

# 1. 風疹ウイルスの生活環

坂田 真史, 森 嘉生

国立感染症研究所ウイルス第三部

風疹の原因である風疹ウイルスはトガウイルス科ルビウイルス属に属する唯一のウイルスであり、一本のプラス鎖 RNA をゲノムに持つ。自然宿主はヒトに限定され、一般的には乳幼児に好発する。風疹ウイルス感染症の重大な問題は、妊娠初期に罹患した場合、経胎盤感染して児に白内障、難聴や心疾患を伴う先天性風疹症候群 (CRS) を発症させることである。本稿では、これまでに明らかにされた風疹ウイルスの侵入から出芽までの生活環を、近縁のアルファウイルス属ウイルスとの比較を交えながら解説する。さらにキャプシドタンパク質の多面的な機能についても解説する。

## <はじめに>

風疹は少なくとも 1800 年代にドイツ人医師の de Bergen が *Rötheln* という呼称で存在を確認しており、麻疹に似た症状を示すことから「German measles」として呼ばれるようになった<sup>1)</sup>。1866 年に、Veale がより耳に馴染む名として「*Rubella*」を提唱し<sup>2)</sup>、現在に至る。1941 年にオーストラリア人の眼科医、Gregg が風疹の流行に伴って白内障、心臓形成不全の乳幼児が特異に増加することに気が付き、妊婦の風疹罹患が児の先天性障害の原因になることを報告している<sup>3)</sup>。この報告が元になり、後に風疹先天性症候群 (CRS) の存在が明らかとなった<sup>4)</sup>。1962 年に 2 つの研究グループが風疹ウイルスの分離に成功している<sup>5, 6)</sup>。これらウイルス分離の成功と 1963-65 年にかけて発生した世界的な風疹の大流行が発端となって、1960 年の後半から 1970 年にかけて、ヨーロッパ、アメリカ、日本でワクチンの開発研究が精力的に行われた<sup>7-10)</sup>。その結果、安全で効果の高い弱毒生ワクチンが樹立され、現在では風疹はワクチン予防疾患の一つとして認識されている。しかし、未だワクチンの導入されていない国々がア

リカやアジアを中心に数多く存在し、また、ワクチンの定期接種が導入された先進国であっても、風疹流行とそれに伴う CRS 児の出生が報告されるなど多くの課題が残されている<sup>11-13)</sup>。

風疹は乳幼児に好発する感染症であり、発熱、発疹、リンパ節腫脹を主症状とする。発症後は 2~3 日で軽快することから、一般的に症状の軽い感染症だと考えられている<sup>14, 15)</sup>。しかし、風疹が単なる小児感染症ではないことを 2012-13 年に発生した日本の大流行が示している。この流行では、東京や大阪等の都市部を中心にして、1 万 5000 人を越える風疹の患者とそれに伴って 40 名以上の CRS 児の出生が報告されている<sup>13)</sup>。風疹患者報告数の 8 割弱が男性、残りの 2 割強が女性であった。特に男性では 20-40 代、女性では 20 代の成人が患者報告の中心的な年齢であった。このような患者の分布は、ワクチン定期接種制度の変遷と深く関連していると考えられている<sup>16)</sup>。風疹ワクチンの定期接種は 1977 年~1994 年まで中学生女子を対象に集団接種として開始された。対象となった年齢群の女性は高い抗体保有率を保持しているが、同年代の男性の抗体保有率は明らかに低くなっている。予防接種法の改正に伴い 1995 年からは生後 12-90 ヶ月の男女個別接種、義務接種から努力義務接種に変わった。その際、時限措置として中学生男女への接種が行われたが、接種率が激減している<sup>17)</sup>。2012-13 年の流行は、これらのワクチン接種率の低い層が中心になっていた<sup>13, 16)</sup>。2006 年からは予防接種法改正に伴って、麻しん風しん混合ワクチンの定期 2 回接種 (第 1 期 満 1 歳~2 歳未満, 第 2 期 就学前の 1 年間) が導入された。導入後の年代では高いワクチンの接種率を維持しており、この年齢層の患者は非常に少なかった<sup>16)</sup>。成人層

## 連絡先

〒 208-0011

東京都武蔵村山市学園 4-7-1

国立感染症研究所 村山庁舎

TEL: 042-561-0771

FAX: 042-561-1960

E-mail: yoshiom@nih.go.jp

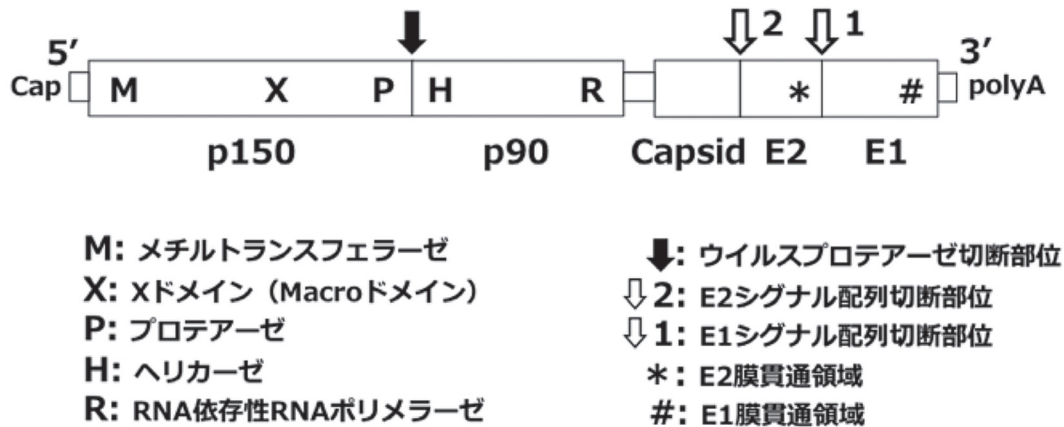


図1. 風疹ウイルスのゲノム構造

の抗体保有率は十分に改善されていないため、今後も風疹流行の発生が危惧されている。

風疹ウイルスに近縁のアルファウイルス属のウイルス（以後、アルファウイルスとする）は培養細胞に感染させると強い細胞障害性を示しながら急速に増殖する。対照的に風疹ウイルスは培養細胞へ感染させても殆ど細胞障害性を示さず穏やかに増殖し、容易に持続感染を引き起こす<sup>18-21</sup>。CRS患者においても、激しい細胞障害性を示さずウイルスが持続的に感染していることから<sup>22</sup>、これらの特徴は病態と関連している可能性がある。しかし、CRSを容易に再現出来る動物モデルが存在しないこと等から、ウイルス感染によってどのようにしてCRSが発症するのか殆ど分っていない。その一方、近年は受容体の同定<sup>23</sup>、クライオ電子顕微鏡法によるウイルス粒子の構造解析<sup>24</sup>、キャプシドタンパク質（Capsid）やスパイクタンパク質（E1）の結晶構造解析<sup>25, 26</sup>が相次いで報告されており、基礎研究の進捗が著しい。本稿では、風疹ウイルスの侵入から粒子形成までの生活環について概要を解説する。特に風疹ウイルスの特徴である穏やかな増殖性、低い細胞障害性や持続感染との関連が示唆されているCapsidの多面的な機能について解説する。

#### <風疹ウイルスのゲノム構造>

風疹の原因である風疹ウイルスはトガウイルス科（*Togaviridae*）ルビウイルス属（*Rubivirus*）に属する唯一のウイルスであり、直径約70nmのエンベロープを持つウイルスである。ゲノムは5'末端にキャップ構造、3'末端にポリAが付加された約10kbのmRNA構造を取っている。ゲノムのGC含量は69.5%に達し、これまでに見つかっているウイルスの中で最も高い<sup>27</sup>。トガウイルス科には他にアルファウイルス属が分類されており、シンドビスウイルス、セムリキフォレストウイルスやチクングニアウ

ルス等が属している<sup>28</sup>。両者にはゲノム構造に類似性があり、ゲノム複製機構も共通する特徴があると考えられている。しかし、アルファウイルス属の自然宿主が昆虫、魚からヒトまで幅広い動物種であるのに対して、風疹ウイルスの自然宿主はヒトに限定される点で大きく異なる。また、血清学的にも2属に交差性はない。風疹ウイルスの血清型は1種類しかないが、遺伝学的には2つのクレードと少なくとも13遺伝子型に分類されている<sup>29</sup>。

図1に風疹ウイルスのゲノム構造を示す。ゲノムの5'と3'末端にはそれぞれゲノムRNAとゲノムに相補的なマイナス鎖RNA（cRNA）の複製基点になる非翻訳領域が位置しており、その間に2つのopen reading frame（ORF）が存在する。5'側のORFにはゲノム複製を担う非構造タンパク質群（p150, p90）、3'側のORFにはウイルス粒子を構成する構造タンパク質群（Capsid, E2, E1）がそれぞれ前駆体のポリプロテインとしてコードされている。非構造タンパク質群はゲノムから翻訳され、p150領域に位置するプロテアーゼによってp150とp90へ開裂する。この開裂はウイルス増殖に必須であり<sup>30, 31</sup>、加えて開裂によってゲノムとcRNAの転写比率を制御していると考えられている<sup>32</sup>。p150とp90には、幾つかのRNAウイルスに保存されたモチーフが存在する。p150のアミノ末端側に位置するメチルトランスフェラーゼモチーフは、ゲノムの5'末端へキャップ構造を付加すると考えられている<sup>33</sup>。また、p150にはMacroドメイン（Xドメイン）が存在する。このドメインは広範な生物種（脊椎動物、細菌、一本鎖プラス鎖RNAウイルスの一部）で認められ、ADP-Riboseとの結合活性を持つとされるが、風疹ウイルスにおいてはその生物学的な意義は十分に分っていない<sup>34</sup>。p90には、RNAヘリカーゼおよびRNA依存性RNAポリメラーゼのモチーフが位置している<sup>35, 36</sup>。これら2つの非構造タンパク質とゲノムによってゲノム複製複合体が形成され、ゲ

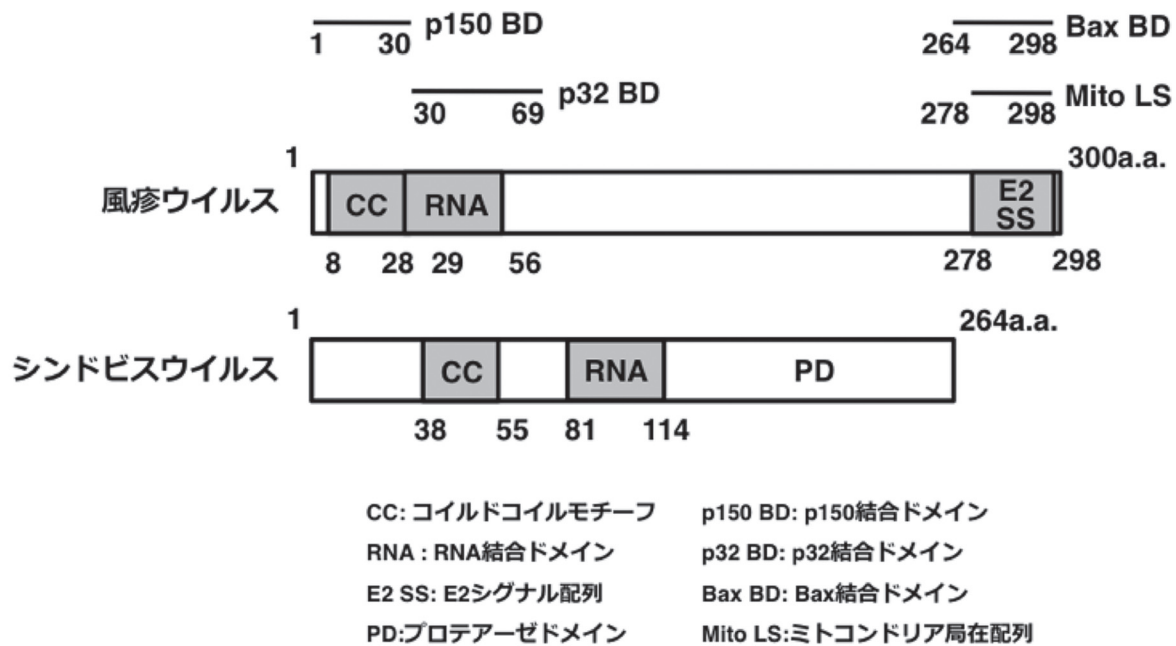


図2. Capsid のモチーフ/ドメイン構造

ノム複製が起きる。

構造タンパク質群は cRNA 上の Junction-UTR (非構造タンパク質群と構造タンパク質群の ORF を繋ぐ非翻訳領域) に位置するサブゲノムプロモーターから転写されたサブゲノム RNA から Capsid-E2-E1 の順番に並ぶポリプロテインとして翻訳される。宿主細胞のシグナルペプチダーゼによって Capsid, E2, E1 へ切断されて、粒子形成を担う<sup>37, 38)</sup>。Capsid は可動性の高いアミノ末端側とキャプシド構造の骨格になるカルボキシル末端に分かれている<sup>25)</sup>。アミノ末端側のドメイン構造はアルファウイルスの Capsid と類似しているが<sup>39-41)</sup>、カルボキシル側のドメインは両者で立体構造が大きく異なることが明らかとなっており、Capsid-E2 間の切断様式も異なる<sup>25, 42)</sup>。エンベロープタンパク質である E2 は粒子形成や出芽に重要な役割を担っているが<sup>43)</sup>、細胞侵入における機能は明らかになっていない。もう一つのエンベロープタンパク質である E1 は受容体との結合や膜融合を担っており、アルファウイルスの E1 やフラビウイルスの E と立体構造が類似している<sup>26, 44, 45)</sup>。

### <侵入>

風疹ウイルスはエンベロープ上の E1 と受容体の結合が引き金になり、クラスリン依存性のエンドサイトーシスを介して細胞内へ侵入する<sup>23, 46, 47)</sup> (図3)。エンドソーム内の低 pH により、E1 の構造変化が起こり、ウイルスエンベロープと細胞膜の融合が生じる<sup>48)</sup>。更に Capsid の構造変化を伴って、ヌクレオキャプシドからゲノムが細胞質へ

放出されると考えられている。近年、I 型膜タンパク質の myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) が風疹ウイルスの受容体として同定された<sup>23)</sup>。MOG は中枢神経系に高発現している膜タンパク質であるが、風疹ウイルスの侵入経路となる気道上皮系細胞や感染初期の増殖の場になると考えられているリンパ系細胞では殆ど発現していない。したがって、これらの細胞では未知の受容体分子を利用していると考えられる。

### <ゲノム複製>

全てのプラス鎖 RNA ウイルスが宿主細胞のオルガネラ膜を利用してゲノム複製を行うのと同様に、風疹ウイルスも宿主の膜構造上でゲノムを複製していると考えられている。感染細胞内では細胞質側から内腔に向かって陥入した約 60nm の小胞が多数集合した構造体 (Cytopathic vacuoles type-I: CPV-I) が小胞体、ゴルジ体やミトコンドリア近傍に観察される<sup>49, 50)</sup> (図3)。小胞内にはゲノム複製に関与する p150 やゲノム複製の中間体である二本鎖 RNA が共局在することから、CPV-I がゲノム複製の場だと考えられている<sup>51, 52)</sup>。また、CPV-I はエンドソームやライソソームのマーカーを保有しており、風疹ウイルスがエンドソームやライソソーム膜を利用していることが示唆されている<sup>53)</sup>。アルファウイルスの感染においても CPV-I が形成されることが報告されており<sup>54)</sup>、ゲノム複製複合体の形成過程も類似すると考えられている。アルファウイルスにおいては、感染初期のゲノム複製複合体は主に形質膜に局在し、電子顕微鏡では CPV-I に認められる小胞が

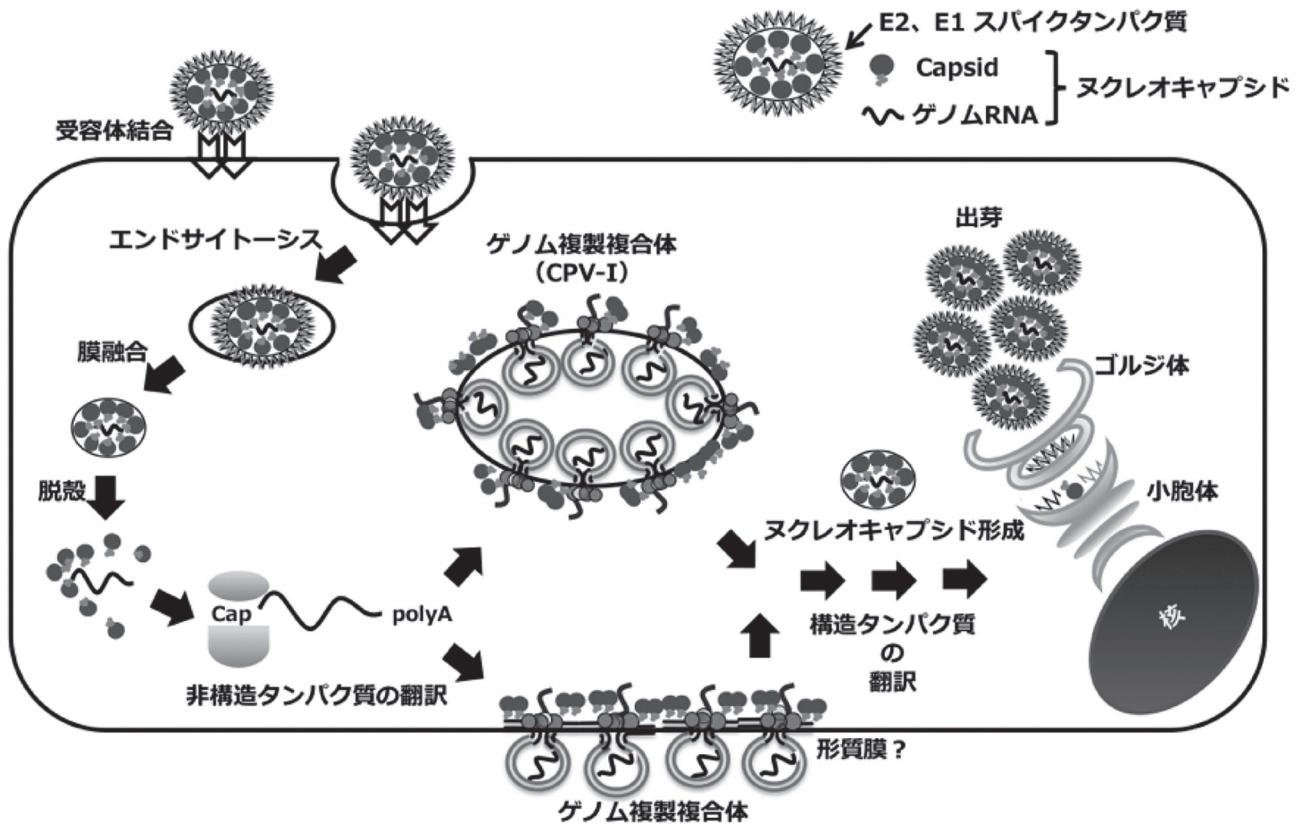


図3. 風疹ウイルスの侵入から出芽

細胞の外へ突出している像が観察されている。形質膜に形成された小胞はごく短時間しか観察されず、早期にエンドサイトーシスによって細胞内へ取り込まれて、最終的にCPV-Iが形成されることが明らかになっている<sup>55-57)</sup>。風疹ウイルスにおいても、感染初期にp150が形質膜に局在することが明らかになっている<sup>40)</sup>。更に、我々は二本鎖RNAが形質膜に局在することを観察しており(未発表データ)、風疹ウイルスにおいても形質膜でゲノム複製が開始されることが示唆され、トガウイルス科ウイルスに共通した特徴であると考えられる。

#### <出芽>

風疹ウイルスの出芽はゴルジ体または形質膜で起こる<sup>58, 59)</sup>。エンベロープタンパク質E2およびE1の局在がゴルジ体に集中し、殆ど形質膜に分布しないこと<sup>60, 61)</sup>、形質膜からの出芽が感染後期にしか観察されないこと<sup>59)</sup>、エンベロープの脂質構成が形質膜より細胞内オルガネラの脂質膜に近いことから<sup>62)</sup>、出芽の中心的な場はゴルジ体であると考えられている。E2はカルボキシル末端に位置する膜貫通領域とそれに続く細胞質部位によってゴルジ体へ輸送される<sup>63-65)</sup>。一方、E1を単独で発現させると小胞体に局在するが<sup>66)</sup>、E1とE2が同時に存在すると、小胞

体で速やかにヘテロダイマーを形成し、E2の移行に伴ってE1もゴルジ体に局在するようになる<sup>60)</sup>。Capsidはアミノ末端側にRNA結合部位を持ち、ゲノムRNAと会合してヌクレオキャプシドを形成する<sup>39)</sup>。ヌクレオキャプシドとE2とE1がゴルジ体で会合して粒子を形成すると考えられている<sup>25, 60)</sup>(図3)。また、E2の開裂に伴いCapsidのカルボキシル末端にシグナル配列が残存して膜親性を示すが、この配列も粒子形成に関与している<sup>38, 65, 67)</sup>。CapsidもE2に付随してゴルジ体へ集積することから<sup>43)</sup>、構造タンパク質のゴルジ体への蓄積はE2の輸送を中心にして起きていると考えられている。アルファウイルスの場合、Capsid-E2間はCapsidがコードするプロテアーゼによって切断されるため、シグナル配列を持たず(図2)、切断後のCapsidは細胞質に散在する<sup>68)</sup>。E2とE1は形質膜まで輸送され、出芽は形質膜で起こる<sup>69-72)</sup>。風疹ウイルスの粒子形成の過程はアルファウイルスのそれと大きく異なるようである。

#### < Capsid の非構造的機能 >

Capsidにはヌクレオキャプシドの形成に加えて、宿主因子と相互作用して翻訳やアポトーシスを抑制する機構やゲノム複製の促進や調整を担う等、様々な機能(本稿では

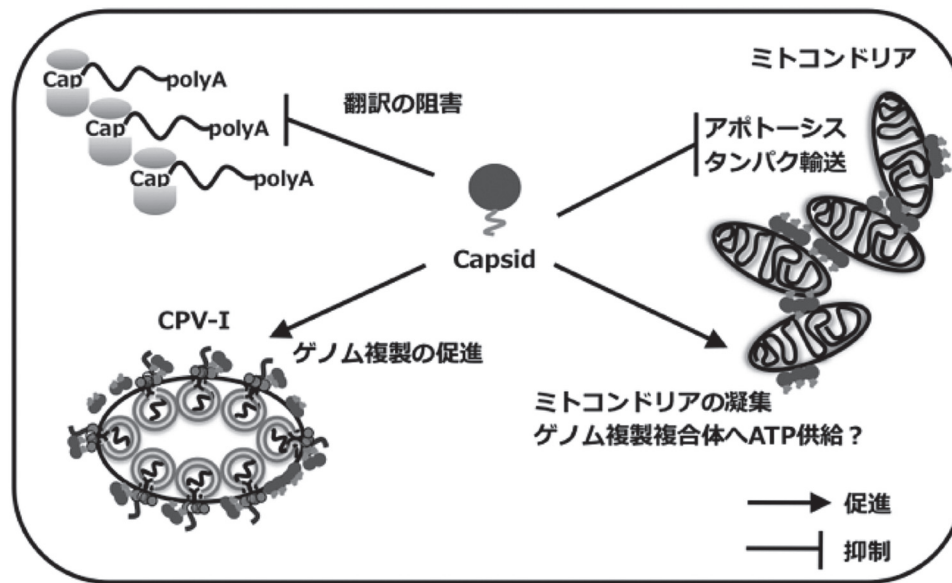


図 4. Capsid の非構造的機能

Capsid の非構造的機能とする) があることが明らかになってきている (図 4). Capsid は宿主のポリ A 結合タンパク質 (PABP) と結合して, 感染細胞の翻訳系を阻害することが報告されている<sup>73)</sup>. また, 風疹ウイルス感染細胞ではミトコンドリアの凝集や膜構造の変化が特徴的に認められるが, Capsid はカルボキシル末端を介してミトコンドリア膜に局在することが明らかになっている<sup>74-76)</sup>. Capsid はアポトーシス促進因子 Bcl-2 ファミリーに分類される Bax と特異的に複合体を形成し, アポトーシス経路を阻害する<sup>74)</sup>. また, 二本鎖 RNA に誘導される IRF3 依存性のアポトーシスも抑制する<sup>77)</sup>. アポトーシスの誘導にはミトコンドリアへのタンパク質輸送が重要であるが, Capsid はこの輸送も阻害する<sup>78, 79)</sup>. 更に, ミトコンドリアのマトリックスタンパク質であり, ARF によって誘導されるアポトーシスの主要な介在分子である p32 とも結合することが報告されており, Capsid によるアポトーシスの抑制は様々な経路を介しているものと考えられる<sup>80, 81)</sup>. これら一連のアポトーシスの抑制機構は他のウイルスと比較して遅く穏やかな増殖を示す風疹ウイルスの感染戦略にとって重要な機能だと考えられる. また, p32 との結合はミトコンドリアの凝集を促進するが, この現象の生物学的意義は明らかになっていない. しかし, ゲノム複製の場と考えられる CPV-I が凝集したミトコンドリアの近傍に観察されることから, 相互作用によってゲノム複製複合体への ATP 供給に有利な環境形成を担っていることが示唆されている<sup>49, 50, 76, 81, 82)</sup>.

構造タンパク質を欠損させたサブゲノムレプリコンがゲノム複製を再現できることから, 構造タンパク質はゲノム

複製には必須ではない. しかし, Capsid はゲノムとサブゲノム RNA の転写比率を調節する等, ゲノム複製の促進に深く関与していることが明らかとなってきている<sup>83-85)</sup>. Capsid はアミノ末端に Coiled-coil 構造のモチーフが予測されている<sup>40)</sup> (図 2). このモチーフを介した Capsid の多量体形成は Capsid-p150 の相互作用に重要である. Capsid-p150 の相互作用が弱い, 或は無くなる置換を導入した変異 Capsid をコードするウイルスでは遺伝子発現とそれに伴ってウイルス産生が低下することから, Capsid-p150 の相互作用は効率の良いゲノム複製に必須であることが明らかになっている<sup>40)</sup>. アルファウイルスの Capsid にも風疹ウイルスと同様に Coiled-coil モチーフが予測されている<sup>41, 86)</sup> (図 2). アルファウイルスの Coiled-coil 構造は Capsid の二量体を安定させ, ゲノムとの相互作用を促進させる<sup>41, 86-88)</sup>. アルファウイルスではゲノム RNA が粒子形成に必須であるが, 風疹ウイルスの粒子は構造タンパク質群の発現だけで効率的に形成される<sup>89)</sup>. 更に Coiled-coil モチーフを欠いた Capsid でも野生型と同等に粒子が産生されることから<sup>40)</sup>, アルファウイルスと風疹ウイルスでは Coiled-coil モチーフの役割が異なることが示唆される.

Capsid-p150 の相互作用によってゲノム複製が促進される分子機構は未解明である. しかし, アルファルファモザイクウイルス, フラビウイルス, ノロウイルス, コロナウイルスやアルファウイルスなど植物から動物まで多くのプラス鎖 RNA ウイルスのキャプシドタンパク質がゲノム複製を調節, 促進することが近年報告されている<sup>90)</sup>. キャプシドタンパク質によるゲノム複製の促進機構はプラス鎖

RNA ウイルスに保存されている特徴なのかもしれない。

巨大なゲノムを持つ DNA ウイルスや一部の RNA ウイルスと異なり、多くのプラス鎖 RNA ウイルスのゲノムは小さく、風疹ウイルスのゲノムには僅か5つの遺伝子しかコードされていない。風疹ウイルスの Capsid が示す多様な非構造的機能は、一つの遺伝子に多くの機能を持たせることでゲノムをコンパクトに保つウイルスの進化戦略を反映しているのかもしれない。風疹ウイルスの Capsid が持つ非構造的機能の解明は、プラス鎖 RNA ウイルスに共通した進化戦略を理解するための手掛かりになると我々は考えている。

### ＜おわりに＞

世界保健機構 (WHO) は風疹および CRS の排除 (適切なサーベイランス制度の下、土着株による感染が1年以上確認されないこと) を目的に風疹含有ワクチンの定期接種導入を加盟国に提言している<sup>91)</sup>。2020年までに WHO の6地域のうち少なくとも5地域で麻疹と風疹を排除する目標を掲げている<sup>92)</sup>。日本でも2014年に「風しんに関する特定感染症予防指針」が制定されており、早期に先天性風しん症候群の発生をなくすとともに、2020年度までに風疹の排除を達成することを目標としている。今後はより一層のワクチン接種の徹底とサーベイランスが重要になると考えられる。基礎研究の分野でも風疹ウイルスの自然宿主がヒトに限定される原因や病原性の発現機構の解明等、多くの課題が残っている。こうしたウイルス性状の理解は抗ウイルス薬の開発、風疹に罹患した妊婦や CRS の治療方法の確立に繋がるのが期待される。特に CRS 発症機序の解明は、最も重要な課題の一つであると考えられる。

### ＜参考文献＞

- 1) Forbes, J.A., Rubella: historical aspects. *Am J Dis Child*, 1969. **118**(1): p. 5-11.
- 2) Veale, H., History of an epidemic of Rtheln with observations on its pathology. *Edinb Med J*, 1866. **12**: p. 404-414.
- 3) Gregg, N.M., Congenital Cataract Following German Measles in the Mother. *Trans Ophthalmol Soc Aust*, 1941. **3**: p. 35-46.
- 4) Wesselhoeft, C., Rubella (German measles). *N Engl J Med*, 1947. **236**(25): p. 943; passim.
- 5) Parkman, P.D., E.L. Buescher, and M.S. Artenstein, Recovery of rubella virus from army recruits. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1962. **111**: p. 225-30.
- 6) Weller, T.H. and F.A. Neva, Propagation in Tissue Culture of Cytopathic Agents from Patients with Rubella-Like Illness. *Experimental Biology and Medicine*, 1962. **111**(1): p. 215-225.
- 7) Buynak, E.B., M.R. Hilleman, R.E. Weibel, J. Stokes, and Jr, Live attenuated rubella virus vaccines prepared in duck embryo cell culture: I. development and clinical testing. *JAMA*, 1968. **204**(3): p. 195-200.
- 8) Peetermans, J. and C. Huygelen, Attenuation of rubella virus by serial passage in primary rabbit kidney cell cultures. I. Growth characteristics in vitro and production of experimental vaccines at different passage levels. *Arch Gesamte Virusforsch*, 1967. **21**(2): p. 133-43.
- 9) Plotkin, S.A., J. Farquhar, M. Katz, and T.H. Ingalls, A new attenuated rubella virus grown in human fibroblasts: evidence for reduced nasopharyngeal excretion. *Am J Epidemiol*, 1967. **86**(2): p. 468-77.
- 10) Shishido, A. and M. Ohtawara, Development of attenuated rubella virus vaccines in Japan. *Jpn J Med Sci Biol*, 1976. **29**(5): p. 227-53.
- 11) Janta, D., A. Stanescu, E. Lupulescu, G. Molnar, and A. Pistol, Ongoing rubella outbreak among adolescents in Salaj, Romania, September 2011-January 2012. *Euro Surveill*, 2012. **17**(7).
- 12) Paradowska-Stankiewicz, I., M.P. Czarkowski, T. Derrough, and P. Stefanoff, Ongoing outbreak of rubella among young male adults in Poland: increased risk of congenital rubella infections. *Euro Surveill*, 2013. **18**(21).
- 13) Ujiie, M., K. Nabae, and T. Shobayashi, Rubella outbreak in Japan. *Lancet*, 2014. **383**(9927): p. 1460-1.
- 14) Banatvala, J.E. and D.W. Brown, Rubella. *Lancet*, 2004. **363**(9415): p. 1127-37.
- 15) Dwyer, D.E., P.W. Robertson, and P.R. Field, Broad-sheet: Clinical and laboratory features of rubella. *Pathology*, 2001. **33**(3): p. 322-8.
- 16) 国立感染症研究所 厚生労働省健康局結核感染症課, <特集> 風疹・先天性風疹症候群 2013年3月現在. 病原微生物情報 2013. **34**(4): p. 87-89.
- 17) 多屋馨子, 風疹ワクチン接種の推移. 病原微生物情報 2003. **24**(3): p. 55-57.
- 18) Williams, M.P., T.A. Brawner, H.G. Riggs, Jr., and J.T. Roehrig, Characteristics of a persistent rubella infection in a human cell line. *J Gen Virol*, 1981. **52**(Pt 2): p. 321-8.
- 19) Hemphill, M.L., R.Y. Forng, E.S. Abernathy, and T.K. Frey, Time course of virus-specific macromolecular synthesis during rubella virus infection in Vero cells. *Virology*, 1988. **162**(1): p. 65-75.
- 20) Duncan, R., J. Muller, N. Lee, A. Esmaili, and H.L. Nakhasi, Rubella virus-induced apoptosis varies among cell lines and is modulated by Bcl-XL and caspase inhibitors. *Virology*, 1999. **255**(1): p. 117-28.
- 21) Adamo, P., L. Asis, P. Silveyra, C. Cuffini, M. Pedranti, and M. Zapata, Rubella virus does not induce apoptosis in primary human embryo fibroblast cultures: a possible way of viral persistence in congenital infection. *Viral Immunol*, 2004. **17**(1): p. 87-100.
- 22) Plotkin, S.A., Routes of fetal infection and mechanisms of fetal damage. *Am J Dis Child*, 1975. **129**(4): p. 444-9.
- 23) Cong, H., Y. Jiang, and P. Tien, Identification of the myelin oligodendrocyte glycoprotein as a cellular receptor for rubella virus. *J Virol*, 2011. **85**(21): p. 11038-47.
- 24) Battisti, A.J., J.D. Yoder, P. Plevka, D.C. Winkler, V.M.

- Prasad, R.J. Kuhn, T.K. Frey, A.C. Steven, and M.G. Rossmann, Cryo-electron tomography of rubella virus. *J Virol*, 2012. **86**(20): p. 11078-85.
- 25) Mangala Prasad, V., S.D. Willows, A. Fokine, A.J. Battisti, S. Sun, P. Plevka, T.C. Hobman, and M.G. Rossmann, Rubella virus capsid protein structure and its role in virus assembly and infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013. **110**(50): p. 20105-10.
  - 26) DuBois, R.M., M.C. Vaney, M.A. Tortorici, R.A. Kurdi, G. Barba-Spaeth, T. Krey, and F.A. Rey, Functional and evolutionary insight from the crystal structure of rubella virus protein E1. *Nature*, 2013. **493**(7433): p. 552-6.
  - 27) Auewarakul, P., Composition bias and genome polarity of RNA viruses. *Virus Res*, 2005. **109**(1): p. 33-7.
  - 28) Griffin, D.E., *Alphaviruses*, in *Fields virology*, D.M. Knipe and P.M. Howley, Editors. 2013, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA. p. 651-686.
  - 29) Abernathy, E.S., J.M. Hubschen, C.P. Muller, L. Jin, D. Brown, K. Komase, Y. Mori, W. Xu, Z. Zhu, M.M. Siqueira, S. Shulga, N. Tikhonova, S. Pattamadilok, P. Incomserb, S.B. Smit, C. Akoua-Koffi, J. Bwogi, W.W. Lim, G.K. Woo, H. Triki, Y. Jee, M.N. Mulders, A.M. de Filippis, H. Ahmed, N. Ramamurty, D. Featherstone, and J.P. Icenogle, Status of global virologic surveillance for rubella viruses. *J Infect Dis*, 2011. **204** **Suppl 1**: p. S524-32.
  - 30) Yao, J., D. Yang, P. Chong, D. Hwang, Y. Liang, and S. Gillam, Proteolytic processing of rubella virus nonstructural proteins. *Virology*, 1998. **246**(1): p. 74-82.
  - 31) Chen, J.P., J.H. Strauss, E.G. Strauss, and T.K. Frey, Characterization of the rubella virus nonstructural protease domain and its cleavage site. *J Virol*, 1996. **70**(7): p. 4707-13.
  - 32) Liang, Y. and S. Gillam, Mutational analysis of the rubella virus nonstructural polyprotein and its cleavage products in virus replication and RNA synthesis. *J Virol*, 2000. **74**(11): p. 5133-41.
  - 33) Rozanov, M.N., E.V. Koonin, and A.E. Gorbalenya, Conservation of the putative methyltransferase domain: a hallmark of the 'Sindbis-like' supergroup of positive-strand RNA viruses. *J Gen Virol*, 1992. **73** ( Pt 8): p. 2129-34.
  - 34) Gorbalenya, A.E., E.V. Koonin, and M.M. Lai, Putative papain-related thiol proteases of positive-strand RNA viruses. Identification of rubi- and aphthovirus proteases and delineation of a novel conserved domain associated with proteases of rubi-, alpha- and coronaviruses. *FEBS Lett*, 1991. **288**(1-2): p. 201-5.
  - 35) Kamer, G. and P. Argos, Primary structural comparison of RNA-dependent polymerases from plant, animal and bacterial viruses. *Nucleic Acids Res*, 1984. **12**(18): p. 7269-82.
  - 36) Gros, C. and G. Wengler, Identification of an RNA-stimulated NTPase in the predicted helicase sequence of the Rubella virus nonstructural polyprotein. *Virology*, 1996. **217**(1): p. 367-72.
  - 37) Suomalainen, M., H. Garoff, and M.D. Baron, The E2 signal sequence of rubella virus remains part of the capsid protein and confers membrane association in vitro. *J Virol*, 1990. **64**(11): p. 5500-9.
  - 38) Marr, L.D., A. Sanchez, and T.K. Frey, Efficient in vitro translation and processing of the rubella virus structural proteins in the presence of microsomes. *Virology*, 1991. **180**(1): p. 400-5.
  - 39) Liu, Z., D. Yang, Z. Qiu, K.T. Lim, P. Chong, and S. Gilham, Identification of domains in rubella virus genomic RNA and capsid protein necessary for specific interaction. *J Virol*, 1996. **70**(4): p. 2184-90.
  - 40) Sakata, M., N. Otsuki, K. Okamoto, M. Anraku, M. Nagai, M. Takeda, and Y. Mori, Short Self-Interacting N-Terminal Region of Rubella Virus Capsid Protein Is Essential for Cooperative Actions of Capsid and Nonstructural p150 Proteins. *J Virol*, 2014. **88**(19): p. 11187-98.
  - 41) Perera, R., K.E. Owen, T.L. Tellinghuisen, A.E. Gorbalenya, and R.J. Kuhn, Alphavirus nucleocapsid protein contains a putative coiled coil alpha-helix important for core assembly. *J Virol*, 2001. **75**(1): p. 1-10.
  - 42) Choi, H.K., L. Tong, W. Minor, P. Dumas, U. Boege, M.G. Rossmann, and G. Wengler, Structure of Sindbis virus core protein reveals a chymotrypsin-like serine proteinase and the organization of the virion. *Nature*, 1991. **354**(6348): p. 37-43.
  - 43) Garbutt, M., L.M. Law, H. Chan, and T.C. Hobman, Role of rubella virus glycoprotein domains in assembly of virus-like particles. *J Virol*, 1999. **73**(5): p. 3524-33.
  - 44) Rey, F.A., F.X. Heinz, C. Mandl, C. Kunz, and S.C. Harrison, The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. *Nature*, 1995. **375**(6529): p. 291-8.
  - 45) Lescar, J., A. Roussel, M.W. Wien, J. Navaza, S.D. Fuller, G. Wengler, and F.A. Rey, The Fusion glycoprotein shell of Semliki Forest virus: an icosahedral assembly primed for fusogenic activation at endosomal pH. *Cell*, 2001. **105**(1): p. 137-48.
  - 46) Petruzzello, R., N. Orsi, S. Macchia, S. Rieti, T.K. Frey, and P. Mastromarino, Pathway of rubella virus infectious entry into Vero cells. *J Gen Virol*, 1996. **77** ( Pt 2 ): p. 303-8.
  - 47) Kee, S.H., E.J. Cho, J.W. Song, K.S. Park, L.J. Baek, and K.J. Song, Effects of endocytosis inhibitory drugs on rubella virus entry into VeroE6 cells. *Microbiol Immunol*, 2004. **48**(11): p. 823-9.
  - 48) Katow, S. and A. Sugiura, Low pH-induced conformational change of rubella virus envelope proteins. *J Gen Virol*, 1988. **69** ( Pt 11): p. 2797-807.
  - 49) Lee, J.Y., D.S. Bowden, and J.A. Marshall, Membrane junctions associated with rubella virus infected cells. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1996. **28**(1): p. 101-8.
  - 50) Lee, J.Y., J.A. Marshall, and D.S. Bowden, Replication complexes associated with the morphogenesis of rubella virus. *Arch Virol*, 1992. **122**(1-2): p. 95-106.
  - 51) Lee, J.Y., J.A. Marshall, and D.S. Bowden, Characterization of rubella virus replication complexes using antibodies to double-stranded RNA. *Virology*, 1994. **200**(1): p. 307-12.
  - 52) Kujala, P., T. Ahola, N. Ehsani, P. Auvinen, H. Vihinen,

- and L. Kaariainen, Intracellular distribution of rubella virus nonstructural protein P150. *J Virol*, 1999. **73**(9): p. 7805-11.
- 53) Magliano, D., J.A. Marshall, D.S. Bowden, N. Vardaxis, J. Meanger, and J.Y. Lee, Rubella virus replication complexes are virus-modified lysosomes. *Virology*, 1998. **240**(1): p. 57-63.
  - 54) Froshauer, S., J. Kartenbeck, and A. Helenius, Alphavirus RNA replicase is located on the cytoplasmic surface of endosomes and lysosomes. *J Cell Biol*, 1988. **107**(6 Pt 1): p. 2075-86.
  - 55) Gorchakov, R., N. Garmashova, E. Frolova, and I. Frolov, Different types of nsP3-containing protein complexes in Sindbis virus-infected cells. *J Virol*, 2008. **82**(20): p. 10088-101.
  - 56) Spuul, P., G. Balistreri, L. Kaariainen, and T. Ahola, Phosphatidylinositol 3-kinase-, actin-, and microtubule-dependent transport of Semliki Forest Virus replication complexes from the plasma membrane to modified lysosomes. *J Virol*, 2010. **84**(15): p. 7543-57.
  - 57) Frolova, E.I., R. Gorchakov, L. Pereboeva, S. Atasheva, and I. Frolov, Functional Sindbis virus replicative complexes are formed at the plasma membrane. *J Virol*, 2010. **84**(22): p. 11679-95.
  - 58) Bardeletti, G., J. Tektoff, and D. Gautheron, Rubella virus maturation and production in two host cell systems. *Intervirology*, 1979. **11**(2): p. 97-103.
  - 59) von Bonsdorff, C.H. and A. Vaheri, Growth of rubella virus in BHK21 cells: electron microscopy of morphogenesis. *J Gen Virol*, 1969. **5**(1): p. 47-51.
  - 60) Hobman, T.C., L. Woodward, and M.G. Farquhar, Targeting of a heterodimeric membrane protein complex to the Golgi: rubella virus E2 glycoprotein contains a transmembrane Golgi retention signal. *Mol Biol Cell*, 1995. **6**(1): p. 7-20.
  - 61) Hobman, T.C., L. Woodward, and M.G. Farquhar, The rubella virus E2 and E1 spike glycoproteins are targeted to the Golgi complex. *J Cell Biol*, 1993. **121**(2): p. 269-81.
  - 62) Bardeletti, G. and D.C. Gautheron, Phospholipid and cholesterol composition of rubella virus and its host cell BHK 21 grown in suspension cultures. *Arch Virol*, 1976. **52**(1-2): p. 19-27.
  - 63) Clarke, D.M., T.W. Loo, I. Hui, P. Chong, and S. Gillam, Nucleotide sequence and in vitro expression of rubella virus 24S subgenomic messenger RNA encoding the structural proteins E1, E2 and C. *Nucleic Acids Res*, 1987. **15**(7): p. 3041-57.
  - 64) Baron, M.D., T. Ebel, and M. Suomalainen, Intracellular transport of rubella virus structural proteins expressed from cloned cDNA. *J Gen Virol*, 1992. **73** (Pt 5): p. 1073-86.
  - 65) Hobman, T.C. and S. Gillam, In vitro and in vivo expression of rubella virus glycoprotein E2: the signal peptide is contained in the C-terminal region of capsid protein. *Virology*, 1989. **173**(1): p. 241-50.
  - 66) Hobman, T.C., R. Shukin, and S. Gillam, Translocation of rubella virus glycoprotein E1 into the endoplasmic reticulum. *J Virol*, 1988. **62**(11): p. 4259-64.
  - 67) Law, L.M., R. Duncan, A. Esmaili, H.L. Nakhasi, and T.C. Hobman, Rubella virus E2 signal peptide is required for perinuclear localization of capsid protein and virus assembly. *J Virol*, 2001. **75**(4): p. 1978-83.
  - 68) Melancon, P. and H. Garoff, Processing of the Semliki Forest virus structural polyprotein: role of the capsid protease. *J Virol*, 1987. **61**(5): p. 1301-9.
  - 69) Birdwell, C.R., E.G. Strauss, and J.H. Strauss, Replication of Sindbis virus. III. An electron microscopic study of virus maturation using the surface replica technique. *Virology*, 1973. **56**(2): p. 429-38.
  - 70) Pavan, A., L.V. Lotti, M.R. Torrisi, G. Migliaccio, and S. Bonatti, Regional distribution of Sindbis virus glycoproteins on the plasma membrane of infected baby hamster kidney cells. *Exp Cell Res*, 1987. **168**(1): p. 53-62.
  - 71) Brown, D.T., M.R. Waite, and E.R. Pfefferkorn, Morphology and morphogenesis of Sindbis virus as seen with freeze-etching techniques. *J Virol*, 1972. **10**(3): p. 524-36.
  - 72) Soonsawad, P., L. Xing, E. Milla, J.M. Espinoza, M. Kawano, M. Marko, C. Hsieh, H. Furukawa, M. Kawasaki, W. Weerachatanukul, R. Srivastava, S.W. Barnett, I.K. Srivastava, and R.H. Cheng, Structural evidence of glycoprotein assembly in cellular membrane compartments prior to Alphavirus budding. *J Virol*, 2010. **84**(21): p. 11145-51.
  - 73) Ilkow, C.S., V. Mancinelli, M.D. Beatch, and T.C. Hobman, Rubella virus capsid protein interacts with poly(a)-binding protein and inhibits translation. *J Virol*, 2008. **82**(9): p. 4284-94.
  - 74) Ilkow, C.S., I.S. Goping, and T.C. Hobman, The Rubella virus capsid is an anti-apoptotic protein that attenuates the pore-forming ability of Bax. *PLoS Pathog*, 2011. **7**(2): p. e1001291.
  - 75) Lee, J.Y., J.A. Marshall, and D.S. Bowden, Localization of rubella virus core particles in vero cells. *Virology*, 1999. **265**(1): p. 110-9.
  - 76) Beatch, M.D. and T.C. Hobman, Rubella virus capsid associates with host cell protein p32 and localizes to mitochondria. *J Virol*, 2000. **74**(12): p. 5569-76.
  - 77) Willows, S., C.S. Ilkow, and T.C. Hobman, Phosphorylation and membrane association of the Rubella virus capsid protein is important for its anti-apoptotic function. *Cell Microbiol*, 2014. **16**(8): p. 1201-10.
  - 78) Ilkow, C.S., D. Weckbecker, W.J. Cho, S. Meier, M.D. Beatch, I.S. Goping, J.M. Herrmann, and T.C. Hobman, The rubella virus capsid protein inhibits mitochondrial import. *J Virol*, 2010. **84**(1): p. 119-30.
  - 79) Paschen, S.A., A. Weber, and G. Hacker, Mitochondrial protein import: a matter of death? *Cell Cycle*, 2007. **6**(20): p. 2434-9.
  - 80) Itahana, K. and Y. Zhang, Mitochondrial p32 is a critical mediator of ARF-induced apoptosis. *Cancer Cell*, 2008. **13**(6): p. 542-53.
  - 81) Beatch, M.D., J.C. Everitt, L.J. Law, and T.C. Hobman, Interactions between rubella virus capsid and host protein p32 are important for virus replication. *J Virol*, 2005. **79**(16): p. 10807-20.



- 82) Claus, C., S. Chey, S. Heinrich, M. Reins, B. Richardt, S. Pinkert, H. Fechner, F. Gaunitz, I. Schafer, P. Seibel, and U.G. Liebert, Involvement of p32 and microtubules in alteration of mitochondrial functions by rubella virus. *J Virol*, 2011. **85**(8): p. 3881-92.
- 83) Chen, M.H. and J.P. Icenogle, Rubella virus capsid protein modulates viral genome replication and virus infectivity. *J Virol*, 2004. **78**(8): p. 4314-22.
- 84) Tzeng, W.P. and T.K. Frey, Functional replacement of a domain in the rubella virus p150 replicase protein by the virus capsid protein. *J Virol*, 2009. **83**(8): p. 3549-55.
- 85) Tzeng, W.-P., J.D. Matthews, and T.K. Frey, Analysis of Rubella Virus Capsid Protein-Mediated Enhancement of Replicon Replication and Mutant Rescue. *Journal of Virology*, 2006. **80**(8): p. 3966-3974.
- 86) Tellinghuisen, T.L. and R.J. Kuhn, Nucleic acid-dependent cross-linking of the nucleocapsid protein of Sindbis virus. *J Virol*, 2000. **74**(9): p. 4302-9.
- 87) Perera, R., C. Navaratnarajah, and R.J. Kuhn, A heterologous coiled coil can substitute for helix I of the Sindbis virus capsid protein. *J Virol*, 2003. **77**(15): p. 8345-53.
- 88) Hong, E.M., R. Perera, and R.J. Kuhn, Alphavirus capsid protein helix I controls a checkpoint in nucleocapsid core assembly. *J Virol*, 2006. **80**(18): p. 8848-55.
- 89) Hobman, T.C., M.L. Lundstrom, C.A. Mauracher, L. Woodward, S. Gillam, and M.G. Farquhar, Assembly of rubella virus structural proteins into virus-like particles in transfected cells. *Virology*, 1994. **202**(2): p. 574-85.
- 90) Ni, P. and C. Cheng Kao, Non-encapsidation activities of the capsid proteins of positive-strand RNA viruses. *Virology*, 2013. **446**(1-2): p. 123-32.
- 91) Rubella vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec*, 2011. **86**(29): p. 301-16.
- 92) WHO, Global Vaccine Action Plan, in World Health Assembly - 65th session: Report by WHO secretariat on the Global Vaccine Action Plan. 2012, WHO.

## The life cycle of Rubella Virus

**Masafumi SAKATA and Yoshio MORI**

Department of Virology III, National Institute of Infectious Diseases.  
4-7-1 Gakuen, Musashimurayama-shi, Tokyo 208-0011, Japan  
yoshiom@nih.go.jp

Rubella virus (RV), an infectious agent of rubella, is the sole member of the genus *Rubivirus* in the family of *Togaviridae*. RV has a positive-stranded sense RNA as a genome. A natural host of RV is limited to human, and rubella is considered to be a childhood disease in general. When woman is infected with RV during early pregnancy, her fetus may develop severe birth defects known as congenital rubella syndrome. In this review, the RV life cycle from the virus entry to budding is illustrated in comparison with those of member viruses of the genus *alphavirus* in the same family. The multiple functions of the RV capsid protein are also introduced.

