

2. 脂質ラフトとインフルエンザウイルス —筏に乗ったウイルス膜蛋白—

竹 田 誠

九州大学大学院医学研究院ウイルス学

細胞膜の脂質は均一な二次元の流体を形成しているのではなくて、脂質ラフトと呼ばれるスフィンゴ(糖)脂質とコレステロールに富んだ微少な膜ドメインを形成して、細胞膜の機能発現に積極的に関わっている。近年、多くのウイルスがその脂質ドメインを利用して増殖していることが明らかになってきた。インフルエンザウイルスのふたつの膜貫通型糖蛋白ヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼは、ともに、ラフトへの親和性を持っているが、HAが、ラフトへの親和性を介して、膜上でクラスターを形成することが示された。ラフトへの親和性を欠いたHA蛋白をもつ組換えインフルエンザウイルスは、粒子中のHA含有量が少なく、細胞膜との融合能が低下するため感染性が低く、複製効率が顕著に低下している。すなわち、インフルエンザウイルスが、脂質ラフトを、HA蛋白の集積装置として、また、出芽部位への能率的な輸送装置として利用することにより、効率良く複製することが明らかとなった。

1. はじめに

細胞の脂質二重膜は、二次元の流体を形成し、その脂質膜をいわばモルタルにして、膜蛋白がモザイク状に埋め込まれ、その流体中を側方へと自由に動き回り様々な膜機能を発揮するという「流動モザイクモデル」は、細胞膜の基本構造を良く表したものであり、これまで広く受け入れられてきた¹⁾。しかしながら、ともすると、細胞膜の脂質成分は、実際に膜機能を担う膜蛋白の二次元の溶媒にすぎないという印象を与えがちでもある。近年提唱された脂質からなる機能ドメイン「脂質ラフト」の概念²⁾は、細胞膜の機能発現に脂質が積極的に関与していることを述べたものであり、「流動モザイクモデル」に新たな概念を加えることにより、細胞膜の機能発現のための構造的な背景をさらに明らかにしたものであると言える。その新たな細胞膜の概念は、細胞の膜輸送や情報伝達の理解に重大な影響を与えつつ、また、同時にウイルスの生活環そして感染性に細胞膜脂質が、大いに関係しうることを示唆している。

2. 脂質ラフトの提唱

細胞膜脂質は、リン脂質、糖脂質、ステロール群に大別される。リン脂質、糖脂質のもつ二本の炭化水素鎖(脂肪酸)の不飽和度が、膜の流動性を決める大きな要因のひとつである。リン脂質のうちグリセロ脂質は、通常ひとつの脂肪酸がシス型二重結合を含む不飽和脂肪酸であり、その構造上のねじれのために、隣り合う脂質どうしの相互作用が弱く、膜が高い流動性をもつことに貢献している。一方、スフィンゴ脂質の脂肪酸は共に飽和型であり、隣り合う脂質が近接するために安定化され膜の流動性が減少する。糖脂質の大部分を占めるスフィンゴ糖脂質もまた、スフィンゴ脂質と同様に不飽和脂肪酸を持たないため、膜の流動性を低下させる。ステロールの主要なものであるコレステロールは、リン脂質や糖脂質の間にはまり込み、膜の流動性を低下させている。Simonsらは、細胞膜には、スフィンゴ(糖)脂質とコレステロールを多く含むために安定で、TritonX-100などの非イオン性界面活性剤に低温下で不溶性の膜ドメインがあること、そして、そのドメインがシグナル伝達に関わる蛋白群が会合する場であり、細胞の膜輸送やシグナル伝達の中心的な役割を果たしていることを示し、そのドメインをシグナル伝達のプラットフォームであり、細胞膜の中に浮かびさまざまな膜蛋白を乗せて機能する筏(いかだ、脂質ラフト)であるとの考えを提唱した

連絡先

〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1
TEL: 092-642-6138
FAX: 092-642-6140
E-mail: mtakeda@virology.med.kyushu-u.ac.jp

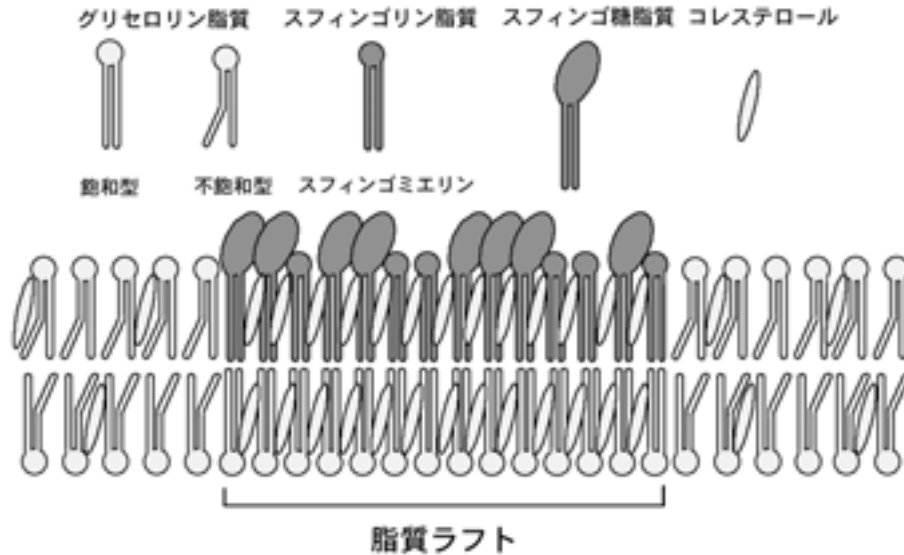


図1 脂質ラフトの構造モデル

細胞膜には、スフィンゴ脂質とコレステロールに富んだ微小な膜領域（脂質ラフト）が存在し、特定の膜蛋白を選択的に会合させることにより、細胞のシグナル伝達や膜輸送に関わっている。二本の飽和型脂肪酸を尾部にもつ脂質が集合し、さらにコレステロールを多く含むため安定で、1%の TritonX-100などの非イオン性界面活性剤に対して低温下で不溶性である。

(図1)⁴¹⁾。脂質ラフトのサイズが約30-50nmであり約10-30の蛋白分子を含むことができると報告されているが^{15, 36, 48)}、ラフトは常に大きさや形を変えて、また会合する蛋白を変化させる動的な構造体であるということを常に考慮しておかなければならない。

3. 脂質ラフトとウイルス

細胞が本来備えた脂質分子を介した蛋白輸送やシグナル情報伝達の制御機能を、その細胞の機能に依存して増殖するウイルスが、何らかの関わりを持って利用しているであろうことが予想される。実際に、受容体への結合と侵入、ゲノムの複製、そしてウイルス蛋白の輸送、集合、出芽に至るまで、生活環のありとあらゆる段階でウイルスとラフトとの関係が指摘されている^{6, 9, 13, 28, 45)}。表1にその主要なものを示したが、レトロウイルス、RNAウイルス、DNAウイルス、そして、エンベロープウイルス、非エンベロープウイルスに拘わらず様々なウイルスが、脂質ラフトと関わっていることが分かる。本総説では、このうちインフルエンザウイルスと脂質ラフトについてのこれまでの知見を紹介する。

4. インフルエンザウイルスの膜糖蛋白はラフトに集積する

インフルエンザ A ウイルス（以下インフルエンザウイルス）は、8本に分節された一本鎖のマイナス鎖 RNA を

表1 ラフトを利用するウイルス

ウイルス	ラフトの関与するステップ	文献
HIV	集合・出芽 侵入	24, 31, 33 27, 35
HTLV-1	膜融合 集合	32 14
マウス白血病ウイルス	侵入	25
インフルエンザウイルス	集合・出芽	39, 46, 51
麻疹ウイルス	集合	26, 49
センダイウイルス	集合	1
RSウイルス	集合	7, 16
エボラウイルス	集合	3, 34
マーブルグウイルス	集合	3
C型肝炎ウイルス	RNA 合成	40
ロタウイルス	集合	37
エコーウイルス11	侵入	43
コクサッキーウイルス A 9	侵入	47
ヒト単純ヘルペスウイルス	侵入 集合	4 23

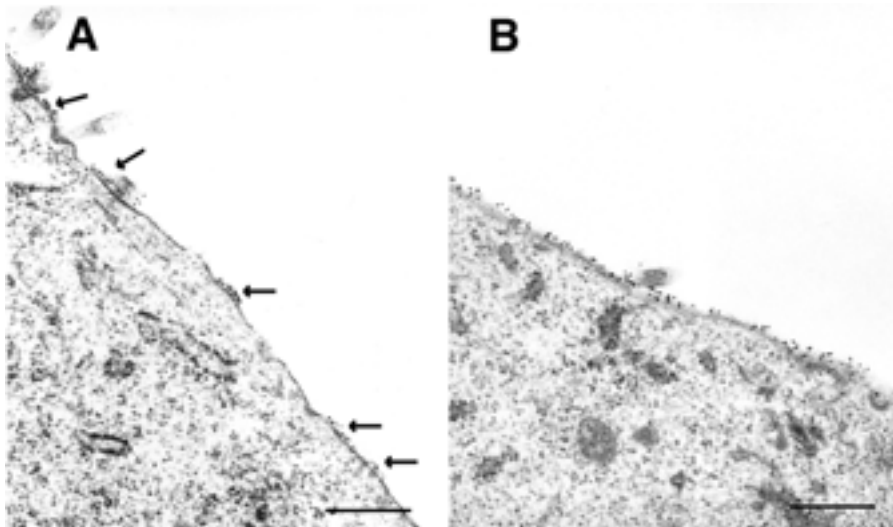


図2 野生型およびラフトへの親和性を持たない変異 HA 蛋白を持ったインフルエンザウイルスを感染させた MDCK 細胞の電顕像。
HA 蛋白特異的モノクローナル抗体と15nm の金粒子で標識した二次抗体で HA の分布を解析した。野生型 HA 蛋白は、脂質ラフトに親和性を持ち、細胞膜上でクラスター(矢印)を形成して発現している (A)。ラフトへの親和性を持たない変異 HA 蛋白は、クラスター形成能を欠き、膜上にはほぼ均一に分布している (B)。実線は500nm を示す。(図は、文献46より引用)

ゲノムにもったエンベロープウイルスである。そのエンベロープにはふたつの膜貫通型糖蛋白ヘマグルチニン (HA) とノイラミニダーゼ (NA) がスパイク状に並んでいる。HA は受容体であるシアル酸に結合し、ウイルスエンベロープと細胞膜との融合を担う感染に必須の蛋白である。一方 NA は、シアル酸を分解してウイルス粒子を細胞から遊離する働きを持っている。それらふたつのウイルス糖蛋白は、ともに脂質ラフトに親和性を持ち、その親和性の保持には各々の膜貫通領域のアミノ酸構造が重要である^{2,30,38,46}。特に、脂質二重膜の外膜を貫くと予想される領域のアミノ酸構造の重要性が高いようである^{2,30,38,46}。膜貫通領域に加えて各々の細胞内領域が、ラフトへの親和性の保持に貢献していることが示されている⁵¹。さらに、HA がラフトへ親和性を持つためには、その膜貫通領域および細胞内領域にある3つのシステイン残基が、飽和脂肪酸修飾 (パルミチン酸化) を受けている必要があることが示されている^{29,51}。このように、インフルエンザウイルスの糖蛋白は、脂質ラフトへの親和性を獲得するように進化してきたと考えられる。

その HA と NA は、極性のある細胞では、ともに細胞のアピカル側へと選択的に輸送される性質をもっている。そして、その輸送にはコレステロールが必要であることから、ラフトへの親和性とその極性輸送を制御している可能性が示唆された¹⁹。しかしながら、その選択的な輸送とラフトへの結合とは明らかな相関はみられず、それら糖蛋白の極性輸送には、ラフトを介する膜輸送では充分には説

明できない別のメカニズムがあるようである^{2,30,38,46,51}。

5. HA の脂質ラフトへの親和性がウイルスの複製能を増強する

脂質ラフトに親和性を持つという HA 糖蛋白の性質は、ウイルスの複製や感染性に重要であろうか。先に述べた HA の3箇所のシステインを別のアミノ酸に置換するとラフトへの親和性に必要なパルミチン酸修飾が起こらず、ラフトへの親和性が失われると予想される。しかしながら、そのような変異を導入した組換えインフルエンザウイルスが、培養細胞で増殖できることが示されている¹⁸。では、ウイルス糖蛋白が、ラフトに親和性を持つことは、ウイルスの複製には、あまり重要ではないのであろうか。われわれは、H3N2型インフルエンザウイルスの HA の膜貫通領域に系統的なアラニン置換を導入して、HA のラフトへの親和性を変化させた9種の組換えインフルエンザウイルスを作製して、その増殖能を解析した⁴⁶。その結果、HA のラフトへの親和性とウイルスの増殖能とは密接な相関があることが示され、HA がラフトに親和性をもつことが、インフルエンザウイルスが効率良く増殖するために必要であることが明らかとなった⁴⁶。

6. HA 蛋白の膜融合と脂質ラフト

HA は、インフルエンザウイルスが、細胞に感染する際に、細胞表面の受容体 (シアル酸) に結合し、エンドゾームに取込まれた後、ウイルス膜とエンドゾーム膜との融合

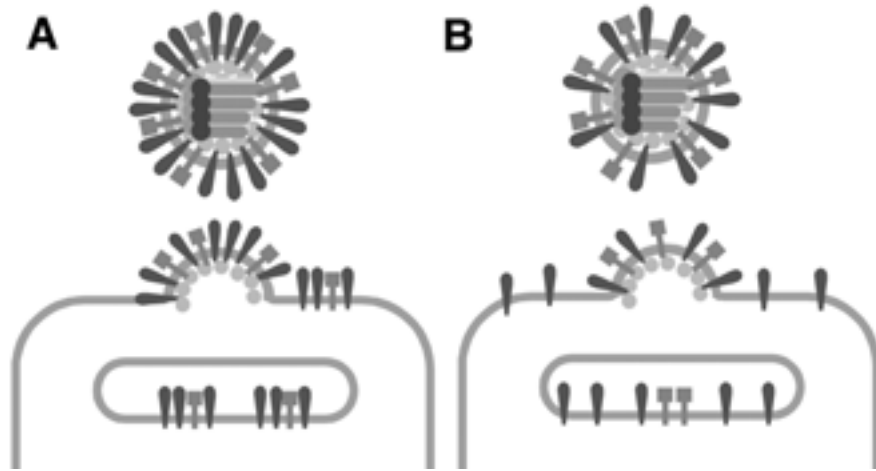


図3 ラフトを介したインフルエンザウイルスの粒子形成モデル

HA, NA 両ウイルス膜蛋白は, ゴルジ装置を経由して細胞膜上へと輸送される. 両膜蛋白は, 脂質ラフトに親和性をもつことにより, ゴルジ装置内でクラスターを形成しつつ, 膜表面へと輸送される (A). 特定領域に高濃度にウイルス膜蛋白を集積させることにより, 粒子形成能を高めるとともに, 効率良くウイルス膜蛋白を粒子中に取り込み, 出芽するウイルス粒子の感染能力を高めている (A). ラフトへの親和性を欠いた変異 HA 蛋白は, 膜上に均一に分布するため, 粒子中に取り込まれる効率が低くなっている (B).

を引き起こす感染に必須の膜融合蛋白である. 三量体を一構造単位としており, ウイルス膜が, 細胞膜と融合するためには, 少なくとも3~6個のHA三量体が, 共同して働く必要があると考えられている^{5,11}. ヒト免疫不全ウイルス (HIV) での解析でも, 膜融合を引き起こすためには3~6個のEnv三量体が必要であると考えられており¹², それらEnv三量体に対して, 多くの受容体CD4分子と²¹, 4~6個の副受容体CCR5分子²⁰が, 必要であると考えられている. しかしながら, もし細胞膜を均一な二次元の流体と仮定すると, それらの分子が, 感染のごく限られた領域に, 膜融合を引き起こすために十分な数だけ集合する機会は少ないと考えられ²², 脂質ラフトを介してこれら受容体を感染局所へと集積させることが, HIVが効率良く膜融合を起こして細胞へと侵入するために重要であることが示されている³⁵.

HA蛋白が, 感染細胞上でクラスターを形成していることが, 古くから知られていたが¹⁰, そのクラスター形成が, ラフトへの親和性を持つことにより生じていることがわれわれの研究から明らかになった (図2)⁴⁶. ラフトへの親和性を欠いたHAを, 細胞膜上に発現させて膜融合能を解析すると, その能力が約60%に低下しているが⁴⁶, この低下は, HAがクラスター形成能を失ったためと考えることができる. しかしながら, 単純にHAを局所に集積すること以外に, ラフトを介して複数のHA三量体同士がさらなる高次構造を形成する可能性は否定できない. ウイルス粒子からラフトの必須構成成分であるコレステロールをメチルβシクロデキストリンで取り除くと, ウイルス

の感染性が大幅に低下することが示されている^{44,46}. Sunらは, その原因をウイルス粒子と細胞膜との融合の障害であろうとの報告をしている⁴⁴. その結果は, ラフトがHAを集積させること以外に, ウイルス膜と細胞膜との融合孔の形成に, 何らかの構造的な役割をもつ可能性を示唆しているが, その点については, まだ十分な結論は出ていない.

7. HA膜蛋白の能率的な輸送装置としての脂質ラフト

ラフトを介してHAが, 細胞膜上でクラスターを形成するという結果⁴⁶は, ウイルスの粒子形成を考える上でも重要である. 粒子形成過程においてウイルスが, どのようにして自身の構造蛋白を能率的に組み上げるのかについては, これまでほとんど分かっていなかった. 細胞膜の脂質が, 積極的に膜蛋白の局在を制御するという発見は, その謎に答えるための大きなヒントを与えてくれる. インフルエンザウイルスの粒子中の脂質組成は, ラフトの脂質組成に近く^{39,51}, インフルエンザウイルスが, ラフトを含んだ膜領域から選択的に出芽してくることを示唆している. このことは, インフルエンザウイルスの両膜蛋白HAとNAが共にラフトに親和性を持ち, そこに集積しているという観察とよくつじつまが合う^{2,38}. 一方, インフルエンザウイルスのもうひとつの膜蛋白であるM2イオンチャンネル蛋白は, ラフトへの親和性が低いことが示されているが^{46,51}, そのことがM2が細胞膜上に多量に発現されるにも関わらず, ほとんど粒子中に取り込まれないことに深く関わっているかもしれない⁵⁰.

ラフトへの親和性を持たない変異HA蛋白は, 膜上で

のクラスター形成能に欠け(図2), ウイルス粒子中へと取り込まれる効率が低下していることをわれわれは示した⁴⁶⁾. その結果は, ラフトへの親和性を獲得したHA蛋白が, 脂質ラフトという細胞膜の多機能筏に乗って効率良くウイルス粒子を組み上げて, その中へと取り込まれてゆくことを示唆している(図3). HAの取り込み量の減った変異ウイルスが, 細胞膜との融合能, すなわち細胞への侵入効率が低いことが示されており⁴⁶⁾, ラフトを介して, 高密度にHAを取り込むことにより, インフルエンザウイルスが, 高い感染性を獲得しているのが分かる.

8. おわりに

インフルエンザウイルスのHA糖蛋白を中心に, 脂質ラフトという機能性脂質膜ドメインが, ウイルスの増殖にどのように関わっているのかについて述べた. 現在のところ, 主として非イオン性界面活性剤 TritonX-100への非溶解性によって脂質ラフトとその他の膜領域が区分されている. しかしながら, 実際には, 脂質組成の微妙に異なる脂質ラフト様の, あるいは界面活性剤に比較的, 易溶性の機能ドメインも存在することが予想される¹⁷⁾. また, 現在, 脂質ラフトと総じて呼んでいるものの中にも, やはり脂質組成の異なる複数のドメインが存在していると考えられる²⁴⁾. 細胞膜脂質の機能を巧みに利用してウイルスが, その生活環を営んでいることがようやく分かりはじめてきた. 今後, 細胞膜脂質の機能の理解が進むとともに, これまで気付かれていなかったウイルス複製の, そして感染性獲得のための新たな仕組みが, 明らかにされてゆくことであろう.

謝 辞

多くの先生方の御厚意のもとで, 米国ノースウェスタン大学のロバート・ラム教授の御指導を受ける機会をいただきました. 永井美之先生, 倉田毅先生, 竹内薫先生, 杉浦互先生はじめ, 御援助下さいました先生方に厚く感謝申し上げます.

御校頂きました柳雄介教授, 執筆の機会を下さいました編集委員の先生方に感謝申し上げます.

ラム教授の教室に興味のある若い研究者の方には, 是非, PNASの彼のBiographyを読んでいただきたい⁸⁾.

文 献

- 1) Ali A, Nayak DP. Assembly of Sendai virus: M protein interacts with F and HN proteins and with the cytoplasmic tail and transmembrane domain of F protein. *Virology*. **276**: 289-303, 2000.
- 2) Barman S, Nayak DP. Analysis of the transmembrane domain of influenza virus neuraminidase, a type II transmembrane glycoprotein, for apical sorting and raft association. *J Virol*. **74**: 6538-6545, 2000.
- 3) Bavari S, Bosio CM, Wiegand E, Ruthel G, Will AB, Geisbert TW, Hevey M, Schmaljohn C, Schmaljohn A, Aman MJ. Lipid raft microdomains: a gateway for compartmentalized trafficking of Ebola and Marburg viruses. *J Exp Med*. **195**: 593-602, 2002.
- 4) Bender FC, Whitbeck JC, Ponce de Leon M, Lou H, Eisenberg RJ, Cohen GH. Specific association of glycoprotein B with lipid rafts during herpes simplex virus entry. *J Virol*. **77**: 9542-9552, 2003.
- 5) Blumenthal R, Sarkar DP, Durell S, Howard DE, Morris SJ. Dilation of the influenza hemagglutinin fusion pore revealed by the kinetics of individual cell-cell fusion events. *J Cell Biol*. **135**: 63-71, 1996.
- 6) Briggs JA, Wilk T, Fuller SD. Do lipid rafts mediate virus assembly and pseudotyping? *J Gen Virol*. **84**: 757-768, 2003.
- 7) Brown G, Rixon HW, Sugrue RJ. Respiratory syncytial virus assembly occurs in GM1-rich regions of the host-cell membrane and alters the cellular distribution of tyrosine phosphorylated caveolin-1. *J Gen Virol*. **83**: 1841-1850, 2002.
- 8) Brownlee, C. Biography of Robert A. Lamb. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **100**: 14607-14609, 2003.
- 9) Chazal N, Gerlier D. Virus entry, assembly, budding, and membrane rafts. *Microbiol Mol Biol Rev*. **67**: 226-237, 2003.
- 10) Compans RW, Dimmock NJ. An electron microscopic study of single-cycle infection of chick embryo fibroblasts by influenza virus. *Virology*. **39**: 499-515, 1969.
- 11) 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.
- 12) Doms RW, Trono D. The plasma membrane as a combat zone in the HIV battlefield. *Genes Dev*. **14**: 2677-2688, 2000.
- 13) Duncan MJ, Shin JS, Abraham SN. Microbial entry through caveolae: variations on a theme. *Cell Microbiol*. **4**: 783-791, 2002.
- 14) Feng X, Heyden NV, Ratner L. Alpha interferon inhibits human T-cell leukemia virus type 1 assembly by preventing Gag interaction with rafts. *J Virol*. **77**: 13389-13395, 2003.
- 15) Friedrichson T, Kurzchalia TV. Microdomains of GPI-anchored proteins in living cells revealed by crosslinking. *Nature*. **394**: 802-805, 1998.
- 16) Henderson G, Murray J, Yeo RP. Sorting of the respiratory syncytial virus matrix protein into detergent-resistant structures is dependent on cell-surface expression of the glycoproteins. *Virology*. **300**: 244-254, 2002.
- 17) Holm K, Weclawicz K, Hewson R, Suomalainen M. Human immunodeficiency virus type 1 assembly and lipid rafts: Pr55 (gag) associates with membrane domains that are largely resistant to Brij98 but sensitive to Triton X-100. *J Virol*. **77**: 4805-4817, 2003.
- 18) Jin H, Subbarao K, Bagai S, Leser GP, Murphy BR, Lamb RA. Palmitoylation of the influenza virus hemagglutinin (H3) is not essential for virus assembly or in-

- fectivity. *J Virol.* **70** : 1406–1414, 1996.
- 19) Keller P, Simons K. Cholesterol is required for surface transport of influenza virus hemagglutinin. *J Cell Biol.* **140** : 1357–1367, 1998.
 - 20) Kuhmann SE, Platt EJ, Kozak SL, Kabat D. Cooperation of multiple CCR 5 coreceptors is required for infections by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol.* **74** : 7005–7015, 2000.
 - 21) Layne SP, Merges MJ, Dembo M, Spouge JL, Nara PL. HIV requires multiple gp120 molecules for CD 4 –mediated infection. *Nature.* **346** : 277–279, 1990.
 - 22) Lee B, Sharron M, Montaner LJ, Weissman D, Doms RW. Quantification of CD 4, CCR 5, and CXCR 4 levels on lymphocyte subsets, dendritic cells, and differentially conditioned monocyte–derived macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **96** : 5215–5220, 1999.
 - 23) Lee GE, Church GA, Wilson DW. A subpopulation of tegument protein vhs localizes to detergent–insoluble lipid rafts in herpes simplex virus–infected cells. *J Virol.* **77** : 2038–2045, 2003.
 - 24) Lindwasser OW, Resh MD. Multimerization of human immunodeficiency virus type 1 Gag promotes its localization to barges, raft–like membrane microdomains. *J Virol.* **75** : 7913–7924, 2001.
 - 25) Lu X, Silver J. Ecotropic murine leukemia virus receptor is physically associated with caveolin and membrane rafts. *Virology.* **276** : 251–258, 2000.
 - 26) Manie SN, Debreyne S, Vincent S, Gerlier D. Measles virus structural components are enriched into lipid raft microdomains : a potential cellular location for virus assembly. *J Virol.* **74** : 305–311, 2000.
 - 27) Manes S, del Real G, Lacalle RA, Lucas P, Gomez–Mouton C, Sanchez–Palomino S, Delgado R, Alcami J, Mira E, Martinez–A C. Membrane raft microdomains mediate lateral assemblies required for HIV–1 infection. *EMBO Rep.* **1** : 190–196, 2000.
 - 28) Manes S, del Real G, Martinez–A C. Pathogens : raft hijackers. *Nat Rev Immunol.* **3** : 557–568, 2003.
 - 29) Melkonian KA, Ostermeyer AG, Chen JZ, Roth MG, Brown DA. Role of lipid modifications in targeting proteins to detergent–resistant membrane rafts. Many raft proteins are acylated, while few are prenylated. *J Biol Chem.* **274** : 3910–3917, 1999.
 - 30) Nayak DP, Barman S. Role of lipid rafts in virus assembly and budding. *Adv Virus Res.* **58** : 1–28, 2002.
 - 31) Nguyen DH, Hildreth JE. Evidence for budding of human immunodeficiency virus type 1 selectively from glycolipid–enriched membrane lipid rafts. *J Virol.* **74** : 3264–3272, 2000.
 - 32) 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.
 - 33) Ono A, Freed EO. Plasma membrane rafts play a critical role in HIV–1 assembly and release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **98** : 13925–13930, 2001.
 - 34) Panchal RG, Ruthel G, Kenny TA, Kallstrom GH, Lane D, Badie SS, Li L, Bavari S, Aman MJ. In vivo oligomerization and raft localization of Ebola virus protein VP40 during vesicular budding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100** : 15936–15941, 2003.
 - 35) Popik W, Alce TM, Au WC. Human immunodeficiency virus type 1 uses lipid raft–colocalized CD 4 and chemokine receptors for productive entry into CD 4 (+) T cells. *J Virol.* **76** : 4709–722, 2002.
 - 36) Pralle A, Keller P, Florin EL, Simons K, Horber JK. Sphingolipid–cholesterol rafts diffuse as small entities in the plasma membrane of mammalian cells. *J Cell Biol.* **148** : 997–1008, 2000.
 - 37) Sapin C, Colard O, Delmas O, Tessier C, Breton M, Enouf V, Chwetzoff S, Ouanich J, Cohen J, Wolf C, Trugnan G. Rafts promote assembly and atypical targeting of a nonenveloped virus, rotavirus, in Caco–2 cells. *J Virol.* **76** : 4591–4602, 2002.
 - 38) Scheiffele P, Roth MG, Simons K. Interaction of influenza virus haemagglutinin with sphingolipid–cholesterol membrane domains via its transmembrane domain. *EMBO J.* **16** : 5501–5508, 1997.
 - 39) Scheiffele P, Rietveld A, Wilk T, Simons K. Influenza viruses select ordered lipid domains during budding from the plasma membrane. *J Biol Chem.* **274** : 2038–2044, 1999.
 - 40) Shi ST, Lee KJ, Aizaki H, Hwang SB, Lai MM. Hepatitis C virus RNA replication occurs on a detergent–resistant membrane that cofractionates with caveolin–2. *J Virol.* **77** : 4160–4168, 2003.
 - 41) Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature.* **387** : 569–572, 1997.
 - 42) Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science.* **175** : 720–731, 1972.
 - 43) Stuart AD, Eustace HE, McKee TA, Brown TD. A novel cell entry pathway for a DAF–using human enterovirus is dependent on lipid rafts. *J Virol.* **76** : 9307–9322, 2002.
 - 44) Sun X, Whittaker GR. Role for influenza virus envelope cholesterol in virus entry and infection. *J Virol.* **77** : 12543–12551, 2003.
 - 45) Suomalainen M. Lipid rafts and assembly of enveloped viruses. *Traffic.* **3** : 705–709, 2002.
 - 46) Takeda M, Leser GP, Russell CJ, Lamb RA. Influenza virus hemagglutinin concentrates in lipid raft microdomains for efficient viral fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100** : 14610–14617, 2003.
 - 47) Triantafilou K, Triantafilou M. Lipid raft microdomains : key sites for Cocksackievirus A 9 infectious cycle. *Virology.* **317** : 128–135, 2003.
 - 48) Varma R, Mayor S. GPI–anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface. *Nature.* **394** : 798–801, 1998.
 - 49) Vincent S, Gerlier D, Manie SN. Measles virus assembly within membrane rafts. *J Virol.* **74** : 9911–9915, 2000.
 - 50) Zebedee SL, Lamb RA. Influenza A virus M 2 protein : monoclonal antibody restriction of virus growth and detection of M 2 in virions. *J Virol.* **62** : 2762–2772, 1988.
 - 51) Zhang J, Pekosz A, Lamb RA. Influenza virus assem-

bly and lipid raft microdomains : a role for the cytoplasmic tails of the spike glycoproteins. *J Virol.* **74** :

4634–644, 2000.

Lipid Raft and Influenza Virus **—Viral Glycoproteins on a Raft—**

Makoto Takeda

Department of Virology, Faculty of Medicine, Kyushu University,
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan
E-mail : mtakeda@virology.med.kyushu-u.ac.jp

Lipid molecules of the plasma membrane are not distributed homogeneously, but form a lateral organization resulting from preferential packaging of sphingolipid and cholesterol into lipid microdomain rafts, in which specific membrane proteins become incorporated. Evidence has accumulated that a variety of viruses including influenza virus use the raft during some steps of their replication cycles. Influenza virus glycoproteins, hemagglutinin (HA) and neuraminidase, associate intrinsically with the rafts. The HA protein is distributed in clusters at the plasma membrane and concentrated in the small area by interacting with the raft. A mutant influenza virus, whose HA protein lacks the ability to associate with the raft, contains reduced amounts of the HA proteins and exhibits a decreased virus to cell fusion activity, resulting in greatly reduced infectivity. Thus, the raft may play an important role in virus production by acting as a concentrating device or an efficient carrier to transport the HA protein to the site of virus budding.