

### 3. ヘルペスウイルスの感染機構 —特に宿主細胞への侵入および粒子成熟機構

森 康 子

医薬基盤研究所・感染制御プロジェクト

ヘルペスウイルスは、ウイルスエンベロープにある糖タンパク質が特異的な宿主レセプターを認識することにより、細胞内へ侵入する。その後、核内で形成されたヌクレオカプシドは、細胞質へ放出され、細胞質においてテグメントを獲得し、ウイルス感染によって形成された小胞膜に出芽する (secondary envelopment)。Secondary envelopment には、数種のウイルスエンベロープ糖タンパク質やテグメントタンパク質が関与し、それらの相互作用が重要であることが示されている。しかし、詳細なヘルペスウイルスの粒子成熟機構は未だ解明されていない。本稿では、最近の知見を中心にヘルペスウイルスの宿主細胞への侵入および粒子成熟機構に関して述べる。

#### 1. ヘルペスウイルス粒子と宿主細胞への感染、粒子形成

ヒトヘルペスウイルスは二本鎖線状 DNA をゲノムとしてもつ DNA ウイルスであり、ヒトでは、現在までに 8 種類が同定されている。生物学的特性から  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  に分けられる。内訳は、 $\alpha$  ヘルペスウイルス亜科に属する単純ヘルペスウイルス 1 型 (Herpes simplex virus 1 ; HSV-1), 単純ヘルペスウイルス 2 型 (Herpes simplex virus 2 ; HSV-2), 水痘・帯状疱疹ウイルス (Varicella-zoster virus ; VZV),  $\beta$  ヘルペスウイルス亜科に属するヒトサイトメガロウイルス (Human cytomegalovirus ; HCMV), ヒトヘルペスウイルス 6 (Human herpesvirus 6 ; HHV-6), ヒトヘルペスウイルス 7 (Human herpesvirus 7 ; HHV-7),  $\gamma$  ヘルペスウイルス亜科に属する EB ウイルス (Epstein-Barr virus ; EBV), カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ; KSHV あるいは Human herpesvirus 8 ; HHV-8 とも呼ば

れる) に分類されている。ゲノムの長さは、ウイルスによって異なるが、約 120-220kbp と大きなゲノムをもち、約 80-100 個の ORF をコードしている。ウイルス粒子は、DNA ゲノムを含む内部コア、それを囲む正二十面体のカプシド、テグメントからなる。ウイルス粒子最外層は、宿主由来の脂質二重層からなり、ウイルス特異的な糖タンパク質が突き刺さっている。ウイルス粒子は、30 個以上の異なったウイルスタンパク質から構成されることが報告されている。宿主因子もウイルス粒子内に取り込まれていることが近年報告されている。

ウイルスの宿主細胞への感染は、エンベロープにあるウイルス糖タンパク質が、特異的な宿主レセプターを認識し、宿主細胞へと侵入することから始まる (図 1)。侵入方法は、レセプター依存的にエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれる場合と、ウイルスエンベロープ膜と宿主細胞膜の融合によって侵入する場合があげられる。その後、ウイルスカプシドから、核膜孔を通して DNA ゲノムが核内へ放出される。核内においては、新たに産生されたウイルスタンパク質が、宿主機構を利用し、ウイルス DNA 合成を行い、その後複製されたウイルスゲノムは核内でカプシドにパッケージングされる。核内で形成されたヌクレオカプシドは、その後、核外へと移動する。

ヌクレオカプシドの核外への移動において、ヌクレオカプシドは、まず、核内膜でエンベロープを被り (primary envelopment), その後、核外膜でエンベロープを脱ぎ (核

#### 連絡先

〒 567-0085 大阪府茨木市彩都 7-6-8  
 医薬基盤研究所・感染制御プロジェクト  
 TEL: 072-641-9012  
 FAX: 072-641-9812  
 E-mail: ymori@nibio.go.jp

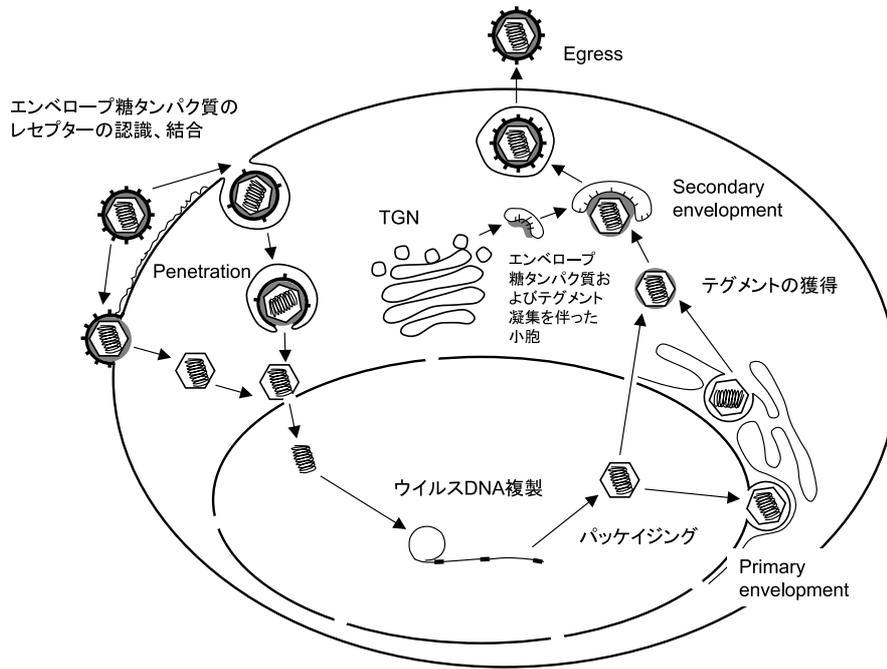


図 1. ヘルペスウイルスの感染機構

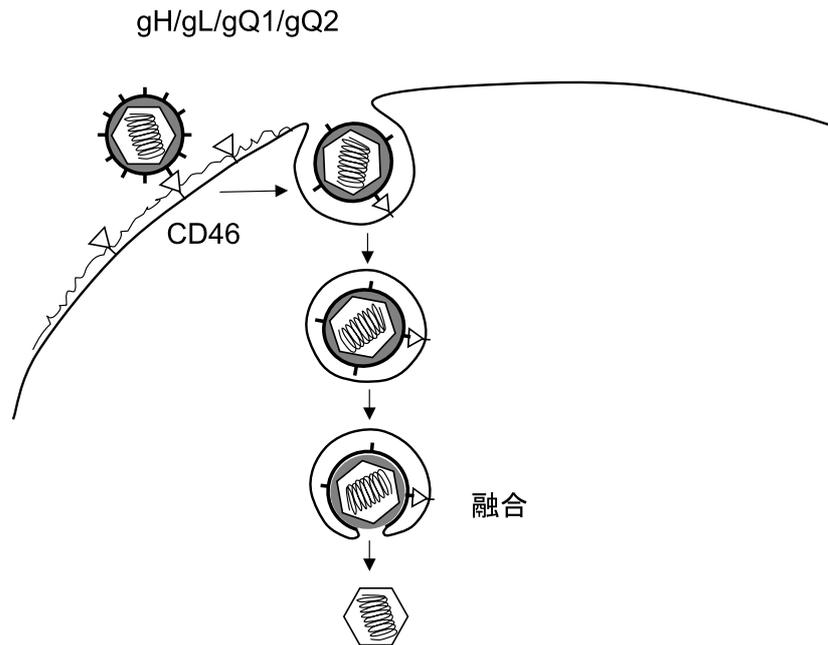
エンベロープ糖タンパク質が特異的な宿主レセプターを認識し、宿主細胞に侵入した後、核内でウイルスゲノムを獲得したヌクレオカプシドは、核外へ移動し、感染細胞の細胞質内に新たに形成されたウイルスエンベロープをもつ小胞膜に出芽し、成熟ウイルス粒子となる。その小胞膜には、テグメント様物質が凝集しており、その膜は TGN や endosome 由来であると報告されている。

外膜とエンベロープの融合), このときウイルス粒子は細胞質へ放出される (nuclear egress). 成熟ウイルス粒子のエンベロープに存在し、宿主細胞への侵入過程に重要である糖タンパク質 glycoprotein B (gB) および glycoprotein H (gH) の両方を同時に欠損させた変異ウイルス (HSV-1) においては、エンベロープを被ったウイルスが、perinuclear space あるいは核内膜の小胞に蓄積することが明らかとなり、これらの糖タンパク質は、nuclear egress にも関与していることも報告された<sup>6)</sup>. 一方、ヌクレオカプシドの核から細胞質への移動には、最近、ウイルス感染細胞において核膜孔がゆるみ、その間をヌクレオカプシドが、細胞質へ直接放出されるとの報告もなされた<sup>16)</sup>. またウイルスによって、テグメントは、核内ですでに一部獲得しているという報告もあるが、多くは細胞質で獲得される。その後のウイルス粒子成熟過程および細胞外へのウイルス粒子放出には諸説があるが、未だ、詳細は不明である。

$\alpha$  ヘルペスウイルスでは、ウイルス感染細胞で形成された Golgi あるいは trans-Golgi network (TGN) 由来と考えられるエンベロープ糖タンパク質を発現している小胞膜に出芽する (secondary envelopment) ことが報告されている。その小胞においてウイルス粒子が出芽する部分は、三日月状の形態をとり、一部にウイルステグメント様物質が凝集している像が見られる。未熟ウイルス粒子は、その

部分でエンベロープを被り、成熟ウイルス粒子となる。しかし、 $\alpha$  ヘルペスウイルスにおいてもエンドソーム膜で出芽するとの報告もあり、ウイルス粒子が出芽する膜に関しては、未だ、確定的ではない<sup>2, 3, 12, 15, 17, 18, 32, 37)</sup>.  $\alpha$  ヘルペスウイルスにおける未熟ウイルス粒子 (ヌクレオカプシド) はエンベロープを被る前に 15 種類以上のテグメントタンパク質を細胞質において獲得することが報告されている。これらの過程に関与するウイルス因子 (糖タンパク質やテグメントタンパク質) は数種類報告されているが、どのような宿主因子がこの過程に関与しているかは、ほとんど報告がなされていない。その後、成熟ウイルス粒子を保持する小胞は、形質膜に輸送され、エクソサイトーシスによって細胞外へと分泌されると報告されている。

$\beta$  ヘルペスウイルス (ここでは、HCMV について述べる) における secondary envelopment には諸説がある<sup>13, 23, 25, 30)</sup>. 核周辺におけるウイルス因子が集積する領域 (virus factories とよばれている) において、secondary envelopment はおこることが知られている。 $\alpha$  ヘルペスウイルスと同じくテグメント様物質の凝集を伴った三日月型の小胞膜部分での出芽が、報告されているが、その小胞膜がどこ由来であるかは同定されていない。 $\alpha$  ヘルペスウイルスにおいて報告されているように Golgi あるいは trans-Golgi network (TGN) 由来の膜であるという報告や、エ



## 図 2. HHV-6 の宿主への侵入

HHV-6A エンベロープ糖タンパク質複合体である gH/gL/gQ1/gQ2 がヒト CD46 を認識し、結合する。このとき別のエンベロープ糖タンパク質である gB もまた、異なった宿主因子に結合すると考えられ、ウイルスはエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。その後、細胞内において膜融合（ウイルスエンベロープ膜と endosome 膜）が起こり、ヌクレオカプシドは細胞内へ放出される。このとき、ウイルスエンベロープを構成するコレステロールはウイルス糖タンパク質をエンベロープに支持し、ウイルス糖タンパク質（gH および gB の関与が示唆されている）が引き起こす膜融合過程に重要な役割を果たしていると考えられる。

ンドソームの膜由来であるとの報告もある。

本稿では、HHV-6 の宿主細胞への侵入機構および HSV、HCMV および HHV-6 の粒子成熟に関する最近の知見を述べたい。

## 2. HHV-6 の宿主細胞への侵入機構

HHV-6 は、 $\beta$  ヘルペスウイルス亜科に属し、T 細胞系でウイルス粒子を形成するという興味ある特徴をもつ。塩基配列、抗原性、細胞向性の違いにより二つのバリエーション、即ち HHV-6A および HHV-6B に分けられる。宿主細胞への侵入は、レセプター依存的なエンドサイトーシスによることが報告されている。ヘルペスウイルスにおいては、エンベロープ糖タンパク質である、gB および gH が侵入過程、特に膜融合過程に重要であることが明らかとなっている。

HHV-6 の宿主レセプターは、ヒト CD46 であり、そのウイルス側リガンドは、エンベロープ糖タンパク質である glycoprotein H (gH)/glycoprotein L (gL)/glycoprotein Q1 (gQ1)/glycoprotein Q2 (gQ2) 複合体であることが明らかとなっている<sup>1, 20)</sup>。筆者らの解析により、HHV-6A の gH/gL/gQ1/gQ2 複合体は、CD46 に結合するが、HHV-6B のそれは結合しないことが判明した。さらに、CD46 に対する抗体で HHV-6A の感染は阻止できるが、HHV-6B の感

染は阻止できなかった。また、HHV-6A は、CD46 を恒常的に発現させている細胞において、細胞間膜融合を引き起こしたが、HHV-6B においてはその現象は見られなかった<sup>19)</sup>。故に、HHV-6A は、CD46 をレセプターとして使用しているが、HHV-6B は、レセプターとして使用していないか、あるいは使用しているが、主なレセプターは、別に存在することが示唆され、異なったレセプターの認識がバリエーション間の細胞向性の違いに関与している可能性が示唆された。

ウイルスエンベロープより薬剤、Methyl- $\beta$ -cyclodextrin (MCD) を用いてコレステロールを除いたところ、MCD の濃度依存的にウイルスの感受性細胞への侵入は抑制され、さらに HHV-6A が引き起こす細胞間膜融合も同じく MCD の濃度依存的に抑制された<sup>14)</sup>。しかし、ウイルスの細胞への侵入を阻害する濃度の MCD をウイルス粒子に作用させてもウイルスの細胞への結合はほとんど阻止されなかった。以上により、ウイルス粒子エンベロープを構成するコレステロールは、HHV-6 の宿主細胞への侵入過程、特に膜融合過程に重要であることが明らかとなった (図 2)。

## 2. ヘルペスウイルスの出芽と MVB sorting 機構への関与

近年、エンベロープをもつ RNA ウイルスにおける出芽は宿主細胞においてエンドソーム膜における ESCRT

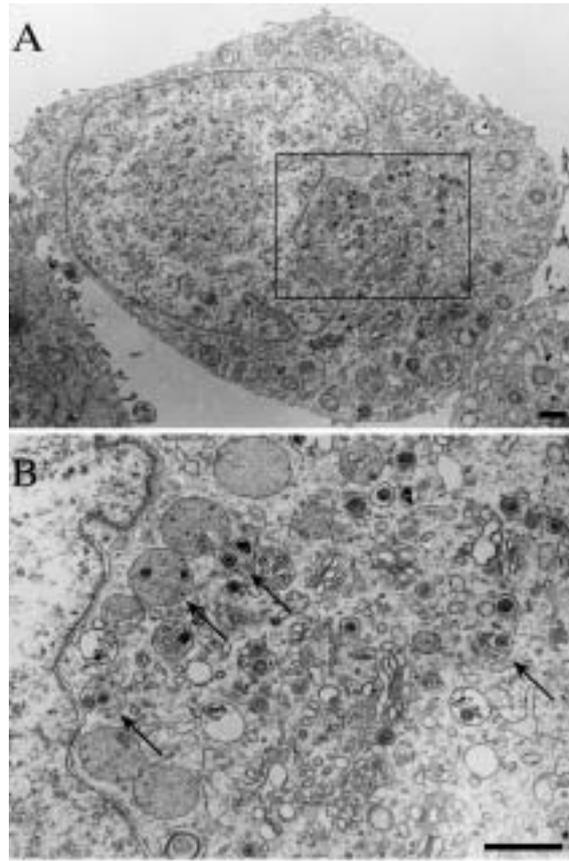


図 3. HHV-6 感染 T 細胞の電顕像

A. HHV-6 感染 T 細胞の核周辺に複雑な膜構造の形成が認められる。□で囲んだ箇所を示す。Scale Bar: 1  $\mu$  m

B. 図 A における□で囲んだ箇所の拡大図。多数の small vesicle を伴った MVB が、核周辺に観察される(矢印)。その MVB は、成熟ウイルス粒子を保持している。

(endosomal sorting complex required for transport) 機構とよばれる multivesicular body (MVB) sorting 機構を利用して行われていることが報告されている。RNA ウイルスでは、ウイルス因子において出芽の機能に重要なアミノ酸モチーフ配列 (L-ドメインモチーフ) が同定されており (PPxY, PT/SAP, YPxL)<sup>21)</sup> に関しては、Nedd4-like E3 ubiquitin ligases, TSG101, Alix/AIP1 等の宿主因子と相互作用することが明らかとなっている<sup>11, 28, 34, 36)</sup>。たいてい、いずれのモチーフをもつウイルスの出芽も、MVB sorting の最終段階 AAA ATPase family である Vps4 の機能に依存的であることが報告されており、ウイルス間で共通して、宿主の MVB sorting 機構を出芽に利用していることが考えられている。

ヘルペスウイルスのヌクレオカプシドは、Golgi, TGN あるいはエンドソーム膜の内腔に出芽するとされていることから、MVB 内に存在する internal small vesicle 形成機構と同じ (MVB sorting) 機構を利用しているのではない

かと考えられた。

最近、ヘルペスウイルス成熟ウイルス粒子形成と ESCRT 機構の関与を解析した論文がいくつか発表された。

### 3. HSV-1 と ESCRT 機構

$\alpha$  ヘルペスウイルスである HSV-1 においてヘルペスウイルス成熟ウイルス粒子形成と ESCRT 機構の関連性に関して解析した二つの報告がある。Vps4 のドミナントネガティブ変異体を発現させた細胞に HSV-1 を感染させると、野生型 Vps4 を発現させた細胞よりも、産生されるウイルス粒子数が減少することが明らかとなった<sup>5)</sup>。また、電子顕微鏡的観察により、ドミナントネガティブ変異体を発現させた細胞における核内および細胞質中のヌクレオカプシド数は、野生型を発現させた細胞と特に違いはなかったが、細胞外の成熟粒子および細胞質内での小胞膜へ出芽しているウイルス粒子はほとんど観察されなかった。故に、彼らは、Vps4 が、細胞質内における HSV-1 の secondary envelopment 過程に関与していることを示唆した。

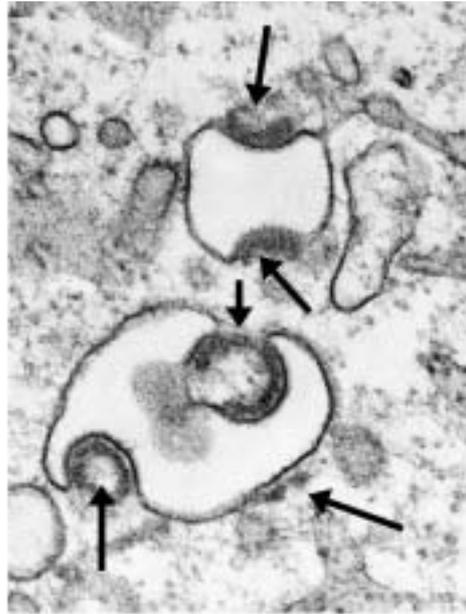


図 4. HHV-6 感染細胞において形成された小胞。

HHV-6 感染細胞において形成された小胞膜にテグメント様物質が凝集している像(矢印)が電顕観察にて見られる。

別のグループは、Vps4 あるいは ESCRT-III の component である Vps24/CHMP3 のドミナントネガティブ変異体の発現は、感染性のある HSV-1 の成熟粒子の形成および細胞外へのウイルスの放出を障害したと報告した<sup>4)</sup>。

ウイルスエンベロープにある糖タンパク質のひとつである glycoprotein B (gB) は、ウイルスの宿主細胞への侵入過程、特にウイルスの細胞への吸着やその後の膜融合過程に重要であることが明らかとなっている。今回、Calistr らは HSV-1gB は、ウイルス粒子形成、特に粒子の出芽にも関与していることを報告し、さらに gB は、HSV-1 感染細胞あるいは gB 単独発現細胞において LAMP-1 と共局在することを示し、また Vps4 ドミナントネガティブ変異体を発現している細胞においては、gB の成熟がうまくおこらないことを示した。HSV-1 gB は、複合型 N 型糖鎖の修飾を受け成熟するが、Vps4 ドミナントネガティブ変異体を発現している細胞では、gB は主に endoplasmic reticulum に局在し、複合型 N 型糖鎖の修飾を受けない、未熟型で存在していた。故に、gB の細胞内輸送および成熟過程にも ESCRT 機構が関与していることを示した。さらに、gB は、ユビキチン化されることが示されたが、ユビキチン変異体を用いた解析により、そのユビキチン化は、エンドサイトーシスや細胞内膜輸送系に重要である 63 番目のリジンが、gB のユビキチン化に必要であることを明らかにした<sup>4)</sup>。MVB sorting は、ある種のユビキチン化タンパク質を積み荷として認識し、エンドソーム膜に輸送した後、エンドソーム膜の内腔側への陥入によって形成される小胞に積み荷

を封入するという細胞内膜輸送系である。gB の cytoplasmic tail を欠損させた場合、ユビキチン化が劇的に減少し、子孫ウイルスの産生が低下したことより、gB の cytoplasmic tail が、その輸送に関与している可能性が示唆された<sup>4)</sup>。

#### 4. HCMV と ESCRT 機構

$\beta$ ヘルペスウイルスである HCMV において、エンベロープ糖タンパク質である glycoprotein H (gH) および gB がウイルス感染細胞内に見られた MVB 内に集積していることが免疫電顕により明らかとなった。さらに HCMV がコードする chemokine receptor homolog である UL33, US27 および US28 も MVB に局在していることが明らかとなった<sup>8,9)</sup>。また Fraile-Ramos らは、電顕観察により MVB 膜に出芽するウイルス粒子や MVB 内部においてもウイルス粒子を観察したと報告した。

その後、彼らは、HCMV において late endosome/MVB のマーカーである CD63 がウイルスエンベロープに取り込まれていることを報告し、エンドソーム膜におけるウイルス出芽の関与を示した<sup>10)</sup>。そこで、彼らは、ESCRT 機構と HCMV 粒子形成との関与を解析した。siRNA によって Tsg101 あるいは ALIX/AIP1 の発現をノックダウンした細胞に HCMV を感染させたが、コントロールに比較してウイルス粒子の産生に差は認められなかった。逆に Vps4A および Vps4B をノックダウンした細胞においては、ウイルス粒子の産生がコントロールに比較して上昇した。これらの結果より、彼らは、ESCRT 機構は、HCMV の secondary

envelopment には関与していないと結論づけた。

### 5. HHV-6 と粒子形成

HHV-6 の粒子形成、成熟過程に関してはその詳細は、不明であった。近年、Torrise ら<sup>31)</sup> は、HHV-6 感染細胞の細胞質に annulate lamellae 構造が新たに形成され、その annulate lamellae あるいは Golgi 複合体の cis 側で HHV-6 の secondary envelopment が起こると報告し、 $\alpha$  ヘルペスウイルスとは異なった所見であることを示唆した。

最近、筆者らは、HHV-6 感染 T 細胞の詳細な電顕観察によってウイルス粒子成熟過程において興味ある知見を得たので紹介する (論文投稿中)。HHV-6 感染細胞では、非感染細胞では見られない複雑な膜構造とそれを囲む複数の compartment が、核周辺に認められた (図 3)。ウイルスの出芽は、その複雑な膜構造の中に見られる trans-Golgi network (TGN) に由来する膜で起こることが判明した。また、その膜をもつ小胞 (TGN 由来の小胞) は、ウイルス感染によって新たに形成されたと考えられるが、ウイルス粒子が出芽しようとしている小胞の膜部分にテグメント様タンパク質の凝集が認められた (図 4)。この小胞膜は、TGN のマーカーである AP-1 および MVB のマーカーである CD63 が陽性であったことより、TGN および late endosome の両方の膜の性質を合わせもっているのではないかと考えられた。さらに膜構造の周辺に新たに形成された複数の compartment には、CD63 陽性の internal small vesicle が多数観察されたことよりその compartment は、MVB であると判明した。興味あることにウイルス感染細胞内で新たに形成された MVB 内には多数の internal small vesicle と共に成熟ウイルス粒子も認められた。

一般的に細胞内における MVB の膜は、plasma membrane の膜と融合することにより、MVB 内の small vesicles を細胞外へ放出することが報告されている (放出された small vesicles は、exosomes と呼ばれている)<sup>7, 22, 27, 33)</sup>。現在、この経路は、exosomal release pathway と呼ばれている。HHV-6 感染細胞内の成熟ウイルス粒子もこの経路を利用して small vesicles と共に細胞外へ放出されている像が電顕観察にて確認された。以上の結果により、ウイルス感染 T 細胞内においては、複雑な膜構造が新たに形成され、その中の TGN 由来の小胞で secondary envelopment は起こり、ウイルスは、成熟ウイルス粒子となる。やがてその小胞は MVB と変化し、成熟ウイルス粒子は、MVB 内の small vesicles とともに細胞外へ放出されることが、我々の観察より判明した。

HHV-6 感染細胞で形成された exosomes は、ウイルス感染においてどのような役割をしているのだろうか? 近年、exosomes による T 細胞活性化の論文が散見される<sup>24, 26, 29, 35)</sup>。HHV-6 が活性化された T 細胞にて増殖できることを考慮すると、HHV-6 感染細胞から放出された exosomes は、T 細胞

を活性化し、HHV-6 感染および増殖をアシストするのかもしれない。また、HHV-6 は、特に T cell line においては、cell-to-cell 感染によって細胞間を伝播する傾向にある。成熟ウイルス粒子と共に放出された多数の exosomes には、細胞因子のみならず、ウイルス抗原 (特に糖タンパク質) も検出されたことより、細胞外へ放出された exosomes は、HHV-6 感染細胞から非感染細胞へのウイルスの cell-to-cell 伝播をより容易にするための virological synapse 形成に役割を果たしている可能性も考えられる。

### 6. おわりに

今まで明らかにされてきたヘルペスウイルスの感染機構、特に、HHV-6 の宿主細胞への侵入過程、そして HSV、HCMV および HHV-6 のウイルス粒子の成熟過程に関して概説した。出芽に関しては、最近、報告された HSV 感染と MVB 機構との関連性を中心に概説した。ヘルペスウイルスは、宿主細胞に感染することによって宿主の膜構造を変化させ、その宿主機構を巧妙に利用することにより、ウイルス粒子を成熟させる。本機構に関与する宿主因子の同定やその機構解明はウイルス学のみならず細胞生物学における新たな現象の発見やその機構解明に繋がると考えられ、非常に興味深い。今後のさらなる解析が待たれる。

本稿で紹介した筆者らの研究 (HHV-6 と粒子形成) は、大阪大学大学院医学系研究科・機能形態学講座、内山安男先生、小池正人先生との共同研究で行われた。

### 文献

- 1) Akkapaiboon, P., Y. Mori, T. Sadaoka, S. Yonemoto, and K. Yamanishi. Intracellular processing of human herpesvirus 6 glycoproteins Q1 and Q2 into tetrameric complexes expressed on the viral envelope. *J Virol* 78:7969-83. 2004.
- 2) Avitabile, E., S. Di Gaeta, M. R. Torrisi, P. L. Ward, B. Roizman, and G. Campadelli-Fiume. Redistribution of microtubules and Golgi apparatus in herpes simplex virus-infected cells and their role in viral exocytosis. *J Virol* 69:7472-82. 1995.
- 3) Beitia Ortiz de Zarate, I., K. Kaelin, and F. Rozenberg. Effects of mutations in the cytoplasmic domain of herpes simplex virus type 1 glycoprotein B on intracellular transport and infectivity. *J Virol* 78:1540-51. 2004.
- 4) Calistri, A., P. Sette, C. Salata, E. Cancellotti, C. Forghieri, A. Comin, H. Gottlinger, G. Campadelli-Fiume, G. Palu, and C. Parolin. Intracellular trafficking and maturation of herpes simplex virus type 1 gB and virus egress require functional biogenesis of multivesicular bodies. *J Virol* 81:11468-78. 2007.
- 5) Crump, C. M., C. Yates, and T. Minson. Herpes simplex virus type 1 cytoplasmic envelopment requires functional Vps4. *J Virol* 81:7380-7. 2007.
- 6) Farnsworth, A., T. W. Wisner, M. Webb, R. Roller, G. Cohen, R. Eisenberg, and D. C. Johnson. Herpes sim-

- plex virus glycoproteins gB and gH function in fusion between the virion envelope and the outer nuclear membrane. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:10187-92. 2007.
- 7) Fevrier, B., and G. Raposo. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol* 16:415-21. 2004.
  - 8) Fraile-Ramos, A., T. N. Kledal, A. Pelchen-Matthews, K. Bowers, T. W. Schwartz, and M. Marsh. The human cytomegalovirus US28 protein is located in endocytic vesicles and undergoes constitutive endocytosis and recycling. *Mol Biol Cell* 12:1737-49. 2001.
  - 9) Fraile-Ramos, A., A. Pelchen-Matthews, T. N. Kledal, H. Browne, T. W. Schwartz, and M. Marsh. Localization of HCMV UL33 and US27 in endocytic compartments and viral membranes. *Traffic* 3:218-32. 2002.
  - 10) Fraile-Ramos, A., A. Pelchen-Matthews, C. Risco, M. T. Rejas, V. C. Emery, A. F. Hassan-Walker, M. Esteban, and M. Marsh. The ESCRT machinery is not required for human cytomegalovirus envelopment. *Cell Microbiol*. 2007.
  - 11) Garrus, J. E., U. K. von Schwedler, O. W. Pornillos, S. G. Morham, K. H. Zavitz, H. E. Wang, D. A. Wettstein, K. M. Stray, M. Cote, R. L. Rich, D. G. Myszka, and W. I. Sundquist. Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding. *Cell* 107:55-65. 2001.
  - 12) Harley, C. A., A. Dasgupta, and D. W. Wilson. Characterization of herpes simplex virus-containing organelles by subcellular fractionation: role for organelle acidification in assembly of infectious particles. *J Virol* 75:1236-51. 2001.
  - 13) Homman-Loudiyi, M., K. Hultenby, W. Britt, and C. Soderberg-Naucler. Envelopment of human cytomegalovirus occurs by budding into Golgi-derived vacuole compartments positive for gB, Rab 3, transgolgi network 46, and mannosidase II. *J Virol* 77:3191-203. 2003.
  - 14) Huang, H., Y. Li, T. Sadaoka, H. Tang, T. Yamamoto, K. Yamanishi, and Y. Mori. Human herpesvirus 6 envelope cholesterol is required for virus entry. *J Gen Virol* 87:277-85. 2006.
  - 15) Johnson, D. C., and M. T. Huber. Directed egress of animal viruses promotes cell-to-cell spread. *J Virol* 76:1-8. 2002.
  - 16) Leuzinger, H., U. Ziegler, E. M. Schraner, C. Fraefel, D. L. Glauser, I. Heid, M. Ackermann, M. Mueller, and P. Wild. Herpes simplex virus 1 envelopment follows two diverse pathways. *J Virol* 79:13047-59. 2005.
  - 17) Mettenleiter, T. C. 2002. Herpesvirus assembly and egress. *J Virol* 76:1537-47.
  - 18) Mettenleiter, T. C., B. G. Klupp, and H. Granzow. Herpesvirus assembly: a tale of two membranes. *Curr Opin Microbiol* 9:423-9. 2006.
  - 19) Mori, Y., T. Seya, H. L. Huang, P. Akkapaiboon, P. Dhepakson, and K. Yamanishi. Human herpesvirus 6 variant A but not variant B induces fusion from without in a variety of human cells through a human herpesvirus 6 entry receptor, CD46. *J Virol* 76:6750-61. 2002.
  - 20) Mori, Y., X. Yang, P. Akkapaiboon, T. Okuno, and K. Yamanishi. Human herpesvirus 6 variant A glycoprotein H-glycoprotein L-glycoprotein Q complex associates with human CD46. *J Virol* 77:4992-9. 2003.
  - 21) Morita, E., and W. I. Sundquist. 2004. Retrovirus budding. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20:395-425.
  - 22) Pelchen-Matthews, A., G. Raposo, and M. Marsh. Endosomes, exosomes and Trojan viruses. *Trends Microbiol* 12:310-6. 2004.
  - 23) Radsak, K., M. Eickmann, T. Mockenhaupt, E. Bogner, H. Kern, A. Eis-Hubinger, and M. Reschke. Retrieval of human cytomegalovirus glycoprotein B from the infected cell surface for virus envelopment. *Arch Virol* 141:557-72. 1996.
  - 24) Raposo, G., H. W. Nijman, W. Stoorvogel, R. Liejendekker, C. V. Harding, C. J. Melief, and H. J. Geuze. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 183:1161-72. 1996.
  - 25) Sanchez, V., K. D. Greis, E. Sztul, and W. J. Britt. Accumulation of virion tegument and envelope proteins in a stable cytoplasmic compartment during human cytomegalovirus replication: characterization of a potential site of virus assembly. *J Virol* 74:975-86. 2000.
  - 26) Segura, E., C. Nicco, B. Lombard, P. Veron, G. Raposo, F. Batteux, S. Amigorena, and C. Thery. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. *Blood* 106:216-23. 2005.
  - 27) Stoorvogel, W., M. J. Kleijmeer, H. J. Geuze, and G. Raposo. The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic* 3:321-30. 2002.
  - 28) Strack, B., A. Calistri, S. Craig, E. Popova, and H. G. Gottlinger. AIP1/ALIX is a binding partner for HIV-1 p6 and EIAV p9 functioning in virus budding. *Cell* 114:689-99. 2003.
  - 29) Thery, C., L. Duban, E. Segura, P. Veron, O. Lantz, and S. Amigorena. Indirect activation of naive CD4+ T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nat Immunol* 3:1156-62. 2002.
  - 30) Tooze, J., M. Hollinshead, B. Reis, K. Radsak, and H. Kern. Progeny vaccinia and human cytomegalovirus particles utilize early endosomal cisternae for their envelopes. *Eur J Cell Biol* 60:163-78. 1993.
  - 31) Torrisi, M. R., M. Gentile, G. Cardinali, M. Cirone, C. Zompetta, L. V. Lotti, L. Frati, and A. Faggioni. Intracellular transport and maturation pathway of human herpesvirus 6. *Virology* 257:460-71. 1999.
  - 32) Turcotte, S., J. Letellier, and R. Lippe. Herpes simplex virus type 1 capsids transit by the trans-Golgi network, where viral glycoproteins accumulate independently of capsid egress. *J Virol* 79:8847-60. 2005.
  - 33) van Niel, G., I. Porto-Carreiro, S. Simoes, and G. Raposo. Exosomes: a common pathway for a specialized function. *J Biochem (Tokyo)* 140:13-21. 2006.
  - 34) VerPlank, L., F. Bouamr, T. J. LaGrassa, B. Agresta, A. Kikonyogo, J. Leis, and C. A. Carter. Tsg101, a homologue of ubiquitin-conjugating (E2) enzymes, binds the L domain in HIV type 1 Pr55(Gag). *Proc Natl Acad Sci*

- U S A 98:7724-9. 2001.
- 35) Vincent-Schneider, H., P. Stumptner-Cuvelette, D. Lankar, S. Pain, G. Raposo, P. Benaroch, and C. Bonnerot. Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells. *Int Immunol* 14:713-22. 2002.
- 36) Yasuda, J., E. Hunter, M. Nakao, and H. Shida. Functional involvement of a novel Nedd4-like ubiquitin ligase on retrovirus budding. *EMBO Rep* 3:636-40. 2002.
- 37) Zhu, Z., M. D. Gershon, Y. Hao, R. T. Ambron, C. A. Gabel, and A. A. Gershon. Envelopment of varicella-zoster virus: targeting of viral glycoproteins to the trans-Golgi network. *J Virol* 69:7951-9. 1995.

## **The mechanisms of herpesvirus infection –virus entry into host cells and virus assembly.**

**Yasuko MORI**

Laboratory of Virology and Vaccinology, National Institute of Biomedical Innovation  
7-6-8, Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka, 567-0085, Japan  
ymori@nibio.go.jp

Herpesvirus entry into host cells occurs by recognition of specific cellular receptor(s) with viral envelope glycoproteins. Nucleocapsids formed in nucleus are released into cytoplasm, and acquire tegument proteins there. Nucleocapsids with tegument proteins bud into intracellular vesicles formed in infected cells, which are thought to be derived from Golgi apparatus, trans-Golgi network or endosomes. However, the precise mechanisms involved in virus final envelopment are poorly understood. Here, I review our current knowledge regarding herpesvirus entry into host cells and virus assembly.