

## 2. ラブドウイルス

西園 晃<sup>1,2)</sup>, 山田 健太郎<sup>2)</sup>

大分大学<sup>1)</sup> 医学部微生物学,<sup>2)</sup> 全学研究推進機構

ラブドウイルス科のウイルス粒子形態は特徴的な砲弾型もしくは桿菌型を呈し、そのゲノムは非分節一本鎖マイナス鎖の RNA で、その全長は約 11 ~ 16 kb である。ラブドウイルスは RNA ウィルスの中でもその種類および多様性に富むウィルスで、哺乳類から植物に至るまで実に幅広い宿主から分離されている。ラブドウイルスのゲノムには共通して 3' 端より順番に 5 つの構造蛋白質遺伝子 (N, P, M, G および L 蛋白質遺伝子) がコードされており、加えてウィルス種によってはアクセサリ遺伝子が認められる。ラブドウイルス科のウィルスに関するウィルス学的知見のほとんどは、この科を代表する 2 つのウィルス、vesicular stomatitis virus (VSV: 水泡口炎ウィルス) と rabies virus (RABV: 狂犬病ウィルス) に関する研究から得られたものである。なかでも RABV を含むリッサウィルス属のウィルスは、病獣動物からの咬傷を介して哺乳動物や翼手目類に致死性の脳炎である狂犬病を発症させる原因ウィルスである。この総説では、これら 2 つのウィルスに関する最新知見を含めたウィルス学的特徴について述べる。

### はじめに

ラブドウイルス科 (*Rhabdoviridae*) はモノネガウィルス目 (*Mononegavirales*) に属し、マイナス鎖一本鎖非分節の RNA をゲノムとするウィルスで、RNA ウィルスの中でもその種類、宿主域など非常に多様性に富むウィルスからなる科で、哺乳類、有袋類、鳥類、爬虫類、魚類、昆虫、植物に至る幅広い宿主から分離される<sup>76)</sup>。その生息域は海洋、淡水、陸生環境にわたり、感染経路は宿主によっても異なるが、昆虫などのベクター、樹液を介した水平伝搬、エアロゾル、動物咬傷、汚染水の浸漬などによる。現在までに 200 を超えるラブドウィルスが同定されているものの、その詳細について明らかにされているのはごく一部に過ぎない<sup>23)</sup>。

これまでラブドウィルスの関するウィルス学的知見は、この科を代表する 2 つのウィルス vesicular stomatitis virus (VSV: 水泡口炎ウィルス) と rabies virus (RABV: 狂犬病ウィルス) に関する研究から得られてきたものが多い。特に VSV は、その宿主域の広さ、培養の容易さ、高いウィルス回収率、インターフェロン誘導能、抗ウィルス活性の評価などから基礎ウィルス学の発展に大きな寄与を果たしてきた。またシュードタイプウィルスやワクチンベクターとしての利用<sup>90, 118)</sup>、さらに最近では抗腫瘍効果を狙った治療薬としての可能性<sup>4, 125, 131)</sup>までその応用範囲は広い。一方、RABV は古来より知られた致死性の感染症「狂犬病」の病因として知られ、種痘と共にワクチン学における嚆矢にも位置づけられるウィルスである。さらに両ウィルスとも比較的早い時期に cDNA からの Reverse genetics 技術が確立され<sup>82, 122, 156)</sup>、ウィルスの各コード蛋白質の機能や病原性の解析に数多くの知見を提供してきた。

本稿では基礎ウィルス学の視点からラブドウィルスについての概説を行い、さらに本ウィルスの代表である RABV と VSV で得られた最新の知見なども併せて紹介する。

### ラブドウィルスの分類

ラブドウィルスは現在その構造と機能、抗原性、分子系統学的分類から 6 つの属 (*Lyssaviruses*, *Vesiculoviruses*,

### 連絡先

〒 879-5593

大分県由布市挾間町医大ケ丘 1-1

大分大学医学部微生物学講座

TEL: 097-586-5710

FAX: 097-586-5719

E-mail: a24zono@oita-u.ac.jp

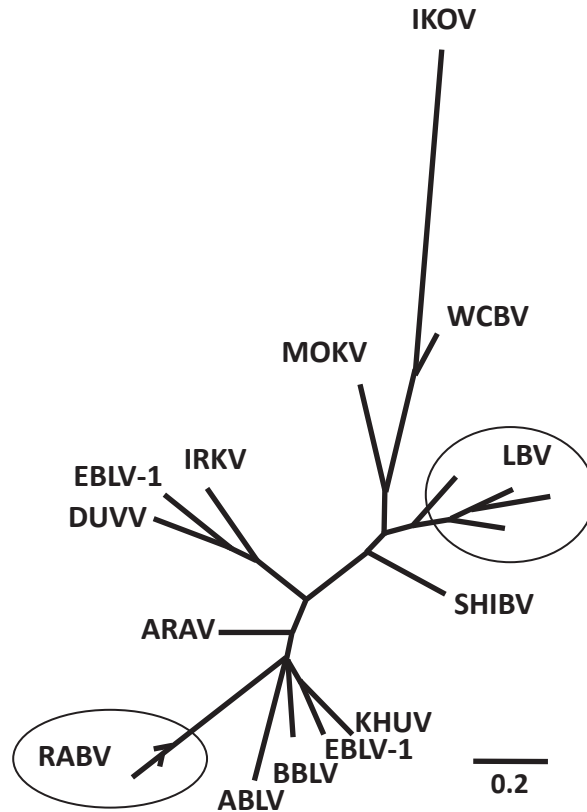


図1 リッサウイルス N 遺伝子の進化系統樹 (文献 94 より改変)

RABV, Rabies virus; LBV, Lagos bat virus; MOKV, Mokola virus; DUVV, Duvenhage virus; EBLV-1, European bat lyssavirus 1; EBLV-2, European bat lyssavirus 2; ABLV, Australian bat lyssavirus; ARAV, Aravan virus; KHUV, Khujand virus; IRKV, Irkut virus; WCBV, West-Caucasian bat virus; SHIBV, Shimoni bat virus; BBLV, Bokeloh bat lyssavirus; IKOV, Ikoma lyssavirus.

*Ephemeroviruses*, *Novirhabdoviruses*, *Cytorhabdoviruses*, *Nucleorhabdoviruses*) と提唱中の 2 つの属 (*Sigmavirus*, *Tibrovirus*), その他未分類の多くのウイルスから成る。

(1) リッサウイルス属 (*Lyssaviruses*)

リッサウイルス属には, RABV と狂犬病類似 (rabies-related) のリッサウイルスなど 14 種類が報告されている。リッサウイルスの自然界におけるリザーバーは翼手目 (吸血, 食虫, 食果コウモリ) や食肉類の動物 (イヌ, キツネ, アライグマ, スカンクなど) で, これらリザーバー以外にもヒトを含むほとんど全ての哺乳類に感染する。伝播は通常, ウイルスを含んだ唾液が咬傷部位から侵入することで起こり, ウイルスは末梢神経を上行し中枢神経系に侵入後は爆発的に増殖する。ヒトでも動物でも狂躁状態, 飲水困難や不穏, 麻痺などの特徴的な臨床症状を呈し, 最終的にはほとんど死に至る脳炎を引き起こす。ヒトにおける狂犬病は現在でも世界で毎年約 50,000 人前後が犠牲になっており, 特にアジアやアフリカの途上国で小児における犠牲者がいまだ後を絶たない<sup>15, 66, 155</sup>。原因動物として最も重要なのがイヌであり, これらの国々ではいかに狂犬病が恐ろ

しい病であるか, しかし動物からの咬傷を受けた場合でも適切な対処をすることで死に至らないことを広く周知させることが最も有効な狂犬病コントロールの手立てである。RABV 保有動物からの咬傷を受けた場合は, 受傷した傷の程度に応じて傷口の洗浄, ワクチンの投与, 抗狂犬病免疫グロブリンの投与などの曝露後発症予防の措置が取られる<sup>119</sup>。

RABV には野外で流行する street viruses (街上市毒) と動物の脳や培養細胞で継代することで潜伏期間を一定化させ, 末梢感染性を減弱させ中枢毒性のみを残した fixed viruses (固定毒) が知られる。非常に興味深いことに, RABV は中枢神経に侵入し臨床的に致死的な状態になっても明らかな病理学的な脳炎所見を認めないが, 一部弱毒株と呼ばれる ERA 株や SAD 株などの RABV ではウイルスが中枢神経系に侵入後, 脳内で炎症反応 (排除免疫) が惹起され致死的にいたらない場合も知られている。

その他のリッサウイルスに関しては, 1980 年代頃までに *Mokola virus*, *Lagos bat virus*, *Duvenhage virus*, *European bat lyssavirus 1*, *European bat lyssavirus 2*, *Australian bat lyssavirus* が報告されていたが<sup>140</sup>, 近年ユーラシア大陸, アフリカなどで次々と新種の *Lyssaviruses*

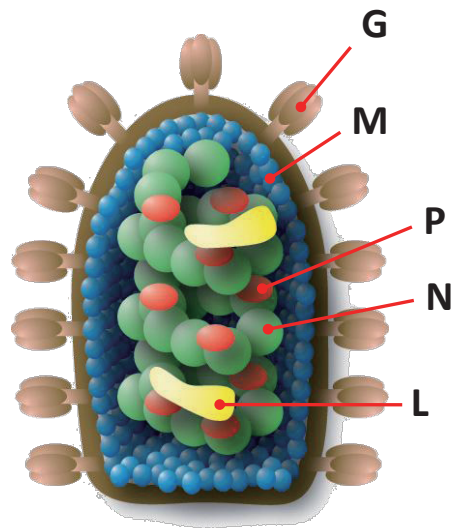


図2 狂犬病ウイルス粒子模式図

が報告されている。それらは *Aravan virus* (キルギスタン, 食虫コウモリ), *Khujand virus* (タジキスタン, 食虫コウモリ), *Irkut virus* (ロシア・イルクーツク, 食虫コウモリ), *West Caucasian bat virus* (ロシア・コーカサス地方, 食虫コウモリ)<sup>9, 74, 77</sup>などで, さらに最近では *Shimoini bat virus* (ケニヤ, 食虫コウモリ)<sup>75</sup>, *Bokeloh bat lyssavirus* (ドイツ, 食虫コウモリ)<sup>33</sup>, *Ikoma lyssavirus* (タンザニア, ジャコウネコ)<sup>93, 94</sup>などが報告されている。一部を除きこれらの多くがコウモリから分離されており, リッサウイルスのリザーバーとしてのコウモリの重要性が示唆され, RABV を含むリッサウイルス属は元来アフリカのコウモリに由来し, アフリカからユーラシア大陸へと多様な進化をとげてきたことが推察される<sup>3, 5, 106</sup>。これら RABV 以外のリッサウイルスの曝露において狂犬病曝露後発病予防治療が実験動物においては部分的に, また RABV と遺伝学的に近いほど有効であることが示されているが, ヒトにおいては不明な点も残る<sup>43</sup>。リッサウイルス属の進化系統樹を図1に示した。

## (2) ベジクロウイルス属 (*Vesiculoviruses*)

ベジクロウイルス属の VSV には主として3つの血清型 (*VSV Indiana virus*, *VSV New jersey virus*, *VSV Alagoas virus*) が知られ, いずれも節足動物で媒介されウシ, ブタ, ウマまれにヒトに水泡口炎を引き起こし, 畜産業にとっては重要な伝染性疾患である。その他哺乳類に感染するベジクロウイルスには, *Cocal virus*, *Piry virus*, *Carajas virus*, *Maraba virus* (おもにアメリカ), *Isfahan virus* (アジア), *Chandipura virus* (アジア, アフリカ) があり, これらは sand flies や black flies がそれらのベクターと考えられている<sup>17, 88</sup>。なかでも *Chandipura virus* は, 近年インドで

高い致死性をきたす脳炎の原因ウイルスとして報告された<sup>6, 115</sup>。さらにベジクロウイルスには, Spring viremia of carp virus (コイ春ウイルス血症ウイルス) など魚類を宿主とするものもある。

## (3) エフェメロウイルス属 (*Ephemeroviruses*)

エフェメロウイルス属は節足動物媒介性のラプトウイルスで, 主に反芻動物が感染し *Bovine ephemeral fever virus* (牛流行熱ウイルス) や *Kotonkan virus* などはウシや水牛に麻痺性の熱性疾患を引き起こすことが知られている<sup>64, 130</sup>。これら以外にも *Adelaide River virus*, *Obodhiang virus*, *Kimberley virus* などいずれもアルボウイルス (arbovirus) として以前は分類されていたものなどが含まれる。

## (4) ノビラブドウイルス属 (*Novirhabdoviruses*)

ノビラブドウイルス属は主に魚類を宿主とし, *Viral hemorrhagic septicemia virus* (ウイルス性出血性敗血症ウイルス), *Infectious hematopoietic necrosis virus* (伝染性臓器壊死症ウイルス), *Hirame rhabdovirus* (ヒラメラブドウイルス) などが知られ, 粘膜表面や皮膚を介してウイルスで汚染された海水などから感染し, サケ科の魚類に伝染性造血器壊死病やヒラメに腹水貯留を起こしたりする<sup>65, 153</sup>。

## (5) その他

*Cytorhabdovirus* 属と *Nucleorhabdovirus* 属のウイルスは植物に感染するラプトウイルスで, 前者は小胞体から, 後者は核膜から出芽し, レタス・小麦・イネ・ジャガイモ・トウモロコシなどに病害をもたらし, また植物ラプトウイルスの中には媒介昆虫の中で増殖できるものも存在する<sup>23, 46, 56</sup>。さらに, ショウジョウバエに感染し共進化をとげてきた

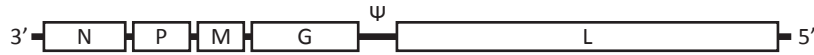
**Vesiculovirus**

*Vesicular stomatitis  
Indiana virus*



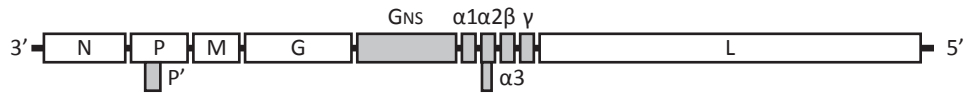
**Lyssavirus**

*Rabies virus*



**Ephemerovirus**

*Bovine ephemeral fever  
virus*



**Novirhabdovirus**

*Infectious  
hematopoietic necrosis  
virus*



**Cytorhabdovirus**

*Lettus necrotic yellows  
virus*



**Nucleorhabdovirus**

*Rice yellow stunt virus*



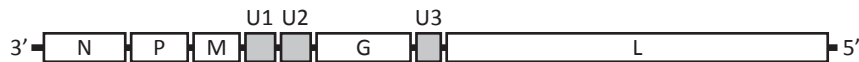
**Sigmavirus**

*Drosophila melanogaster  
sigma virus*



**Tibrovirus**

*Tibrogorgan virus*



**Unassigned**

*Tupaia virus*

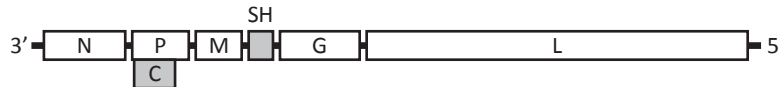


図3 ラブドウイルスのゲノム構造

*Sigmavirus*<sup>91)</sup> や、ツパイから分離された *Tupaia virus*<sup>129)</sup> など未分類のラブドウイルスがこれまでに数多く同定されているが、なかでも興味深いのが *Orchid fleck virus* (ランエゾ斑紋ウイルス) で、コード蛋白質などのいくつかの特徴はラブドウイルスと類似しているが、ゲノムは2分節のマイナス鎖RNAで桿菌型粒子構造でありながらもエンベロープを持たず、現在、このウイルスをタイプ種とする *Dichorhabdovirus* 属を新たに設けることが提案されている<sup>1, 67)</sup>。

ラブドウイルスの粒子構造とゲノム構造

ラブドウイルスの粒子構造は砲弾型もしくは桿菌型を示す。大きさは長径100~430 nmで、直径が45~100 nmである<sup>23)</sup>。RABV粒子構造の模式図を図2に示した。ラ

ブドウイルスはエンベロープを有し、G蛋白質はエンベロープを貫通してウイルス粒子表面に露出し、M蛋白質はエンベロープを裏打ちしている。ウイルス粒子中には、ゲノムRNAとウイルスN、PおよびL蛋白質により構成されるらせん形の ribonucleoprotein (RNP) 複合体が内包されている。最近の研究から、らせん形のRNP複合体は特徴的な10角形(VSV)または11角形(RABV)のリング状の高次構造をなしていることが明らかになっている<sup>2, 13, 55)</sup>。ラブドウイルスの特徴的な形態の成り立ちを理解するうえで、cryo-EMによるVSVの砲弾型構造の解析も最近報告され、VSVのビリオンは2層(外層はM蛋白質、内層はN蛋白質とウイルスRNA)の左巻きらせん構造から成っており、M蛋白質は近接するM蛋白質またはN蛋白質と4か所で接合する“M-hub domain”構造を有しており、こ



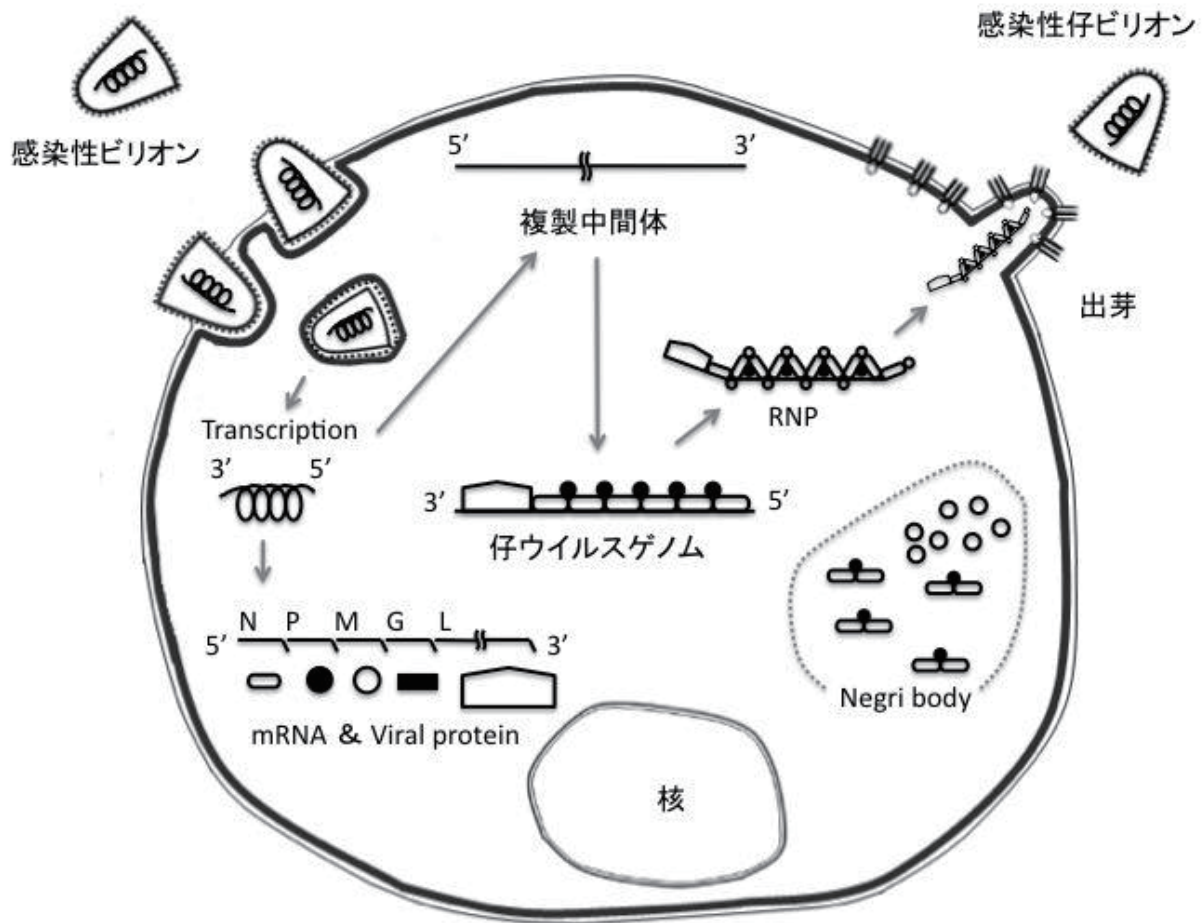


図4 RABVの複製プロセス

れによりヌクレオキャプシド本体と強固に密着できる、さらに隣同士のN蛋白質サブユニット同士の結合も砲弾型構造を保つためにも重要である<sup>38)</sup>。

ラブドウイルスのゲノム構造について図3に示す。ラブドウイルスのゲノムは11～16 kbで、いずれも5つの構造蛋白質(N, P, M, GおよびL)をコードしている。さらに、リッサウイルス属、ベジクロウイルス属以外のウイルスにはP-M, M-GおよびG-L遺伝子間にアクセサリー遺伝子が挿入されている(後述)。一方、リッサウイルス属のG-L遺伝子間には約400～500塩基ほどの非翻訳領域があり、Pseudogene ( $\psi$  gene)と呼ばれている<sup>40, 83, 120, 141)</sup>。

#### ラブドウイルスの複製機構

図4に代表例としてRABVの複製プロセスを示す。ウイルスの吸着過程に関わる、RABVの感受性細胞のレセプターとしていくつかの候補が挙げられてきたが、いまだに「特異的」と言えるものはない。その中で神経筋接合部のニコチン性アセチルコリンレセプター(nAChR)は良く知られたものである<sup>85, 86, 89)</sup>。しかし、nAChRを発現して

いない非神経系培養細胞などでもRABVは感染し、増殖することからこれ以外のレセプターの存在も予想され<sup>117)</sup>、Neural cell adhesion molecule (NCAM, CD56)<sup>139)</sup>とlow-affinity neurotrophin receptor (p75NTR)<sup>81, 144)</sup>がその候補として報告されている。一方、VSVは様々な細胞に感染可能で、そのレセプターについてはガングリオシドや小胞体シャペロンであるgp96が候補となっている<sup>8, 126)</sup>。ウイルスは細胞膜上のレセプターに結合後、被覆小胞やpinocytosisを介して細胞内に取り込まれ<sup>61, 132, 143)</sup>、その後G蛋白質を介して低pH下で(RABVの場合、pH約6.3でG蛋白質の構造変化が起こる<sup>26, 37)</sup>)エンベロープとエンドゾーム膜の融合が起こり、ゲノムを含むRNP複合体は細胞質内に放出される(脱殻)<sup>159)</sup>。

細胞質内に放出されたRNP複合体は、強固なコイル状構造をほどこきウイルスゲノムRNAの転写を開始する。VSVと同様RABVでも転写、複製にあたり、ゲノムの3'端と5'端に存在する短いleader (Le)配列とtrailer (Tr)配列が重要な役割を果たす<sup>19, 158)</sup>。Le配列からは55～58塩基の相補的(positive-strand)な非翻訳RNA産物(Le+)

が転写される。Le+ 転写物はキャップ構造も poly-A tail も有しておらず、感染細胞内では RNA ポリメラーゼ III の前駆転写物と密接にかかわる細胞質内 La 蛋白質と相互作用をする<sup>16,73,87</sup>。Le+ 転写物はウイルス RNA ゲノムからの mRNA の転写を制御していると考えられている<sup>161</sup>。ウイルスゲノム RNA からは N-, P-, M-, G-そして L-mRNA の順に monocistronic に mRNA が転写され、転写の際にポリメラーゼ複合体はコード領域間に存在する intergenic region を通過する際に、転写反応を停止しながら少しずつ RNP から解離し、その結果として順にウイルス遺伝子の転写産物量は減少していく<sup>29,31</sup>。一方、ゲノムの複製に関しては、ウイルスゲノムの 5' 端に存在する Tr 配列が、アンチゲノム RNA の複製の際の *cis*-acting element として機能し<sup>157</sup>、全長に亘る相補的な (positive-strand) 複製中間体 (RI)、さらにこれからウイルスゲノム RNA が合成される。

上記のようなウイルス特異的転写・翻訳およびゲノム複製が進行し、ウイルス蛋白質とウイルスゲノム RNA が細胞質内で十分に蓄積すると、RNP 複合体が形成され、細胞膜直下にて M 蛋白質と G 蛋白質とともに再集合し、M 蛋白質の働きにより、成熟ウイルス粒子が細胞外へと出芽する (後述)。RABV 感染細胞では、ウイルスの転写・翻訳・複製の場である細胞質内封入体が観察され<sup>80</sup>、HE 染色像では好酸性細胞質内封入体 (Negri 小体) として観察される。最近では Negri 小体の形成に関しても、Toll-like receptor 3 や Hsp70 の関与が示唆され、「古くて新しい」研究対象として興味をもたれている<sup>79,102</sup>。

## ラブドウイルスの各蛋白質の機能

### (1) N 蛋白質 (Nucleoprotein)

N 蛋白質は約 50 kDa の蛋白質で、ウイルスゲノム RNA と結合してらせん状のヌクレオキャプシドを形成する<sup>2,42,123</sup>。N 蛋白質 1 分子につき 9 塩基の核酸と結合するが<sup>51,137</sup>、ゲノムの長さについてパラミクソウイルスの rule of 6 ほどの厳密性はない。N 蛋白質と結合した RNA は RNA 分解酵素に対して抵抗性を示す<sup>51,63</sup>。RABV の N 蛋白質第 389 位のセリン残基におけるリン酸化は P 蛋白質との結合性やウイルスの転写・複製の調節に関与している<sup>142,160,163</sup>。

最近、RABV の N 蛋白質が細胞質内 2 本鎖 RNA センサーである RIG-I を介した抗ウイルス遺伝子の発現誘導を回避する機能を持つことが報告されている<sup>95</sup>。

### (2) P 蛋白質 (Phosphoprotein)

P 蛋白質は約 30 ~ 40 kDa の蛋白質で、酵素活性はないがヌクレオキャプシドと L 蛋白質の結合を仲介する働きがある<sup>14,27,41,58,71,96,101,123,133</sup>。VSV の P 蛋白質には複数のリン酸化部位があり、ウイルスの転写・複製に関与している<sup>35,49,112</sup>。一方、RABV の P 蛋白質はほとんどリン酸

化されていない<sup>127</sup>。

RABV の P 蛋白質と相互作用する分子として細胞内モーター分子であるダイニンのサブユニットである LC8 が同定され<sup>57,116</sup>、神経細胞内におけるウイルスの軸索輸送への関与が示唆されたが、それを否定する結果が報告されている<sup>136</sup>。また、近年、RABV の P 蛋白質が抗インターフェロン活性を持つこと、すなわち、IRF-3 のリン酸化を抑制、STAT-1 の核内移行を抑制することが明らかにされた<sup>11,12,52,104,147</sup>。さらに、RABV の P 蛋白質からは rRNA の leaky scanning により下流の同じフレームの開始コドンから P2 ~ P5 の P 蛋白質アイソフォームが合成され、P3 が STAT1 と ISGF3 による転写開始および PML の機能を抑制することなども報告されている<sup>7,111,148</sup>。

一方、VSV の P 遺伝子からは P 蛋白質とは異なるフレームより C および C' 蛋白質が生合成される<sup>128</sup>。C および C' 蛋白質はヌクレオキャプシドと結合し、C' 蛋白質はウイルスポリメラーゼの mRNA 転写活性とその正確性を促進する<sup>113</sup>。一方で、C および C' 蛋白質は VSV の細胞での複製・増殖において必須ではない<sup>72</sup>。

### (3) M 蛋白質 (Matrix protein)

M 蛋白質は約 25 kDa の蛋白質で、様々な機能を有する。M 蛋白質は RNP と結合して、いわゆる砲弾型構造を形成する<sup>38,92,107,123</sup>。RABV において G 遺伝子を欠いても砲弾型粒子の形成が観察されるが<sup>98</sup>、M 遺伝子を欠いた場合では紐状のウイルスの形成が観察される<sup>99</sup>。また M 蛋白質には late domain が認められ、この領域を介した宿主分子との相互作用により、ウイルス粒子が細胞膜由来のエンベロープを纏い細胞外に出芽する。RABV の M 蛋白質には PPxY 配列が、VSV の M 蛋白質には PPxY と PSAP 配列が認められる<sup>20,44,50</sup>。しかし、VSV の出芽においては PPxY 配列が重要で、PSAP 配列は必須ではない<sup>50,59,108</sup>。加えて、M 蛋白質はウイルスの転写と複製を調節することも知られている<sup>18,28,30,54</sup>。

加えて、VSV の M 蛋白質は核膜孔を形成する Nup98 と結合し、宿主 mRNA の核外輸送を阻害することで、shut-off を起こす<sup>149</sup>。また、M 蛋白質は細胞にアポトーシスを引き起こすことが、RABV や他のリッサウイルスおよび VSV において示されている<sup>22,34,39,62,68-70,103</sup>。

### (4) G 蛋白質 (Glycoprotein)

G 蛋白質は 1 型膜蛋白質で、分子量は RABV と VSV では約 60 kDa である。G 蛋白質は単量体として合成された後、小胞体の内腔でアスパラギンの部位に N 型糖鎖が付加され、3 量体を形成し、ゴルジ装置での糖鎖の成熟を経て細胞膜へ輸送される<sup>36</sup>。前述のように、ウイルス粒子中において G 蛋白質は表面に露出しており、細胞への吸着・侵入 (受容体への結合、低 pH 依存性膜融合) に関与する。

パラミクソウイルスのF蛋白質やA型インフルエンザウイルスのHA蛋白質とは異なり、ラウドウイルスは膜融合においてG蛋白質の開裂を必要としない<sup>21)</sup>。また、G蛋白質は中和抗体の標的でもある<sup>32, 84, 146)</sup>。RABVのG蛋白質はM蛋白質と結合し<sup>99, 105)</sup>、ウイルス粒子の放出促進に関与している<sup>98)</sup>。

RABVの病原性の違いへのG蛋白質の関与を示す報告がこれまでに数多くなされている。例を挙げると、第333位のアミノ酸残基がアルギニンもしくはリジンである場合には強毒型を示す<sup>24, 78, 124, 134, 145)</sup>。しかし、これに関しては例外も報告されている<sup>53, 121, 135)</sup>。一方、VSVのG蛋白質は極性を持った細胞においてbasolateral側に輸送される性質を持つことから、細胞内小胞輸送の研究によく使用されている<sup>10, 25, 45, 48, 138)</sup>。

### (5) L蛋白質 (Large protein)

L蛋白質は約240～250 kDaの巨大な蛋白質で、RNA依存性RNA合成酵素であると同時にmRNAのキャッピングやpoly-Aの合成も行い、他のモノネガウイルスのL蛋白質との間で比較的保存されたI～VIの6つの領域が認められる<sup>114)</sup>。RNA依存性RNA合成酵素の活性は領域IIIに認められ、mRNAのキャッピングは領域VとVIにより行われる。最近、VSVのL蛋白質によるmRNAのキャッピングは、真核細胞で認められるものとは異なり、GMPではなくGDPが使用されることが明らかにされている<sup>109, 110)</sup>。

### (6) アクセサリー蛋白質

図3に示したように、リッサウイルス属とベジクロウイルス属以外のラウドウイルスのゲノムにおいて、前述の5つの構造蛋白質に加えて、1～数個のアクセサリー蛋白質遺伝子が、主としてP-M、M-GおよびG-L遺伝子間に認められるが、その多くは機能未同定である。アクセサリー蛋白質について、部分的にはあるが特徴が判明しているものを中心に紹介する。

エフェメロウイルスのG<sub>NS</sub>蛋白質は60～90 kDaの1型膜蛋白質で、高度にN型糖鎖が付加されている<sup>151, 154)</sup>。G<sub>NS</sub>蛋白質はウイルス粒子には取り込まれない非構造蛋白質で<sup>150)</sup>、G蛋白質と異なり低pH依存性細胞膜融合能を持たない<sup>60)</sup>。α1蛋白質はすべてのエフェメロウイルスで認められ、機能未知であるが膜貫通領域を持ち、構造的にviroporinとして機能するのではないかと推測されている<sup>97, 152)</sup>。

植物ラウドウイルスにも様々なアクセサリー蛋白質が認められるが、そのほとんどが機能未知である。ヌクレオラウドウイルス属のRice yellow stunt virusのP3蛋白質はその機能が証明された数少ない例で、ウイルスの細胞間移行を担うことが明らかにされた<sup>47)</sup>。類似の二次構造を

持つアクセサリー蛋白質は他の植物ラウドウイルスにも認められている<sup>100)</sup>。

### RABVに関する最近の知見：G蛋白質とN型糖鎖

前述のように、RABVは街上毒と固定毒に大別される。固定毒は街上毒と比較して、潜伏期間の一定化と短縮化、末梢感染性の減弱等の性状変化が認められるが、それらを規定する分子基盤についてはほとんど分かっていなかった。最近、我々は1970年代に米国でウッドチャックより分離された街上毒1088株を用いて、G蛋白質へのN型糖鎖の追加が末梢感染性の減弱に関与することを明らかにした<sup>162)</sup>。すなわち、1088株のG蛋白質第194位へN型糖鎖が追加された変異株は、脳内接種においては親株と同様に成熟マウスに致死感染を起こすが、後肢筋肉内接種においてはその病原性が著しく減弱していた。さらにこの弱毒化は、宿主免疫応答を強く誘導することによることも明らかとなった。興味深いことに、街上毒G蛋白質にはN型糖鎖付加部位が1カ所（第319位）もしくは2カ所（第37位と第319位）しか認められないが、固定毒ではさらに1～2カ所（第158位、第204位もしくは第247位）のN型糖鎖付加部位が認められる。さらに我々は、これらのN型糖鎖追加が、培養細胞での増殖性亢進に関与すること（投稿中）、第247位にN型糖鎖が追加された1088株も末梢感染でのみ弱毒化すること（投稿準備中）を明らかにした。したがって、G蛋白質へのN型糖鎖の追加はRABVの固定毒化を規定する因子の一つではないかと我々は考えている。

### おわりに

RABVは感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成10年法律第114号）（感染症法）における第3種病原体（疾病分類4）のリッサウイルス属レイビーズウイルスに分類される。その取り扱いには感染症法第56条の16第2項の規定に基づき、届出を行うことが義務付けられ、取扱いに関して街上毒はBSL3施設、固定毒や弱毒株はBSL2で取り扱うことと定められている。

一方、VSVも家畜伝染病予防法（昭和26年法律第166号）第46条の19第1項本文の規定に基づいて届出を行うことが義務付けられており、その取り扱いに関しては定められたBSL基準を順守し、環境中への散逸などには十分な注意を払う必要がある。

### 参考文献

- 1) Adams, M. J., Christian, P., Ghabrial, S. A., Knowles, N. J., and Lavigne, R. 2011. Unassigned viruses, King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B., and Lefkowitz, E. J. (eds), Virus Taxonomy - 9th Report of the ICTV. Elsevier Academic Press.
- 2) Albertini, A. A., Wernimont, A. K., Muziol, T., Ravelli,



- R. B., Clapier, C. R., Schoehn, G., Weissenhorn, W., and Ruigrok, R. W.: Crystal structure of the rabies virus nucleoprotein-RNA complex. *Science* 313, 360-363, 2006.
- 3) Badrane, H., and Tordo, N.: Host switching in Lyssavirus history from the Chiroptera to the Carnivora orders. *J. Virol.* 75, 8096-8104, 2001.
  - 4) Balachandran, S., and Barber, G. N.: Vesicular stomatitis virus (VSV) therapy of tumors. *IUBMB Life* 50, 135-138, 2000.
  - 5) Banyard, A. C., Hayman, D., Johnson, N., McElhinney, L., and Fooks, A. R.: Bats and lyssaviruses. *Adv. Virus Res.* 79, 239-289, 2011.
  - 6) Basak, S., Mondal, A., Polley, S., Mukhopadhyay, S., and Chattopadhyay, D.: Reviewing Chandipura: a vesiculovirus in human epidemics. *Biosci. Rep.* 27, 275-298, 2007.
  - 7) Blondel, D., Regad, T., Poisson, N., Pavie, B., Harper, F., Pandolfi, P. P., De The, H., and Chelbi-Alix, M. K.: Rabies virus P and small P products interact directly with PML and reorganize PML nuclear bodies. *Oncogene* 21, 7957-7970, 2002.
  - 8) Bloor, S., Maelfait, J., Krumbach, R., Beyaert, R., and Randow, F.: Endoplasmic reticulum chaperone gp96 is essential for infection with vesicular stomatitis virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 6970-6975, 2010.
  - 9) Botvinkin, A. D., Poleschuk, E. M., Kuzmin, I. V., Borisova, T. I., Gazaryan, S. V., Yager, P., and Rupprecht, C. E.: Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 1623-1625, 2003.
  - 10) Brown, D. A., Crise, B., and Rose, J. K.: Mechanism of membrane anchoring affects polarized expression of two proteins in MDCK cells. *Science* 245, 1499-1501, 1989.
  - 11) Brzozka, K., Finke, S., and Conzelmann, K. K.: Identification of the rabies virus alpha/beta interferon antagonist: phosphoprotein P interferes with phosphorylation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 79, 7673-7681, 2005.
  - 12) Brzozka, K., Finke, S., and Conzelmann, K. K.: Inhibition of interferon signaling by rabies virus phosphoprotein P: activation-dependent binding of STAT1 and STAT2. *J. Virol.* 80, 2675-2683, 2006.
  - 13) Chen, Z., Green, T. J., Luo, M., and Li, H.: Visualizing the RNA molecule in the bacterially expressed vesicular stomatitis virus nucleoprotein-RNA complex. *Structure* 12, 227-235, 2004.
  - 14) Chenik, M., Schnell, M., Conzelmann, K. K., and Blondel, D.: Mapping the interacting domains between the rabies virus polymerase and phosphoprotein. *J. Virol.* 72, 1925-1930, 1998.
  - 15) Cleaveland, S., Fevre, E. M., Kaare, M., and Coleman, P. G.: Estimating human rabies mortality in the United Republic of Tanzania from dog bite injuries. *Bull. World Health Organ.* 80, 304-310, 2002.
  - 16) Colonna, R. J., and Banerjee, A. K.: Complete nucleotide sequence of the leader RNA synthesized in vitro by vesicular stomatitis virus. *Cell* 15, 93-101, 1978.
  - 17) Comer, J. A., and Tesh, R. B.: Phlebotomine sand flies as vectors of vesiculoviruses: a review. *Parassitologia* 33 Suppl, 143-150, 1991.
  - 18) Connor, J. H., McKenzie, M. O., and Lyles, D. S.: Role of residues 121 to 124 of vesicular stomatitis virus matrix protein in virus assembly and virus-host interaction. *J. Virol.* 80, 3701-3711, 2006.
  - 19) Conzelmann, K. K., and Schnell, M.: Rescue of synthetic genomic RNA analogs of rabies virus by plasmid-encoded proteins. *J. Virol.* 68, 713-719, 1994.
  - 20) Craven, R. C., Harty, R. N., Paragas, J., Palese, P., and Wills, J. W.: Late domain function identified in the vesicular stomatitis virus M protein by use of rhabdovirus-retrovirus chimeras. *J. Virol.* 73, 3359-3365, 1999.
  - 21) Da Poian, A. T., Carneiro, F. A., and Stauffer, F.: Viral membrane fusion: is glycoprotein G of rhabdoviruses a representative of a new class of viral fusion proteins? *Braz. J. Med. Biol. Res.* 38, 813-823, 2005.
  - 22) Desforgues, M., Despars, G., Berard, S., Gosselin, M., McKenzie, M. O., Lyles, D. S., Talbot, P. J., and Poliquin, L.: Matrix protein mutations contribute to inefficient induction of apoptosis leading to persistent infection of human neural cells by vesicular stomatitis virus. *Virology* 295, 63-73, 2002.
  - 23) Dietzgen, R. G., Calisher, C. H., Kurath, G., Kuzmin, I. V., Rodriguez, L. L., Stone, D. M., Tesh, R. B., Tordo, N., Walker, P. J., Wetzel, T., and Whitfield, A. E. 2011. Family Rhabdoviridae, King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B., and Lefkowitz, E. J. (eds), *Virus Taxonomy - 9th Report of the ICTV*. Elsevier Academic Press.
  - 24) Dietzschold, B., Wunner, W. H., Wiktor, T. J., Lopes, A. D., Lafon, M., Smith, C. L., and Koprowski, H.: Characterization of an antigenic determinant of the glycoprotein that correlates with pathogenicity of rabies virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 80, 70-74, 1983.
  - 25) Dotti, C. G., and Simons, K.: Polarized sorting of viral glycoproteins to the axon and dendrites of hippocampal neurons in culture. *Cell* 62, 63-72, 1990.
  - 26) Durrer, P., Gaudin, Y., Ruigrok, R. W., Graf, R., and Brunner, J.: Photolabeling identifies a putative fusion domain in the envelope glycoprotein of rabies and vesicular stomatitis viruses. *J. Biol. Chem.* 270, 17575-17581, 1995.
  - 27) Emerson, S. U., and Schubert, M.: Location of the binding domains for the RNA polymerase L and the ribonucleocapsid template within different halves of the NS phosphoprotein of vesicular stomatitis virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 84, 5655-5659, 1987.
  - 28) Finke, S., and Conzelmann, K. K.: Dissociation of rabies virus matrix protein functions in regulation of viral RNA synthesis and virus assembly. *J. Virol.* 77, 12074-12082, 2003.
  - 29) Finke, S., Cox, J. H., and Conzelmann, K. K.: Differential transcription attenuation of rabies virus genes by intergenic regions: generation of recombinant viruses overexpressing the polymerase gene. *J. Virol.* 74, 7261-7269, 2000.
  - 30) Finke, S., Mueller-Waldeck, R., and Conzelmann, K. K.:



- Rabies virus matrix protein regulates the balance of virus transcription and replication. *J. Gen. Virol.* 84, 1613-1621, 2003.
- 31) Flamand, A., and Delagneau, J. F.: Transcriptional mapping of rabies virus in vivo. *J. Virol.* 28, 518-523, 1978.
  - 32) Flamand, A., Raux, H., Gaudin, Y., and Ruigrok, R. W.: Mechanisms of rabies virus neutralization. *Virology* 194, 302-313, 1993.
  - 33) Freuling, C. M., Beer, M., Conraths, F. J., Finke, S., Hoffmann, B., Keller, B., Kliemt, J., Mettenleiter, T. C., Muhlbach, E., Teifke, J. P., Wohlsein, P., and Muller, T.: Novel lyssavirus in Natterer's bat, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1519-1522, 2011.
  - 34) Gaddy, D. F., and Lyles, D. S.: Vesicular stomatitis viruses expressing wild-type or mutant M proteins activate apoptosis through distinct pathways. *J. Virol.* 79, 4170-4179, 2005.
  - 35) Gao, Y., and Lenard, J.: Multimerization and transcriptional activation of the phosphoprotein (P) of vesicular stomatitis virus by casein kinase-II. *EMBO J.* 14, 1240-1247, 1995.
  - 36) Gaudin, Y.: Folding of rabies virus glycoprotein: epitope acquisition and interaction with endoplasmic reticulum chaperones. *J. Virol.* 71, 3742-3750, 1997.
  - 37) Gaudin, Y., Ruigrok, R. W., Knossow, M., and Flamand, A.: Low-pH conformational changes of rabies virus glycoprotein and their role in membrane fusion. *J. Virol.* 67, 1365-1372, 1993.
  - 38) Ge, P., Tsao, J., Schein, S., Green, T. J., Luo, M., and Zhou, Z. H.: Cryo-EM model of the bullet-shaped vesicular stomatitis virus. *Science* 327, 689-693, 2010.
  - 39) Gholami, A., Kassis, R., Real, E., Delmas, O., Guadagnini, S., Larrous, F., Obach, D., Prevost, M. C., Jacob, Y., and Bourhy, H.: Mitochondrial dysfunction in lyssavirus-induced apoptosis. *J. Virol.* 82, 4774-4784, 2008.
  - 40) Gould, A. R., Hyatt, A. D., Lunt, R., Kattenbelt, J. A., Hengstberger, S., and Blacksell, S. D.: Characterisation of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. *Virus Res.* 54, 165-187, 1998.
  - 41) Green, T. J., Macpherson, S., Qiu, S., Lebowitz, J., Wertz, G. W., and Luo, M.: Study of the assembly of vesicular stomatitis virus N protein: role of the P protein. *J. Virol.* 74, 9515-9524, 2000.
  - 42) Green, T. J., Zhang, X., Wertz, G. W., and Luo, M.: Structure of the vesicular stomatitis virus nucleoprotein-RNA complex. *Science* 313, 357-360, 2006.
  - 43) Hanlon, C. A., Kuzmin, I. V., Blanton, J. D., Weldon, W. C., Manangan, J. S., and Rupprecht, C. E.: Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia. *Virus Res.* 111, 44-54, 2005.
  - 44) Harty, R. N., Paragas, J., Sudol, M., and Palese, P.: A proline-rich motif within the matrix protein of vesicular stomatitis virus and rabies virus interacts with WW domains of cellular proteins: implications for viral budding. *J. Virol.* 73, 2921-2929, 1999.
  - 45) Henry, L., and Sheff, D. R.: Rab8 regulates basolateral secretory, but not recycling, traffic at the recycling endosome. *Mol. Biol. Cell* 19, 2059-2068, 2008.
  - 46) Hogenhout, S. A., Redinbaugh, M. G., and Ammar el, D.: Plant and animal rhabdovirus host range: a bug's view. *Trends Microbiol.* 11, 264-271, 2003.
  - 47) Huang, Y. W., Geng, Y. F., Ying, X. B., Chen, X. Y., and Fang, R. X.: Identification of a movement protein of rice yellow stunt rhabdovirus. *J. Virol.* 79, 2108-2114, 2005.
  - 48) Huber, L. A., Pimplikar, S., Parton, R. G., Virta, H., Zerial, M., and Simons, K.: Rab8, a small GTPase involved in vesicular traffic between the TGN and the basolateral plasma membrane. *J. Cell Biol.* 123, 35-45, 1993.
  - 49) Hwang, L. N., Englund, N., Das, T., Banerjee, A. K., and Pattanaik, A. K.: Optimal replication activity of vesicular stomatitis virus RNA polymerase requires phosphorylation of a residue(s) at carboxy-terminal domain II of its accessory subunit, phosphoprotein P. *J. Virol.* 73, 5613-5620, 1999.
  - 50) Irie, T., Licata, J. M., Jayakar, H. R., Whitt, M. A., Bell, P., and Harty, R. N.: Functional analysis of late-budding domain activity associated with the PSAP motif within the vesicular stomatitis virus M protein. *J. Virol.* 78, 7823-7827, 2004.
  - 51) Iseni, F., Barge, A., Baudin, F., Blondel, D., and Ruigrok, R. W.: Characterization of rabies virus nucleocapsids and recombinant nucleocapsid-like structures. *J. Gen. Virol.* 79, 2909-2919, 1998.
  - 52) Ito, N., Moseley, G. W., Blondel, D., Shimizu, K., Rowe, C. L., Ito, Y., Masatani, T., Nakagawa, K., Jans, D. A., and Sugiyama, M.: Role of interferon antagonist activity of rabies virus phosphoprotein in viral pathogenicity. *J. Virol.* 84, 6699-6710, 2010.
  - 53) Ito, N., Takayama, M., Yamada, K., Sugiyama, M., and Minamoto, N.: Rescue of rabies virus from cloned cDNA and identification of the pathogenicity-related gene: glycoprotein gene is associated with virulence for adult mice. *J. Virol.* 75, 9121-9128, 2001.
  - 54) Ito, Y., Nishizono, A., Mannen, K., Hiramatsu, K., and Mifune, K.: Rabies virus M protein expressed in *Escherichia coli* and its regulatory role in virion-associated transcriptase activity. *Arch. Virol.* 141, 671-683, 1996.
  - 55) Ivanov, I., Yabukarski, F., Ruigrok, R. W., and Jamin, M.: Structural insights into the rhabdovirus transcription/replication complex. *Virus Res.* 162, 126-137, 2011.
  - 56) Jackson, A. O., Dietzgen, R. G., Goodin, M. M., Bragg, J. N., and Deng, M.: Biology of plant rhabdoviruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, 623-660, 2005.
  - 57) Jacob, Y., Badrane, H., Ceccaldi, P. E., and Tordo, N.: Cytoplasmic dynein LC8 interacts with lyssavirus phosphoprotein. *J. Virol.* 74, 10217-10222, 2000.
  - 58) Jacob, Y., Real, E., and Tordo, N.: Functional interaction map of lyssavirus phosphoprotein: identification of the minimal transcription domains. *J. Virol.* 75, 9613-9622, 2001.
  - 59) Jayakar, H. R., Murti, K. G., and Whitt, M. A.: Mutations in the PPPY motif of vesicular stomatitis virus matrix protein reduce virus budding by inhibiting a

- late step in virion release. *J. Virol.* 74, 9818-9827, 2000.
- 60) Johal, J., Gresty, K., Kongsuwan, K., and Walker, P. J.: Antigenic characterization of bovine ephemeral fever rhabdovirus G and GNS glycoproteins expressed from recombinant baculoviruses. *Arch. Virol.* 153, 1657-1665, 2008.
- 61) Johannsdottir, H. K., Mancini, R., Kartenbeck, J., Amato, L., and Helenius, A.: Host cell factors and functions involved in vesicular stomatitis virus entry. *J. Virol.* 83, 440-453, 2009.
- 62) Kassis, R., Larrous, F., Estaquier, J., and Bourhy, H.: Lyssavirus matrix protein induces apoptosis by a TRAIL-dependent mechanism involving caspase-8 activation. *J. Virol.* 78, 6543-6555, 2004.
- 63) Keene, J. D., Thornton, B. J., and Emerson, S. U.: Sequence-specific contacts between the RNA polymerase of vesicular stomatitis virus and the leader RNA gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 78, 6191-6195, 1981.
- 64) Kemp, G. E., Lee, V. H., Moore, D. L., Shope, R. E., Causey, O. R., and Murphy, F. A.: Kotonkan, a new rhabdovirus related to Mokola virus of the rabies serogroup. *Am. J. Epidemiol.* 98, 43-49, 1973.
- 65) Kim, D. H., Oh, H. K., Eou, J. I., Seo, H. J., Kim, S. K., Oh, M. J., Nam, S. W., and Choi, T. J.: Complete nucleotide sequence of the hirage rhabdovirus, a pathogen of marine fish. *Virus Res.* 107, 1-9, 2005.
- 66) Knobel, D. L., Cleaveland, S., Coleman, P. G., Fevre, E. M., Meltzer, M. I., Miranda, M. E., Shaw, A., Zinsstag, J., and Meslin, F. X.: Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bull. World Health Organ.* 83, 360-368, 2005.
- 67) Kondo, H., Maeda, T., Shirako, Y., and Tamada, T.: Orchid fleck virus is a rhabdovirus with an unusual bipartite genome. *J. Gen. Virol.* 87, 2413-2421, 2006.
- 68) Kopecky, S. A., and Lyles, D. S.: The cell-rounding activity of the vesicular stomatitis virus matrix protein is due to the induction of cell death. *J. Virol.* 77, 5524-5528, 2003.
- 69) Kopecky, S. A., and Lyles, D. S.: Contrasting effects of matrix protein on apoptosis in HeLa and BHK cells infected with vesicular stomatitis virus are due to inhibition of host gene expression. *J. Virol.* 77, 4658-4669, 2003.
- 70) Kopecky, S. A., Willingham, M. C., and Lyles, D. S.: Matrix protein and another viral component contribute to induction of apoptosis in cells infected with vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 75, 12169-12181, 2001.
- 71) Kouznetzoff, A., Buckle, M., and Tordo, N.: Identification of a region of the rabies virus N protein involved in direct binding to the viral RNA. *J. Gen. Virol.* 79, 1005-1013, 1998.
- 72) Kretzschmar, E., Peluso, R., Schnell, M. J., Whitt, M. A., and Rose, J. K.: Normal replication of vesicular stomatitis virus without C proteins. *Virology* 216, 309-316, 1996.
- 73) Kurilla, M. G., Cabradilla, C. D., Holloway, B. P., and Keene, J. D.: Nucleotide sequence and host La protein interactions of rabies virus leader RNA. *J. Virol.* 50, 773-778, 1984.
- 74) Kuzmin, I. V., Hughes, G. J., Botvinkin, A. D., Orciari, L. A., and Rupprecht, C. E.: Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the Lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition. *Virus Res.* 111, 28-43, 2005.
- 75) Kuzmin, I. V., Mayer, A. E., Niezgodna, M., Markotter, W., Agwanda, B., Breiman, R. F., and Rupprecht, C. E.: Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. *Virus Res.* 149, 197-210, 2010.
- 76) Kuzmin, I. V., Novella, I. S., Dietzgen, R. G., Padhi, A., and Rupprecht, C. E.: The rhabdoviruses: biodiversity, phylogenetics, and evolution. *Infect. Genet. Evol.* 9, 541-553, 2009.
- 77) Kuzmin, I. V., Orciari, L. A., Arai, Y. T., Smith, J. S., Hanlon, C. A., Kameoka, Y., and Rupprecht, C. E.: Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Res.* 97, 65-79, 2003.
- 78) Lafay, F., Coulon, P., Astic, L., Saucier, D., Riche, D., Holley, A., and Flamand, A.: Spread of the CVS strain of rabies virus and of the avirulent mutant AvO1 along the olfactory pathways of the mouse after intranasal inoculation. *Virology* 183, 320-330, 1991.
- 79) Lahaye, X., Vidy, A., Fouquet, B., and Blondel, D.: Hsp70 protein positively regulates rabies virus infection. *J. Virol.* 86, 4743-4751, 2012.
- 80) Lahaye, X., Vidy, A., Pomier, C., Obiang, L., Harper, F., Gaudin, Y., and 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.
- 81) Langevin, C., Jaaro, H., Bressanelli, S., Fainzilber, M., and Tuffereau, C.: Rabies virus glycoprotein (RVG) is a trimeric ligand for the N-terminal cysteine-rich domain of the mammalian p75 neurotrophin receptor. *J. Biol. Chem.* 277, 37655-37662, 2002.
- 82) Lawson, N. D., Stillman, E. A., Whitt, M. A., and Rose, J. K.: Recombinant vesicular stomatitis viruses from DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 4477-4481, 1995.
- 83) Le Mercier, P., Jacob, Y., and Tordo, N.: The complete Mokola virus genome sequence: structure of the RNA-dependent RNA polymerase. *J. Gen. Virol.* 78, 1571-1576, 1997.
- 84) Lefrancois, L., and Lyles, D. S.: Antigenic determinants of vesicular stomatitis virus: analysis with antigenic variants. *J. Immunol.* 130, 394-398, 1983.
- 85) Lentz, T. L., Burrage, T. G., Smith, A. L., Crick, J., and Tignor, G. H.: Is the acetylcholine receptor a rabies virus receptor? *Science* 215, 182-184, 1982.
- 86) Lentz, T. L., Wilson, P. T., Hawrot, E., and Speicher, D. W.: Amino acid sequence similarity between rabies virus glycoprotein and snake venom curaremimetic neurotoxins. *Science* 226, 847-848, 1984.
- 87) Leppert, M., Rittenhouse, L., Perrault, J., Summers, D. F., and Kolakofsky, D.: Plus and minus strand leader

- RNAs in negative strand virus-infected cells. *Cell* 18, 735-747, 1979.
- 88) Letchworth, G. J., Rodriguez, L. L., and Del cbarraera, J.: Vesicular stomatitis. *Vet. J.* 157, 239-260, 1999.
  - 89) Lewis, P., Fu, Y., and Lentz, T. L.: Rabies virus entry at the neuromuscular junction in nerve-muscle cocultures. *Muscle Nerve* 23, 720-730, 2000.
  - 90) Lichty, B. D., Power, A. T., Stojdl, D. F., and Bell, J. C.: Vesicular stomatitis virus: re-inventing the bullet. *Trends Mol. Med.* 10, 210-216, 2004.
  - 91) Longdon, B., Obbard, D. J., and Jiggins, F. M.: Sigma viruses from three species of *Drosophila* form a major new clade in the rhabdovirus phylogeny. *Proc. Biol. Sci.* 277, 35-44, 2010.
  - 92) Lyles, D. S., McKenzie, M. O., Kaptur, P. E., Grant, K. W., and Jerome, W. G.: Complementation of M gene mutants of vesicular stomatitis virus by plasmid-derived M protein converts spherical extracellular particles into native bullet shapes. *Virology* 217, 76-87, 1996.
  - 93) Marston, D. A., Ellis, R. J., Horton, D. L., Kuzmin, I. V., Wise, E. L., McElhinney, L. M., Banyard, A. C., Ngeleja, C., Keyyu, J., Cleaveland, S., Lembo, T., Rupprecht, C. E., and Fooks, A. R.: Complete genome sequence of ikoma lyssavirus. *J. Virol.* 86, 10242-10243, 2012.
  - 94) Marston, D. A., Horton, D. L., Ngeleja, C., Hampson, K., McElhinney, L. M., Banyard, A. C., Haydon, D., Cleaveland, S., Rupprecht, C. E., Bigambo, M., Fooks, A. R., and Lembo, T.: Ikoma lyssavirus, highly divergent novel lyssavirus in an African civet. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 664-667, 2012.
  - 95) Masatani, T., Ito, N., Shimizu, K., Ito, Y., Nakagawa, K., Sawaki, Y., Koyama, H., and Sugiyama, M.: Rabies virus nucleoprotein functions to evade activation of the RIG-I-mediated antiviral response. *J. Virol.* 84, 4002-4012, 2010.
  - 96) Mavrakis, M., McCarthy, A. A., Roche, S., Blondel, D., and Ruigrok, R. W.: Structure and function of the C-terminal domain of the polymerase cofactor of rabies virus. *J. Mol. Biol.* 343, 819-831, 2004.
  - 97) McWilliam, S. M., Kongsuwan, K., Cowley, J. A., Byrne, K. A., and Walker, P. J.: Genome organization and transcription strategy in the complex GNS-L intergenic region of bovine ephemeral fever rhabdovirus. *J. Gen. Virol.* 78, 1309-1317, 1997.
  - 98) Mebatsion, T., Konig, M., and Conzelmann, K. K.: Budding of rabies virus particles in the absence of the spike glycoprotein. *Cell* 84, 941-951, 1996.
  - 99) Mebatsion, T., Weiland, F., and Conzelmann, K. K.: Matrix protein of rabies virus is responsible for the assembly and budding of bullet-shaped particles and interacts with the transmembrane spike glycoprotein G. *J. Virol.* 73, 242-250, 1999.
  - 100) Melcher, U.: The '30K' superfamily of viral movement proteins. *J. Gen. Virol.* 81, 257-266, 2000.
  - 101) Mellon, M. G., and Emerson, S. U.: Rebinding of transcriptase components (L and NS proteins) to the nucleocapsid template of vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 27, 560-567, 1978.
  - 102) Menager, P., Roux, P., Megret, F., Bourgeois, J. P., Le Sourd, A. M., Danckaert, A., Lafage, M., Prehaud, C., and Lafon, M.: Toll-like receptor 3 (TLR3) plays a major role in the formation of rabies virus Negri Bodies. *PLoS Pathog* 5, e1000315, 2009.
  - 103) Mita, T., Shimizu, K., Ito, N., Yamada, K., Ito, Y., Sugiyama, M., and Minamoto, N.: Amino acid at position 95 of the matrix protein is a cytopathic determinant of rabies virus. *Virus Res.* 137, 33-39, 2008.
  - 104) Moseley, G. W., Lahaye, X., Roth, D. M., Oksayan, S., Filmer, R. P., Rowe, C. L., Blondel, D., and Jans, D. A.: Dual modes of rabies P-protein association with microtubules: a novel strategy to suppress the antiviral response. *J. Cell Sci.* 122, 3652-3662, 2009.
  - 105) Nakahara, K., Ohnuma, H., Sugita, S., Yasuoka, K., Nakahara, T., Tochikura, T. S., and Kawai, A.: Intracellular behavior of rabies virus matrix protein (M) is determined by the viral glycoprotein (G). *Microbiol. Immunol.* 43, 259-270, 1999.
  - 106) Nel, L. H., and Rupprecht, C. E.: Emergence of lyssaviruses in the Old World: the case of Africa. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 315, 161-193, 2007.
  - 107) Newcomb, W. W., and Brown, J. C.: Role of the vesicular stomatitis virus matrix protein in maintaining the viral nucleocapsid in the condensed form found in native virions. *J. Virol.* 39, 295-299, 1981.
  - 108) Obiang, L., Raux, H., Ouldali, M., Blondel, D., and Gaudin, Y.: Phenotypes of vesicular stomatitis virus mutants with mutations in the PSAP motif of the matrix protein. *J. Gen. Virol.* 93, 857-865, 2012.
  - 109) Ogino, T., and Banerjee, A. K.: Formation of guanosine(5')tetraphospho(5')adenosine cap structure by an unconventional mRNA capping enzyme of vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 82, 7729-7734, 2008.
  - 110) Ogino, T., and Banerjee, A. K.: Unconventional mechanism of mRNA capping by the RNA-dependent RNA polymerase of vesicular stomatitis virus. *Mol. Cell* 25, 85-97, 2007.
  - 111) Padeloup, D., Poisson, N., Raux, H., Gaudin, Y., Ruigrok, R. W., and Blondel, D.: Nucleocytoplasmic shuttling of the rabies virus P protein requires a nuclear localization signal and a CRM1-dependent nuclear export signal. *Virology* 334, 284-293, 2005.
  - 112) Pattnaik, A. K., Hwang, L., Li, T., Englund, N., Mathur, M., Das, T., and Banerjee, A. K.: Phosphorylation within the amino-terminal acidic domain I of the phosphoprotein of vesicular stomatitis virus is required for transcription but not for replication. *J. Virol.* 71, 8167-8175, 1997.
  - 113) Peluso, R. W., Richardson, J. C., Talon, J., and Lock, M.: Identification of a set of proteins (C' and C) encoded by the bicistronic P gene of the Indiana serotype of vesicular stomatitis virus and analysis of their effect on transcription by the viral RNA polymerase. *Virology* 218, 335-342, 1996.
  - 114) Poch, O., Blumberg, B. M., Bougueleret, L., and Tordo, N.: Sequence comparison of five polymerases (L proteins) of unsegmented negative-strand RNA viruses: theoretical assignment of functional domains. *J. Gen.*



- Viol. 71, 1153-1162, 1990.
- 115) Rao, B. L., Basu, A., Wairagkar, N. S., Gore, M. M., Arankalle, V. A., Thakare, J. P., Jadi, R. S., Rao, K. A., and Mishra, A. C.: A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andhra Pradesh, India, in 2003, associated with Chandipura virus. *Lancet* 364, 869-874, 2004.
  - 116) Raux, H., Flamand, A., and Blondel, D.: Interaction of the rabies virus P protein with the LC8 dynein light chain. *J. Virol.* 74, 10212-10216, 2000.
  - 117) Reagan, K. J., and Wunner, W. H.: Rabies virus interaction with various cell lines is independent of the acetylcholine receptor. *Arch. Virol.* 84, 277-282, 1985.
  - 118) Rose, N. F., Publicover, J., Chattopadhyay, A., and Rose, J. K.: Hybrid alphavirus-rhabdovirus propagating replicon particles are versatile and potent vaccine vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 5839-5843, 2008.
  - 119) Rupprecht, C. E., Hanlon, C. A., and Hemachudha, T.: Rabies re-examined. *Lancet Infect. Dis.* 2, 327-343, 2002.
  - 120) Sacramento, D., Bourhy, H., and Tordo, N.: PCR technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus. *Mol. Cell. Probes* 5, 229-240, 1991.
  - 121) Sato, G., Kobayashi, Y., Motizuki, N., Hirano, S., Ito, T., Cunha, E. M., Ito, F. H., and Sakai, T.: A unique substitution at position 333 on the glycoprotein of rabies virus street strains isolated from non-hematophagous bats in Brazil. *Virus Genes* 38, 74-79, 2009.
  - 122) Schnell, M. J., Mebatsion, T., and Conzelmann, K. K.: Infectious rabies viruses from cloned cDNA. *EMBO J.* 13, 4195-4203, 1994.
  - 123) Schoehn, G., Iseni, F., Mavrakis, M., Blondel, D., and Ruigrok, R. W.: Structure of recombinant rabies virus nucleoprotein-RNA complex and identification of the phosphoprotein binding site. *J. Virol.* 75, 490-498, 2001.
  - 124) Seif, I., Coulon, P., Rollin, P. E., and Flamand, A.: Rabies virulence: effect on pathogenicity and sequence characterization of rabies virus mutations affecting antigenic site III of the glycoprotein. *J. Virol.* 53, 926-934, 1985.
  - 125) Shinozaki, K., Ebert, O., Suriawinata, A., Thung, S. N., and Woo, S. L.: Prophylactic alpha interferon treatment increases the therapeutic index of oncolytic vesicular stomatitis virus virotherapy for advanced hepatocellular carcinoma in immune-competent rats. *J. Virol.* 79, 13705-13713, 2005.
  - 126) Sinibaldi, L., Goldoni, P., Seganti, L., Superti, F., Tsiang, H., and Orsi, N.: Gangliosides in early interactions between vesicular stomatitis virus and CER cells. *Microbiologica* 8, 355-365, 1985.
  - 127) Sokol, F., and Clark, H. F.: Phosphoproteins, structural components of rhabdoviruses. *Virology* 52, 246-263, 1973.
  - 128) Spiropoulou, C. F., and Nichol, S. T.: A small highly basic protein is encoded in overlapping frame within the P gene of vesicular stomatitis virus. *J. Virol.* 67, 3103-3110, 1993.
  - 129) Springfield, C., Darai, G., and Cattaneo, R.: Characterization of the Tupaia rhabdovirus genome reveals a long open reading frame overlapping with P and a novel gene encoding a small hydrophobic protein. *J. Virol.* 79, 6781-6790, 2005.
  - 130) St George, T. D.: Bovine ephemeral fever: a review. *Trop. Anim. Health Prod.* 20, 194-202, 1988.
  - 131) Stojdl, D. F., Lichty, B., Knowles, S., Marius, R., Atkins, H., Sonenberg, N., and Bell, J. C.: Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus. *Nat. Med.* 6, 821-825, 2000.
  - 132) Superti, F., Seganti, L., Ruggeri, F. M., Tinari, A., Donelli, G., and Orsi, N.: Entry pathway of vesicular stomatitis virus into different host cells. *J. Gen. Virol.* 68, 387-399, 1987.
  - 133) Takacs, A. M., Das, T., and Banerjee, A. K.: Mapping of interacting domains between the nucleocapsid protein and the phosphoprotein of vesicular stomatitis virus by using a two-hybrid system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 10375-10379, 1993.
  - 134) Takayama-Ito, M., Inoue, K., Shoji, Y., Inoue, S., Iijima, T., Sakai, T., Kurane, I., and Morimoto, K.: A highly attenuated rabies virus HEP-Flury strain reverts to virulent by single amino acid substitution to arginine at position 333 in glycoprotein. *Virus Res.* 119, 208-215, 2006.
  - 135) Takayama-Ito, M., Ito, N., Yamada, K., Sugiyama, M., and Minamoto, N.: Multiple amino acids in the glycoprotein of rabies virus are responsible for pathogenicity in adult mice. *Virus Res.* 115, 169-175, 2006.
  - 136) Tan, G. S., Preuss, M. A., Williams, J. C., and Schnell, M. J.: The dynein light chain 8 binding motif of rabies virus phosphoprotein promotes efficient viral transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 7229-7234, 2007.
  - 137) Thomas, D., Newcomb, W. W., Brown, J. C., Wall, J. S., Hainfeld, J. F., Trus, B. L., and Steven, A. C.: Mass and molecular composition of vesicular stomatitis virus: a scanning transmission electron microscopy analysis. *J. Virol.* 54, 598-607, 1985.
  - 138) Thomas, D. C., and Roth, M. G.: The basolateral targeting signal in the cytoplasmic domain of glycoprotein G from vesicular stomatitis virus resembles a variety of intracellular targeting motifs related by primary sequence but having diverse targeting activities. *J. Biol. Chem.* 269, 15732-15739, 1994.
  - 139) Thoulouze, M. I., Lafage, M., Schachner, M., Hartmann, U., Cremer, H., and Lafon, M.: The neural cell adhesion molecule is a receptor for rabies virus. *J. Virol.* 72, 7181-7190, 1998.
  - 140) Tordo, N., Benmansour, A., Calisher, C., Dietzgen, R. G., Fang, R.-X., Jackson, A. O., Kurath, G., Nadin-Davis, S., Tesh, R. B., and Walker, P. J. 2005. Family Rhabdoviridae, Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., and Ball, L. A. (eds), *Virus Taxonomy - 8th Report of the ICTV*. Elsevier Academic Press, London.
  - 141) Tordo, N., Poch, O., Ermine, A., Keith, G., and Rou-



- geon, F.: Walking along the rabies genome: is the large G-L intergenic region a remnant gene? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 3914-3918, 1986.
- 142) Toriumi, H., and Kawai, A.: Association of rabies virus nominal phosphoprotein (P) with viral nucleocapsid (NC) is enhanced by phosphorylation of the viral nucleoprotein (N). *Microbiol. Immunol.* 48, 399-409, 2004.
- 143) Tsiang, H., Derer, M., and Taxi, J.: An in vivo and in vitro study of rabies virus infection of the rat superior cervical ganglia. *Arch. Virol.* 76, 231-243, 1983.
- 144) Tuffereau, C., Benejean, J., Blondel, D., Kieffer, B., and Flamand, A.: Low-affinity nerve-growth factor receptor (P75<sup>NTR</sup>) can serve as a receptor for rabies virus. *EMBO J.* 17, 7250-7259, 1998.
- 145) Tuffereau, C., Leblois, H., Benejean, J., Coulon, P., Lafay, F., and Flamand, A.: Arginine or lysine in position 333 of ERA and CVS glycoprotein is necessary for rabies virulence in adult mice. *Virology* 172, 206-212, 1989.
- 146) Vandepol, S. B., Lefrancois, L., and Holland, J. J.: Sequences of the major antibody binding epitopes of the Indiana serotype of vesicular stomatitis virus. *Virology* 148, 312-325, 1986.
- 147) Vidy, A., Chelbi-Alix, M., and Blondel, D.: Rabies virus P protein interacts with STAT1 and inhibits interferon signal transduction pathways. *J. Virol.* 79, 14411-14420, 2005.
- 148) Vidy, A., El Bougrini, J., Chelbi-Alix, M. K., and Blondel, D.: The nucleocytoplasmic rabies virus P protein counteracts interferon signaling by inhibiting both nuclear accumulation and DNA binding of STAT1. *J. Virol.* 81, 4255-4263, 2007.
- 149) von Kobbe, C., van Deursen, J. M., Rodrigues, J. P., Sitterlin, D., Bachi, A., Wu, X., Wilm, M., Carmo-Fonseca, M., and Izaurralde, E.: Vesicular stomatitis virus matrix protein inhibits host cell gene expression by targeting the nucleoporin Nup98. *Mol. Cell* 6, 1243-1252, 2000.
- 150) Walker, P. J., Byrne, K. A., Cybinski, D. H., Doolan, D. L., and Wang, Y. H.: Proteins of bovine ephemeral fever virus. *J. Gen. Virol.* 72, 67-74, 1991.
- 151) Walker, P. J., Byrne, K. A., Riding, G. A., Cowley, J. A., Wang, Y., and McWilliam, S.: The genome of bovine ephemeral fever rhabdovirus contains two related glycoprotein genes. *Virology* 191, 49-61, 1992.
- 152) Walker, P. J., Dietzgen, R. G., Joubert, D. A., and Blasdell, K. R.: Rhabdovirus accessory genes. *Virus Res.* 162, 110-125, 2011.
- 153) Walker, P. J., and Winton, J. R.: Emerging viral diseases of fish and shrimp. *Vet. Res.* 41, 51, 2010.
- 154) Wang, Y., and Walker, P. J.: Adelaide river rhabdovirus expresses consecutive glycoprotein genes as polycistronic mRNAs: new evidence of gene duplication as an evolutionary process. *Virology* 195, 719-731, 1993.
- 155) Warrell, M. J., and Warrell, D. A.: Rabies and other lyssavirus diseases. *Lancet* 363, 959-969, 2004.
- 156) Whelan, S. P., Ball, L. A., Barr, J. N., and Wertz, G. T.: Efficient recovery of infectious vesicular stomatitis virus entirely from cDNA clones. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 8388-8392, 1995.
- 157) Whelan, S. P., and Wertz, G. W.: The 5' terminal trailer region of vesicular stomatitis virus contains a position-dependent cis-acting signal for assembly of RNA into infectious particles. *J. Virol.* 73, 307-315, 1999.
- 158) Whelan, S. P., and Wertz, G. W.: Regulation of RNA synthesis by the genomic termini of vesicular stomatitis virus: identification of distinct sequences essential for transcription but not replication. *J. Virol.* 73, 297-306, 1999.
- 159) Whitt, M. A., Buonocore, L., Prehaud, C., and Rose, J. K.: Membrane fusion activity, oligomerization, and assembly of the rabies virus glycoprotein. *Virology* 185, 681-688, 1991.
- 160) Wu, X., Gong, X., Foley, H. D., Schnell, M. J., and Fu, Z. F.: Both viral transcription and replication are reduced when the rabies virus nucleoprotein is not phosphorylated. *J. Virol.* 76, 4153-4161, 2002.
- 161) Wunner, W. H. 2007. Rabies Virus, Jackson, A. C. and Wunner, W. H. (eds), Rabies, 2nd ed. Elsevier Academic Press.
- 162) Yamada, K., Park, C. H., Noguchi, K., Kojima, D., Kubo, T., Komiya, N., Matsumoto, T., Mitui, M. T., Ahmed, K., Morimoto, K., Inoue, S., and Nishizono, A.: Serial passage of a street rabies virus in mouse neuroblastoma cells resulted in attenuation: potential role of the additional N-glycosylation of a viral glycoprotein in the reduced pathogenicity of street rabies virus. *Virus Res.* 165, 34-45, 2012.
- 163) Yang, J., Koprowski, H., Dietzschold, B., and Fu, Z. F.: Phosphorylation of rabies virus nucleoprotein regulates viral RNA transcription and replication by modulating leader RNA encapsidation. *J. Virol.* 73, 1661-1664, 1999.

# Rhabdoviruses

**Akira Nishizono<sup>1,2)</sup> and Kentaro Yamada<sup>2)</sup>**

Department of Microbiology, Faculty of Medicine<sup>1)</sup>,

Research Promotion Institute<sup>2)</sup>,

Oita University, 1-1 Idaigaoka, Hasama-machi, Yufu city, Oita, 879-5593, Japan

The family *Rhabdoviridae* has a non-segmented single stranded negative-sense RNA and its genome ranges in size from approximately 11 kb to almost 16 kb. It is one of the most ecologically diverse families of RNA viruses with members infecting a wide range of organisms. The five structural protein genes are arranged in the same linear order (3'-N-P-M-G-L-5') and may be interspersed with one more additional accessory gene. For many years, a full of knowledge of the *rhabdoviridae* has been established on extensive studies of two kinds of prototype viruses; vesicular stomatitis virus (VSV) and rabies virus (RABV). Among them, the genus *Lyssavirus* includes RABV and rabies-related viruses naturally infect mammals and chiropteras via bite-exposure by rabid animals and finally cause fatal encephalitis. In this review, we describe the sketch of the various virological features of the *Rhabdoviridae*, especially focusing on VSV and RABV.