

1. ムンプスウイルス増殖に関わる宿主因子の機能解析

加藤 大志

国立感染症研究所ウイルス第三部

ムンプスウイルス (MuV) は小児の代表的なウイルス性感染症である流行性耳下腺炎 (おたふくかぜ, ムンプス) の原因ウイルスである。他のウイルス感染と同様に, MuV の増殖過程には多くの宿主タンパク質が関与している。これまでに我々は MuV 感染に関わる宿主因子として, シャペロンタンパク質である Heat shock protein 70 (Hsp70) および Hsp90 がポリメラーゼ複合体を形成する P タンパク質および L タンパク質と相互作用し, それらウイルスタンパク質の品質管理を通して, ウイルス RNA 合成に必須の宿主因子であること, R2TP 複合体がウイルス RNA 合成における転写/複製バランスを正確にコントロールし, 宿主の免疫応答を最小限に留めることで効果的なウイルス増殖に寄与する宿主タンパク質であること, Rab11 がウイルスのリボ核タンパク質複合体の細胞膜への輸送に関わる宿主因子であることを明らかにしてきた。本稿では, それらの知見を中心に MuV 感染に関わる宿主因子の機能について紹介する。

はじめに

ムンプスウイルス (Mumps virus: MuV, 正式名称は *Mumps Orthorubulavirus*) はパラミクソウイルス科オルソブラウイルス属に属する RNA ウイルスである¹⁾。パラミクソウイルスはコウモリを起源にすると考えられており, MuV においても非常に近縁なウイルスがコウモリより検出されている²⁾。MuV は小児の代表的なウイルス性感染症である流行性耳下腺炎 (おたふくかぜ, 以下ムンプス) を引き起こす³⁾。ムンプスは耳下腺の腫脹・疼痛を主症状とするが, その他にも無菌性髄膜炎や精巣炎, 肺炎, 難聴など様々な合併症が知られている⁴⁾。ムンプスはワクチン予防可能疾患であり, 1967年に米国で開発された Jeryl-Lynn 株およびその派生株である RIT-4385 株が世界120カ国以上で使用されている⁵⁾。日本では独自のワクチン株の開発が進められ, 1989年に麻疹ワクチンおよび風

疹ワクチンとの3種混合ワクチン (MMR ワクチン) が定期接種化された。しかしながら, ムンプスに起因する無菌性髄膜炎が多発したことから, 1993年に MMR ワクチンの定期接種は中止となった。2021年現在, 我が国のムンプスワクチンは単味の任意接種ワクチンとして使用されている⁶⁾。そのため4-5年ごとの流行を繰り返し, 直近では2015-16年に全国的な流行が認められた。ムンプスに対する特異的治療法はなく, 疼痛に対する鎮痛剤の使用といった対症療法のみである。

MuV の特徴

MuV の粒子は宿主細胞由来の脂質二重膜に覆われ, その中に15,384塩基の非分節マイナス鎖 RNA ゲノムを内包する100-200 nm の球形粒子である⁷⁾。ゲノムからは N, P, M, F, SH, HN, L の7種類の構造タンパク質および1つの非構造タンパク質 (V) が合成される。Matrix (M) タンパク質で裏打ちされたウイルス粒子上には, Fusion (F) タンパク質, Small hydrophobic (SH) タンパク質および受容体結合タンパク質である Hemagglutinin-neuraminidase (HN) タンパク質の3種類の膜タンパク質が発現する。Nucleocapsid (N) タンパク質によって保護されたゲノム RNA は, ポリメラーゼ複合体 (RNA-dependent RNA polymerase: RdRp) と共にリボ核タンパク質複合体 (RNP) を形成し, これが RNA 合成の機能的単位となる。RdRp はポリメラーゼタンパク質である Large (L) タンパク質

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 ウイルス第三部第三室

TEL: 042-848-7064 (Ex. 3530)

FAX: 042-567-5631

E-mail: kato0704@nih.go.jp

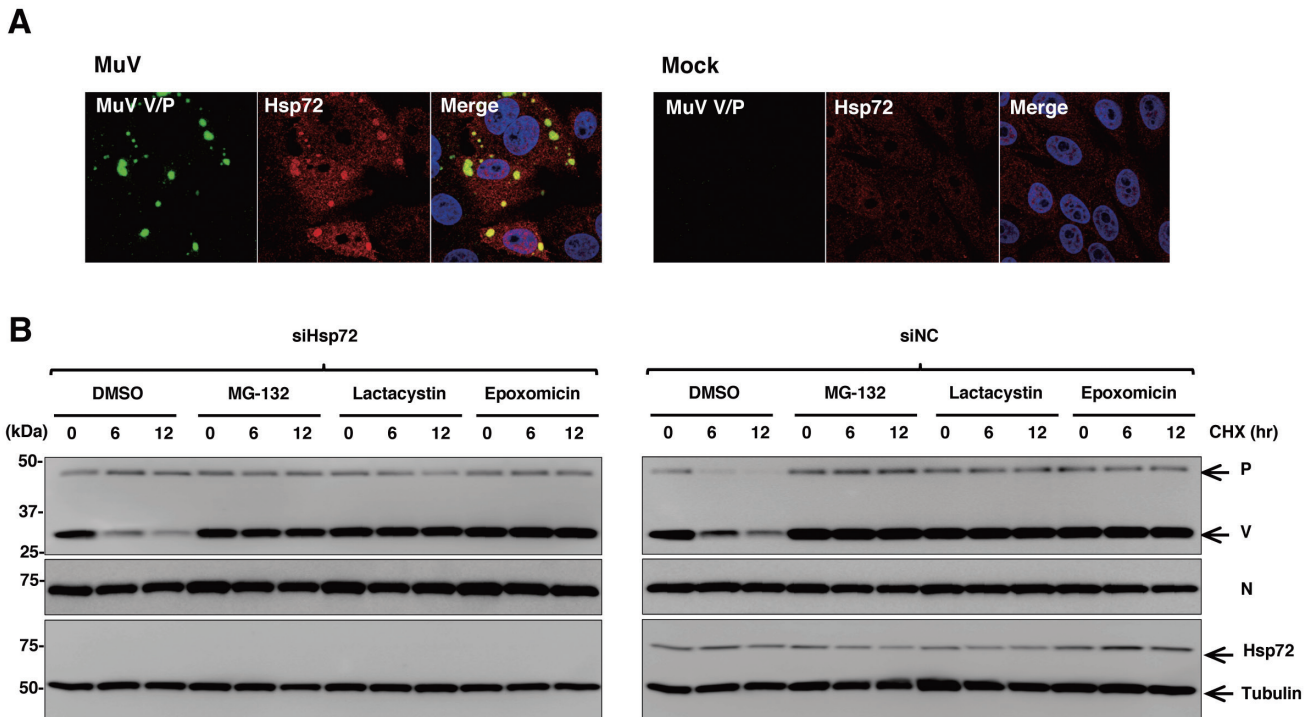


図1 Hsp72によるMuV Pタンパク質の品質管理

(A) MuV感染Vero細胞におけるHsp72の細胞内局在を示した。(B) Hsp72ノックダウン細胞ではPタンパク質の分解が抑制された(DMSO処理)。Pタンパク質の分解は各プロテアソーム阻害剤(MG-132, Lactacystin, Epoxomicin)処理では見られないことから、ユビキチン-プロテアソーム系によることが示唆された。文献19改変。

とその補助因子であるPhosphoprotein(Pタンパク質)で構成される。

HNタンパク質が受容体である細胞表面の α 2,3-結合型シアロ糖鎖と結合すると⁸⁾、相互作用するFタンパク質の構造変化が誘発され、ウイルス膜と細胞膜の膜融合が起こり、RNPが宿主細胞内へ導入される。細胞内に放出されたRNPからは、最初にmRNAが合成され(転写)、ウイルスタンパク質が産生される。その後、転写から複製へとポリメラーゼのモード切り替えが起こり、ウイルスゲノムRNAの複製が起こる。合成されたウイルスゲノムはRNPを形成し、細胞膜へと輸送される。Mタンパク質を中心に細胞膜近傍に各構造タンパク質が集合し、子孫ウイルス粒子が産生される。P遺伝子から産生されるVタンパク質は、ウイルスRNA合成の調整や自然免疫抑制に関わるとされている^{9,10)}。

MuV感染におけるシャペロンタンパク質の役割

古くからMuVを含むモノネガウイルス(非分節マイナス鎖RNAをゲノムとして持つウイルス)感染細胞の核や細胞質には、封入体と呼ばれる構造体が形成されることが知られていた¹¹⁻¹³⁾。電子顕微鏡による観察から、封入体は膜に覆われておらず、ウイルスのヌクレオカプシドが蓄

積することが示されていた。しかしながら、この封入体がウイルスRNAの合成の場合なのか、宿主によって異常タンパク質と認識されたウイルスタンパク質の凝集体であるのかについては、長らく意見が分かれていた。その後、封入体にはヌクレオカプシドだけでなく、RdRpや新規合成されたRNAも存在することが示され、現在では封入体がアクティブなウイルスRNAの合成の場であると考えられている^{14,15)}。また、封入体の形成機構についても長い間謎に包まれていたが、近年狂犬病ウイルスや麻疹ウイルスの封入体が“Liquid organelles”の性質を持っていることが報告され、モノネガウイルスの封入体は液-液相分離(Liquid-Liquid Phase Separation: LLPS)によって形成される“膜のないオルガネラ”であるとされている¹⁶⁻¹⁸⁾。

LLPSはタンパク質や核酸などの分子がそれぞれ複数の分子と相互作用することで、大きな集合体を形成する現象で、MuVにおいてはNタンパク質およびPタンパク質が必須因子である¹⁹⁾。我々は封入体に集積する宿主因子を探索し、ウイルス感染における役割について検討を行った。精製タグを付加したNタンパク質およびPタンパク質を細胞に発現させ、アフィニティー精製によって各ウイルスタンパク質を精製し、N末端アミノ酸配列分析法を用いて相互作用する宿主因子を同定した。その結果、Pタンパク

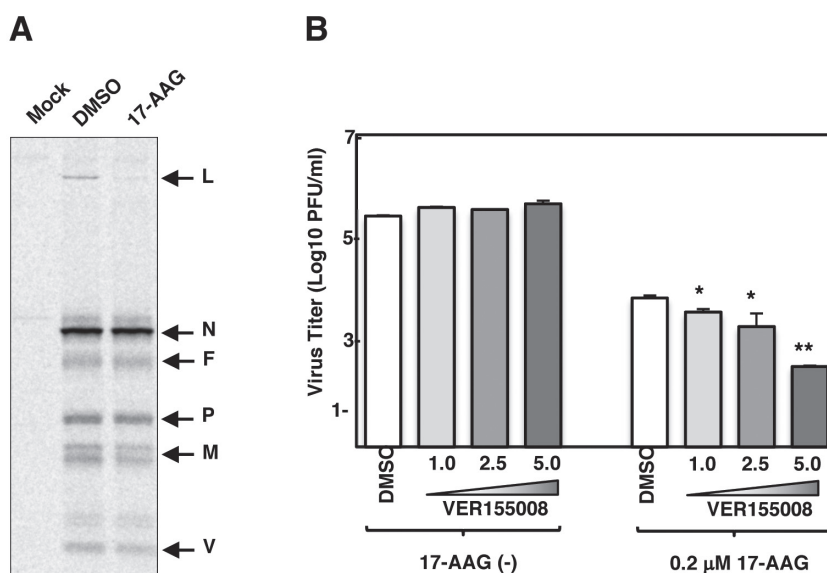


図2 MuV L タンパク質の品質管理およびウイルス増殖における Hsp70/Hsp90 の役割

(A) Hsp90 阻害剤 (17-AAG) 処理によって、L タンパク質の安定性が低下した。(B) Hsp70 阻害剤 (VER155008) との併用によって、17-AAG による MuV の増殖抑制が増強された。文献 21 改変

質と相互作用し、MuV 感染細胞の封入体にリクルートされる宿主因子として、Stress-inducible heat shock protein 70 (Hsp72) が得られた (図 1A)。siRNA を用いて細胞内の Hsp72 をノックダウンして、MuV 増殖への影響を検討したが、ウイルス RNA 合成および感染性ウイルスの産生にはほとんど影響は認められなかった。Hsp72 は数多くの宿主タンパク質の合成から分解までの過程に関わり、タンパク質の品質管理において必須のシャペロンタンパク質である。そこで、P タンパク質の品質管理における Hsp72 の役割について検討を行った。結果、Hsp72 ノックダウン細胞ではコントロール細胞と比較して、細胞内へのユビキチン化 P タンパク質の蓄積が認められ、さらに P タンパク質の分解が有意に抑制された (図 1B)。また Hsp72 ノックダウン細胞では MuV 感染によって誘導されるアポトーシスが亢進していた。以上の結果から、封入体へとリクルートされた Hsp72 はユビキチン-プロテアソームによる P タンパク質分解を促進し、MuV 感染に伴う細胞障害を軽減する役割があると考えられた¹⁹⁾。

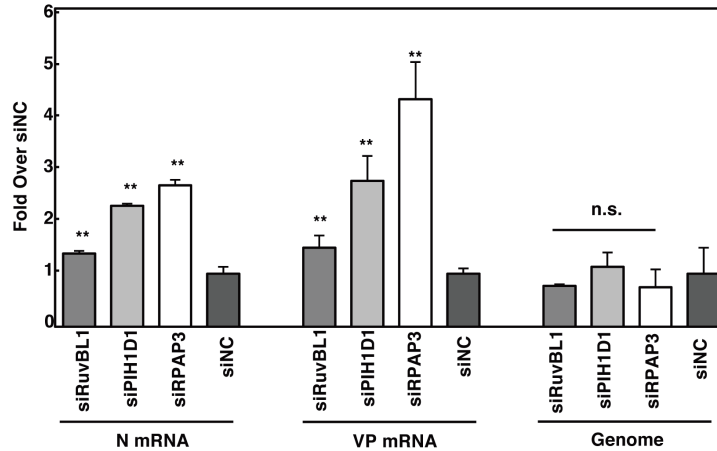
Hsp70 ファミリータンパク質と並ぶ代表的なシャペロンタンパク質である Hsp90 も、様々なウイルス感染に関わることが報告されている²⁰⁾。そこで我々は Hsp90 の MuV 感染への関与についてまず検討した。細胞に Hsp90 阻害剤である 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) を処理し、MuV 増殖への影響と検討したところ、17-AAG の濃度依存的に MuV の増殖抑制が認められた。さらにウイルス RNA 合成評価系である Minigenome assay の結果から、17-AAG が RNA 合成を抑制することが示された。パルスチェイス法によって MuV の各タンパク質の安定性

を評価したところ、L タンパク質の安定性が 17-AAG 処理によって有意に低下しており、L タンパク質が Hsp90 のクライアントタンパク質であることが明らかになった (図 2A)。Hsp90 はクライアントタンパク質の安定性に寄与するだけでなく、クライアントタンパク質の複合体形成を促進する機能があることも知られている。そこで、RdRp 形成への Hsp90 の関与を検討した。L タンパク質を単独または P タンパク質と共発現させ、17-AAG を処理したところ、単独で発現させた場合のみ L タンパク質の分解促進が認められた。すなわち Hsp90 は P タンパク質と相互作用する前の L タンパク質の安定性に重要であり、RdRp 形成後は Hsp90 の関与は低いことが示唆された²¹⁾。

Hsp90 は Hsp70 ファミリータンパク質と協調的に機能することが知られている。そこで L タンパク質の品質管理における Hsp70 の関与についても検討した。Hsp70 阻害剤である VER155008 単独処理では L タンパク質の安定性には影響を及ぼさなかったが、17-AAG と併用することで、17-AAG による L タンパク質分解がさらに促進することが示された。同様に VER155008 単独ではウイルス RNA 量やウイルス産生量には変化が見られなかったが、VER155008/17-AAG 処理でより強い RNA 合成およびウイルス増殖抑制作用が認められた (図 2B)。以上の結果から、Hsp70 と Hsp90 が協調して、L タンパク質の品質管理および機能発現に寄与していることが明らかになった²¹⁾。

大部分のタンパク質は機能獲得にシャペロンタンパク質を要求する。ウイルスタンパク質も例外ではないが、ゲノム情報を最小化するためほとんどのウイルスはそれを宿主細胞に依存している。パラミクソウイルス感染においては、

A



B

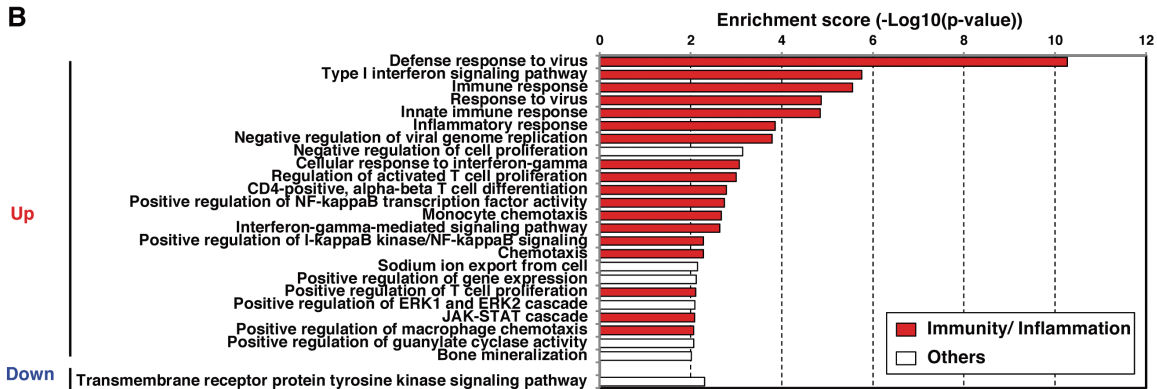


図3 MuVのRNA合成および増殖におけるR2TP複合体の役割

(A) R2TP複合体を構成する因子(RuvBL1, PIH1D1, RPAP3)をノックダウンすると, MuVの転写が亢進した. 一方, ゲノムRNA複製は変化が認められなかった. (B) 感染48時間のRPAP3ノックダウン細胞では, MuVの感染に伴って免疫・炎症に関わる因子の発現亢進が認められた. 文献29改変.

我々の報告に加え, 麻疹ウイルスやイヌジステンパーウイルスのNタンパク質との相互作用を介して, Hsp70ファミリータンパク質がウイルスRNA合成を制御することも知られている^{22, 23}). またHsp90によるLタンパク質の機能制御はパラミクソウイルス(麻疹ウイルス, ヒトパラインフルエンザウイルス, ニパウイルス)だけでなく, 近縁のウイルス(RSウイルス, 水疱性口内炎ウイルスおよびインフルエンザウイルス)においても保存されている機構であり, マイナス鎖RNAをゲノムとするウイルスに共通の分子機構であると考えられる²⁴⁻²⁷). MuVを含むパラミクソウイルスのRNA合成過程におけるシャペロンタンパク質の役割についての知見は集まりつつあるが, まだ全容解明には至っていない. RNA合成機構を理解するためには, RNA合成過程のみに注目するのではなく, 各ウイルスタンパク質が機能を獲得するための成熟過程も合わせて理解する必要あり, さらなる詳細かつ包括的な研究が求め

られる.

ウイルスRNA合成における転写／複製制御と自然免疫回避

MuVの転写はゲノムRNAを鋳型に3'末端側の遺伝子から順に行われ, キャップおよびポリA付加を経て, 成熟mRNAが産生される²⁸). 一方, ゲノム複製は, まずゲノムRNA(マイナス鎖)を鋳型にゲノムRNAに相補的なRNA(プラス鎖)を合成し, 次にこの相補的RNAを鋳型にゲノムRNAが合成される. 新生ゲノムRNAはただちにNタンパク質によって保護され, さらなるRNA合成の鋳型となるか, 細胞膜へと輸送されウイルス粒子へと取り込まれる. このRNA合成過程にも様々な宿主タンパク質が関わっていると考えられている.

そこで我々はMuVのLタンパク質と相互作用し, RNA合成に関わる宿主因子の探索を試みた. 精製タグを

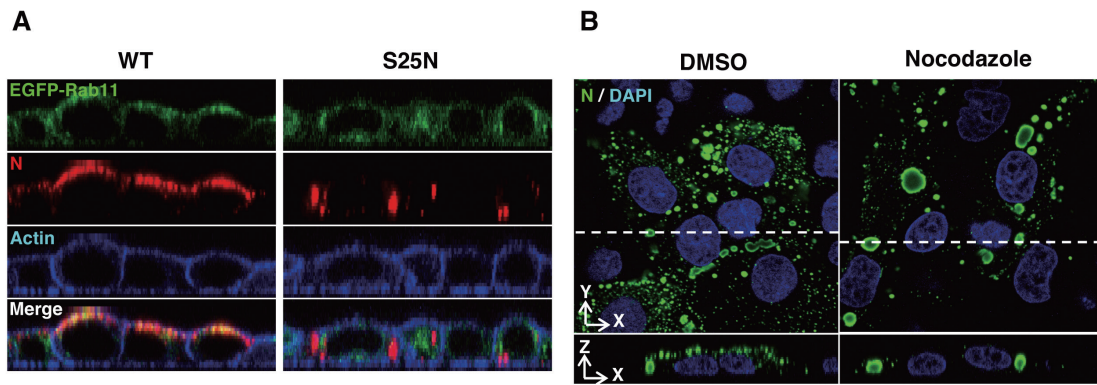


図4 MuV の RNP 輸送における Rab11 および微小管の役割

(A) Rab11 のドミナントネガティブフォーム Rab11S25N 発現 MDCK 細胞では RNP(N タンパク質)の頂端膜輸送が阻害された。(B) 微小管阻害剤 (Nocodazole) 処理によって, RNP の頂端膜輸送が阻害された. 文献 35 改変.

付加した L タンパク質のポリメラーゼ領域を細胞に発現・精製し, 質量分析法によって相互作用する宿主因子を同定した. その結果, Hsp70, Hsp90 およびそれらのコシャペロンタンパク質 (Hsp40, HOP, CHIP, BAG2) を含んだ複数の宿主因子が得られた. その中から R2TP 複合体を構成する RuvBL1 および RuvBL2 に着目し, その機能解析を実施した. R2TP 複合体は RuvBL1, RuvBL2 に加え RPAP3 および PIH1D1 の 4 つの因子によって構成される. そこでこれら因子と L タンパク質の相互作用を調べたところ, RuvBL2 を除く 3 つの因子との相互作用が確認された. 次に MuV の RNA 合成における R2TP 複合体の関与を検討するために, siRNA によるノックダウン実験を実施した. ノックダウンによって各因子の機能を阻害すると, mRNA 量が増加する一方, ゲノム RNA 量には変化は認められなかった (図 3A). そこで RPAP3 ノックダウン細胞におけるウイルス増殖を評価したところ, 感染 48 時間後までは産生ウイルス量に差は見られなかったが, 感染 72 時間以降にノックダウン細胞において有意なウイルス増殖抑制が認められた. その原因を探索するために, トランスクリプトーム解析によって感染 48 時間のそれぞれの細胞における宿主の遺伝子発現変化を解析した結果, ノックダウン細胞において有意に免疫および炎症に関わる遺伝子の発現亢進が認められた (図 3B). そこで自然免疫抑制機能を有するセンダイウイルスの C タンパク質を発現させた細胞を用いて, 同様の実験を行ったところ, RPAP3 をノックダウンしても, ウイルス増殖抑制も認められなかった. さらに感染に伴う自然免疫応答も軽度であった. 以上の結果より, R2TP 複合体は MuV の L タンパク質との相互作用を介して, ウイルス RNA の転写 / 複製バランスを正確にコントロールし, 免疫応答を最小限に留めることで効果的なウイルス増殖に寄与する宿主タンパク質であることが示された²⁹⁾.

Rab11 を介した RNP の細胞膜への輸送

生体における MuV の標的組織は耳下腺や脳脈絡叢, 膵臓といった上皮系組織が中心となる. 上皮組織は体の内と外を隔てるバリアであり, 各上皮細胞はタイトジャンクションと呼ばれる細胞間接着装置を介して細胞シートを形成する. タイトジャンクションによって, 物質の移動が制限されるため, 上皮細胞の細胞膜はタイトジャンクションを挟んで, 頂端側 (体外) と基底側 (生体内) に明確に区分され, それぞれへの物質輸送も厳密に制御されている. まず MDCK 細胞を用いて, 上皮細胞における MuV の増殖機構を解析した. Transwell プレートを用いて, 極性化させた MDCK 細胞に MuV を感染させると, 感染性ウイルスは 90% 以上が頂端側に放出され, 各ウイルスタンパク質 (N, M, HN タンパク質) も頂端側の細胞膜に蓄積することが示された. 次に RNP の頂端膜への輸送機構について検討した. 様々なマイナス鎖 RNA ウイルスの RNP の細胞膜への輸送には, リサイクリングエンドソームに局在する Rab11 が関与していることが知られている³⁰⁻³⁴⁾. そこで, MuV 感染における Rab11 に役割について, Rab11 のドミナントネガティブフォームである Rab11S25N 発現細胞を用いて検討した. Rab11S25N を発現する極性 MDCK 細胞において産生される MuV 粒子は, 野生型 Rab11WT 発現細胞と比較して, 有意に減少した. さらに Rab11WT 発現 MDCK 細胞で見られる N タンパク質の頂端膜への局在が, Rab11S25N 発現細胞では観察されなかった (図 4A). 興味深いことに, Rab11S25N 発現による RNP の細胞膜への輸送阻害およびウイルス粒子産生抑制は極性が成立していない MDCK 細胞では認められなかった. また微小管阻害剤である Nocodazole 処理によっても, RNP の頂端膜輸送および感染ウイルス産生が抑制されたことから (図 4B), Rab11 は極性細胞における微小管を介

したRNPの頂端膜輸送を促進することで、効率のよいウイルス増殖に寄与する宿主因子であることが示された³⁵⁾。

おわりに

日本では、無菌性髄膜炎などの副反応への懸念から、ムンプスワクチンの定期接種化は進んでいない。一方、Jeryl-Lynn/RIT-4385株の2回接種が導入されて久しい国々では、成人を中心としたアウトブレイクが散発しており、Jeryl-Lynn/RIT-4385両株の長期免疫には疑義が生じている³⁶⁾。このように、国内と海外におけるムンプスワクチンをめぐる課題は大きく異なっているものの、安全性と有効性を兼ね備えたワクチンが存在しないことが根底にある。新規ワクチン開発の目処が立っていない現状では、ムンプス対策の手段として治療薬も考慮に入れる必要がある。RNAウイルスに特異的酵素であるRdRpによるRNA合成過程は、抗ウイルス薬の標的として古くから注目されている。MuVのRNA合成機構やRNP輸送に関する我々の研究成果が抗ウイルス薬開発の一助となると期待し、また今後もムンプス制御に貢献できるような研究を続けていきたい。MuVが属するパラミクソウイルスは、多くの共通分子機構によって増殖することが知られている。そのため、抗MuV薬は既存のパラミクソウイルス感染症の制御だけでなく、今後起こりうる新興パラミクソウイルス感染症に対しても有効であると考えられる。同じくコウモリを起源とし、2021年現在世界的に猛威を振るう新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の例を見ても、将来を見据えた抗ウイルス薬開発が求められる。

謝辞

本稿の研究は、国立感染症研究所ウイルス第三部の竹田誠先生および木所稔先生のご指導のもと行った研究です。両先生にはムンプスウイルスの基本から研究の進め方まで、研究者として必要な様々なことをご教授いただきました。大阪大学微生物研究所の松浦先生の研究室では、ウイルス研究における分子生物学・細胞生物学の重要性を学び、それが現在の私の研究スタイルの礎になっています。また学部学生から大学院博士課程までご指導いただいた岐阜大学応用生物科学部の福士秀人先生には、研究の楽しさや奥深さを教えていただき、研究者を志すきっかけとなりました。その他多くの共同研究者の先生や同僚の先生、研究補助員の方々のご協力によって、本研究を行うことができました。この場をお借りして感謝申し上げます。

最後に、名誉ある本賞にご推薦いただきました竹田誠先生、松浦善治先生、福士秀人先生に厚く御礼申し上げます。

利益相反事項の開示

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Rima B, Balkema-Buschmann A, Dundon WG, Duprex P, Easton A, Fouchier R, Kurath G, Lamb R, Lee B, Rota P, Wang L, Ictv Report C. ICTV Virus Taxonomy Profile: Paramyxoviridae. *J. Gen. Virol.* 100:1593-1594, 2019.
- 2) Drexler JF, Corman VM, Muller MA, Maganga GD, Vallo P, Binger T, Gloza-Rausch F, Cottontail VM, Rasche A, Yordanov S, Seebens A, Knornschild M, Oppong S, Adu Sarkodie Y, Pongombo C, Lukashev AN, Schmidt-Chanasit J, Stocker A, Carneiro AJ, Erbar S, Maisner A, Fronhoffs F, Buettner R, Kalko EK, Kruppa T, Franke CR, Kallies R, Yandoko ER, Herrler G, Reusken C, Hassanin A, Kruger DH, Matthee S, Ulrich RG, Leroy EM, Drosten C. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nature communications* 3:796, 2012.
- 3) Rubin S, Eckhaus M, Rennick LJ, Bamford CG, Duprex WP. Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus. *J. Pathol.* 235:242-252, 2015.
- 4) Hviid A, Rubin S, Muhlemann K. Mumps. *Lancet* 371:932-944, 2008.
- 5) Almansour I. Mumps Vaccines: Current Challenges and Future Prospects. *Frontiers in microbiology* 11:1999, 2020.
- 6) Kitano T. Close the gap for routine mumps vaccination in Japan. *Hum. Vaccin. Immunother.* 17:205-210, 2021.
- 7) Lamb RA, Parks GD. *Paramyxoviridae: The Viruses and Their Replication*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p1449-1496, 2006.
- 8) Kubota M, Takeuchi K, Watanabe S, Ohno S, Matsuoka R, Kohda D, Nakakita SI, Hiramatsu H, Suzuki Y, Nakayama T, Terada T, Shimizu K, Shimizu N, Shiroishi M, Yanagi Y, Hashiguchi T. Trisaccharide containing a 2,3-linked sialic acid is a receptor for mumps virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113:11579-11584, 2016.
- 9) Kubota T, Yokosawa N, Yokota S, Fujii N. Association of mumps virus V protein with RACK1 results in dissociation of STAT-1 from the alpha interferon receptor complex. *J. Virol.* 76:12676-12682, 2002.
- 10) Yang Y, Zengel J, Sun M, Sleeman K, Timani KA, Aligo J, Rota P, Wu J, He B. Regulation of Viral RNA Synthesis by the V Protein of Parainfluenza Virus 5. *J. Virol.* 89:11845-11857, 2015.
- 11) Duc-Nguyen H, Rosenblum EN. Immuno-electron microscopy of the morphogenesis of mumps virus. *J. Virol.* 1:415-429, 1967.
- 12) Norrby E, Marusyk H, Orvell C. Morphogenesis of respiratory syncytial virus in a green monkey kidney cell line (Vero). *J. Virol.* 6:237-242, 1970.
- 13) Geisbert TW, Jahrling PB. Differentiation of filoviruses by electron microscopy. *Virus Res.* 39:129-150, 1995.
- 14) Lahaye X, Vidy A, Pomier C, Obiang L, Harper F, Gaudin Y, Blondel D. Functional characterization of

- Negri bodies (NBs) in rabies virus-infected cells: Evidence that NBs are sites of viral transcription and replication. *J. Virol.* 83:7948-7958, 2009.
- 15) Heinrich BS, Cureton DK, Rahmeh AA, Whelan SP. Protein expression redirects vesicular stomatitis virus RNA synthesis to cytoplasmic inclusions. *PLoS Pathog.* 6:e1000958, 2010.
 - 16) Nikolic J, Le Bars R, Lama Z, Scrima N, Lagaudrière-Gesbert C, Gaudin Y, Blondel D. Negri bodies are viral factories with properties of liquid organelles. *Nature communications* 8:58, 2017.
 - 17) Heinrich BS, Maliga Z, Stein DA, Hyman AA, Whelan SPJ. Phase Transitions Drive the Formation of Vesicular Stomatitis Virus Replication Compartments. *mBio* 9, 2018.
 - 18) Zhou Y, Su JM, Samuel CE, Ma D. 2019. Measles Virus Forms Inclusion Bodies with Properties of Liquid Organelles. *J. Virol.* 93:e00948-19, 2019.
 - 19) Katoh H, Kubota T, Kita S, Nakatsu Y, Aoki N, Mori Y, Maenaka K, Takeda M, Kidokoro M. Heat Shock Protein 70 Regulates Degradation of the Mumps Virus Phosphoprotein via the Ubiquitin-Proteasome Pathway. *J. Virol.* 89:3188-3199, 2015.
 - 20) Geller R, Taguwa S, Frydman J. 2012. Broad action of Hsp90 as a host chaperone required for viral replication. *Biochim. Biophys. Acta* 1823:698-706, 2012.
 - 21) Katoh H, Kubota T, Nakatsu Y, Tahara M, Kidokoro M, Takeda M. Heat Shock Protein 90 Ensures Efficient Mumps Virus Replication by Assisting with Viral Polymerase Complex Formation. *J. Virol.* 91:e02220-16, 2017.
 - 22) Carsillo T, Zhang X, Vasconcelos D, Niewiesk S, Oglesbee M. A single codon in the nucleocapsid protein C terminus contributes to in vitro and in vivo fitness of Edmonston measles virus. *J. Virol.* 80:2904-2912, 2006.
 - 23) Oglesbee MJ, Liu Z, Kenney H, Brooks CL. The highly inducible member of the 70 kDa family of heat shock proteins increases canine distemper virus polymerase activity. *J. Gen. Virol.* 77 (Pt 9):2125-2135, 1996.
 - 24) Bloyet LM, Welsch J, Enchery F, Mathieu C, de Breyne S, Horvat B, Grigorov B, Gerlier D. HSP90 Chaperoning in Addition to Phosphoprotein Required for Folding but Not for Supporting Enzymatic Activities of Measles and Nipah Virus L Polymerases. *J. Virol.* 90:6642-6656, 2016.
 - 25) Munday DC, Wu W, Smith N, Fix J, Noton SL, Galoux M, Touzelet O, Armstrong SD, Dawson JM, Aljabr W, Easton AJ, Rameix-Welti MA, de Oliveira AP, Simabuco FM, Ventura AM, Hughes DJ, Barr JN, Fearn R, Digard P, Eleouet JF, Hiscox JA. Interactome analysis of the human respiratory syncytial virus RNA polymerase complex identifies protein chaperones as important cofactors that promote L-protein stability and RNA synthesis. *J. Virol.* 89:917-930, 2015.
 - 26) Connor JH, McKenzie MO, Parks GD, Lyles DS. Antiviral activity and RNA polymerase degradation following Hsp90 inhibition in a range of negative strand viruses. *Virology* 362:109-119, 2007.
 - 27) Naito T, Momose F, Kawaguchi A, Nagata K. Involvement of Hsp90 in assembly and nuclear import of influenza virus RNA polymerase subunits. *J. Virol.* 81:1339-1349, 2007.
 - 28) Whelan SP, Barr JN, Wertz GW. Transcription and replication of nonsegmented negative-strand RNA viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 283:61-119, 2004.
 - 29) Katoh H, Sekizuka T, Nakatsu Y, Nakagawa R, Nao N, Sakata M, Kato F, Kuroda M, Kidokoro M, Takeda M. The R2TP complex regulates paramyxovirus RNA synthesis. *PLoS Pathog.* 15:e1007749, 2019.
 - 30) Eisfeld AJ, Kawakami E, Watanabe T, Neumann G, Kawaoka Y. RAB11A is essential for transport of the influenza virus genome to the plasma membrane. *J. Virol.* 85:6117-6126, 2011.
 - 31) Momose F, Sekimoto T, Ohkura T, Jo S, Kawaguchi A, Nagata K, Morikawa Y. Apical transport of influenza A virus ribonucleoprotein requires Rab11-positive recycling endosome. *PLoS One* 6:e21123, 2011.
 - 32) Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. Intracellular transport of the measles virus ribonucleoprotein complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. *J. Virol.* 87:4683-4693, 2013.
 - 33) Chambers R, Takimoto T. Trafficking of Sendai virus nucleocapsids is mediated by intracellular vesicles. *PLoS One* 5:e10994, 2010.
 - 34) Brock SC, Goldenring JR, Crowe JE, Jr. Apical recycling systems regulate directional budding of respiratory syncytial virus from polarized epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100:15143-15148, 2003.
 - 35) Katoh H, Nakatsu Y, Kubota T, Sakata M, Takeda M, Kidokoro M. Mumps Virus Is Released from the Apical Surface of Polarized Epithelial Cells, and the Release Is Facilitated by a Rab11-Mediated Transport System. *J. Virol.* 89:12026-12034, 2015.
 - 36) Connell AR, Connell J, Leahy TR, Hassan J. Mumps Outbreaks in Vaccinated Populations-Is It Time to Re-assess the Clinical Efficacy of Vaccines? *Front. Immunol.* 11:2089, 2020.

Functional analysis of host factors involved in mumps virus propagation

Hiroshi KATOH

Department of Virology III, National Institute of Infectious Diseases

Mumps virus (MuV) is the causative agent of mumps, a common childhood illness characterized by fever and swelling of the salivary glands. Like other viral infections, a number of host proteins are thought to involve in MuV infection. We have shown the function of several host factors in MuV infection. The chaperone proteins, heat shock protein 70 (Hsp70) and Hsp90, interact with the P and L proteins that form the polymerase complex and function in the protein quality control of these viral proteins, and thus they are essential host factors in MuV RNA synthesis. The R2TP complex is a host factor that contributes to effective viral propagation by precise regulation of viral RNA synthesis and evasion of host immune responses, and Rab11 is a host factor involved in viral RNP trafficking to the plasma membrane. This article summarizes the functions of host factors involved in MuV infection based on our researches.