpornkul S, Barretto N, Peebles ME: Functional analysis of recombinant respiratory syncytial virus deletion mutants lacking the small hydrophobic and/or attachment glycoprotein gene. *J Virol* 75: 6825-6834, 2001.
 - 97) Tong S, Compans RW: Alternative mechanisms of interaction between homotypic and heterotypic parainfluenza virus HN and F proteins. *J Gen Virol* 80: 107-115, 1999.
 - 98) Tong S, Li M, Vincent A, Compans RW, Fritsch E, Beier R, Klenk C, Ohuchi M, Klenk HD: Regulation of fusion activity by the cytoplasmic domain of a paramyxovirus F protein. *Virology* 301: 322-333, 2002.
 - 99) Tsurudome M, Glück R, Graf R, Falchetto R, Schaller U, Brunner J: Lipid interactions of the hemagglutinin HA2-terminal segment during influenza virus-induced membrane fusion. *J Biol Chem* 267: 20225-20232, 1992.
 - 100) Tsurudome M, Ito M, Nishio M, Kawano M, Komada H, Ito Y: Hemagglutinin-neuraminidase-independent fusion activity of simian virus 5 fusion (F) protein: difference in conformation between fusogenic and nonfusogenic F proteins on the cell surface. *J Virol* 75: 8999-9009, 2001.
 - 101) Tsurudome M, Ito M, Nishio M, Kawano M, Okamoto K, Kusagawa S, Komada H, Ito Y: Identification of regions on the fusion protein of human parainfluenza type 2 virus which are required for haemagglutinin-neuraminidase proteins to promote cell fusion. *J Gen Virol* 79: 279-289, 1998.
 - 102) Tsurudome M, Ito M, Takebayashi S, Okumura K, Nishio M, Kawano M, Kusagawa S, Komada H, Ito Y: Cutting edge: primary structure of the light chain of fusion regulatory protein-1/CD98/4F2 predicts a protein with multiple transmembrane domains that is almost identical to the amino acid transporter E16. *J Immunol* 162: 2462-2466, 1999.
 - 103) Tsurudome M, Ito Y: Function of fusion regulatory proteins (FRPs) in immune cells and virus-infected cells. *Crit Rev Immunol* 20: 167-196, 2000.
 - 104) Tsurudome M, Kawano M, Yuasa T, Tabata N, Nishio M, Komada H, Ito Y: Identification of regions on the hemagglutinin-neuraminidase protein of human parainfluenza virus type 2 important for promoting cell fusion. *Virology* 213: 190-203, 1995.
 - 105) von Messling V, Milosevic D, Devaux P, Cattaneo R: Canine distemper virus and measles virus fusion glycoprotein trimers: partial membrane-proximal ectodomain cleavage enhances function. *J Virol* 78: 7894-7903, 2004.
 - 106) Wahlberg JM, Bron R, Wilschut J, Garoff H: Membrane fusion of Semliki Forest virus involves homotrimers of the fusion protein. *J Virol* 66: 7309-7318, 1992.
 - 107) Wahlberg JM, Garoff H: Membrane fusion process of Semliki Forest virus. I: Low pH-induced rearrangement in spike protein quaternary structure precedes virus penetration into cells. *J Cell Biol* 116: 339-348, 1992.
 - 108) Weissenhorn W, Carfi A, Lee K-H, Skehel JJ, Wiley DC: Crystal structure of the Ebola virus membrane fusion subunit, GP2, from the envelope glycoprotein ectodomain. *Mol Cell* 2: 605-616, 1998.
 - 109) Wild TF, Malvoisin E, Buckland R: Measles virus: both the haemagglutinin and fusion glycoproteins are required for fusion. *J Gen Virol* 72: 439-442, 1991.
 - 110) Wilson IA, Skehel JJ, Wiley DC: Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3Å resolution. *Nature* 289: 366-373, 1981.
 - 111) Whitt MA, Buonocore L, Prehaud C, Rose JK: Membrane fusion activity, oligomerization, and assembly of the rabies virus glycoprotein. *Virology* 185: 681-688, 1991.
 - 112) Xiao X, Chakraborti S, Dimitrov AS, Gramatikoff K, Dimitrov DS: The SARS-CoV S glycoprotein: expression and functional characterization. *Biochem Biophys Res Commun* 312, 1159-1164, 2003.
 - 113) Yao Q, Compans RW: Filamentous particle formation by human parainfluenza virus type 2. *J Gen Virol* 81: 1305-1312, 2000.
 - 114) Yin HS, Paterson RG, Wen X, Lamb RA, Jardetzky T: Structure of the uncleaved ectodomain of the paramyxovirus (hPIV3) fusion protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 9288-9293, 2005.
 - 115) Yu M, Hansson E, Langedijk JP, Eaton BT, Wang LF: The attachment protein of Hendra virus has high structural similarity but limited primary sequence homology compared with viruses in the genus Paramyxovirus. *Virology* 251: 227-233, 1998.
 - 116) Yuan P, Thompson TB, Wurzburg BA, Paterson RG, Lamb RA, Jardetzky TS: Structural studies of the parainfluenza virus 5 hemagglutinin-neuraminidase tetramer in complex with its receptor, sialyllactose. *Structure* 13: 803-815, 2005.
 - 117) Zaitsev V, von Itzstein M, Groves D, Kiefel M, Takimoto T, Portner A, Taylor G: Second sialic acid binding site in Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase: implications for fusion. *J Virol* 78: 3733-3741, 2004.

Viral fusion mechanisms

Masato TSURUDOME

Department of Microbiology
Mie University Graduate School of Medicine
2-174 Edobashi, Tsu, Mie 514-8507, JAPAN
TEL&FAX: 059-231-5008
E-mail: turudome@doc.medic.mie-u.ac.jp

The majority of viral fusion proteins can be divided into two classes. The influenza hemagglutinin (HA) belongs to the class I fusion proteins and undergoes a series of conformational changes at acidic pH, leading to membrane fusion. The crystal structures of the prefusion and the postfusion forms of HA have been revealed in 1981 and 1994, respectively. On the basis of these structures, a model for the mechanism of membrane fusion mediated by the conformational changes of HA has been proposed. The flavivirus E and alphavirus E1 proteins belong to the class II fusion proteins and mediate membrane fusion at acidic pH. Their prefusion structures are distinct from that of HA. Last year, however, it has become evident that the postfusion structures of these class I and class II fusion proteins are similar. The paramyxovirus F protein belongs to the class I fusion proteins. In contrast to HA, an interaction between F and its homologous attachment protein is required for F to undergo the conformational changes. Since F mediates fusion at neutral pH, the infected cells can fuse with neighboring uninfected cells. The crystal structures of F and the attachment protein HN have recently been clarified, which will facilitate studies of the molecular mechanism of F-mediated membrane fusion.