特集 2: RNA ウイルス研究の新展開

3. C 蛋白変異センダイウイルスの弱毒化機構

伊藤 正恵

(大阪府立公衆衛生研究所)

はじめに

センダイウイルス (Sendai virus, SeV) は、マウスをはじめとするげっ歯類に重篤な肺炎を引き起こし、死亡させる。その伝染力は、一旦動物実験施設に侵入するとしばしば全マウスの処分を余儀なくされるほど強く、トランスジェニックマウスやノックアウトマウスなどを自家繁殖させる機会の増えた今日、研究者に最も恐れられているウイルスの一つである。SeV の病原性の強さには株間で大きな違いがあるが、その病原性を決定づけているウイルス側の因子とその機構の解明は、まだ十分ではない。これまでに、F 蛋白に存在する開裂活性化部位の宿主プロテアーゼに対する感受性⁽¹⁰⁾⁽²³⁾⁽³¹⁾、および M 蛋白によるウイルスの出芽方向の制御⁽²³⁾⁽³¹⁾、が明らかにされている。また最近になり開発されたリバーズジェネティクス法を駆使して、V 蛋白の RNA エディティング部位より C 末端側⁽³⁾、そして C 蛋白⁽⁹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ が、その機構は不明ではあるが、SeV の病原性を左右することがつきとめられた。ウイルスの病原性発現機構の解明は、ウイルス学的に興味深いだけでなく、より有効なワクチン開発に不可欠な研究課題である。本稿では、C 蛋白の SeV の病原性への関わりについて、我々の研究結果を中心に述べてみたい。

1 C 蛋白変異 SeV のマウス病原性

(1) 新鮮分離株 (M1) とその培養細胞馴化株 (MVC11)

SeV では、伏見、Z や Harris といった数十年前に

分離され、実験室内で発育鶏卵や培養細胞で継代されてきた株は、比較的病原性が弱く、一方、Ohita や Hamamatsu など近年マウスから分離された株は、非常に強い病原性を示す⁽¹¹⁾⁽²⁶⁾。これら二グループのウイルス間には、塩基レベルで 5-10% の相違があるため⁽¹¹⁾、直接的な比較から病原性の違いを規定するウイルス因子を決定することはできない。そこで、Ohita (M1) を LLC-MK2 細胞で継代して、より鮮明なブラックを形成する変異株 (MVC11) を分離した。そのマウス病原性を調べたところ、M1 では 1 LD₅₀ がマウスあたり 6.9×10^4 CIU であるのに対し、MVC11 では 1.3×10^7 以上と、 10^6 倍以上弱毒化していた。これら二株の遺伝子を比較すると、P 遺伝子にコードされる C 蛋白と L 蛋白に、それぞれ一箇所ずつのアミノ酸変異が認められた (C170F→S および L2050E→A) (図 1)⁽¹¹⁾。

(2) C 蛋白組み換えウイルス

(1) で明らかになった二箇所のアミノ酸変異のうち、どちらが弱毒化に関与するか検討するため、リバーズジェネティクス法により、Z 株由来の rZh に M1 および MVC11 の P 遺伝子上の C 蛋白コード部分を組み込み、それぞれ C170F および C170S を発現する rM および rMVC を作製した (図 1)。すると rMVC は rM に比べ 10^3 倍弱毒化しており、C170F→S 変異がウイルスの弱毒化に重要であることが示された。しかしその弱毒化の程度は MVC11 に比べて小さく、L2050E→A の関与の可能性も考えられ、現在検討中である。

(3) C 蛋白欠損ウイルス

SeV は、多くの株で C', C, Y1 および Y2 の 4 種類の C 蛋白を発現する。Ohita 株では、Y2 の開始コドンが変異しており、Y2 は検出されない⁽¹¹⁾。C 蛋白の変異がウイルスの病原性に関わることが示されたの

Mechanism of attenuation of Sendai virus mutants carrying mutations in the C protein.

Masae Itoh

Osaka Prefectural Institute of Public Health

1-3-69, Nakamichi, Higashinari, Osaka 537-0025

〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

図1 C蛋白変異 SeV の遺伝子構造とマウス病原性
各 SeV のゲノムとその下にそれぞれが発現する C 蛋白を示した。白抜きは rZh、薄灰色は M1 そして濃灰色は MVC11 に由来するゲノム部分である。M1 と比較して MVC11 に認められた C170 と L2050 のアミノ酸変異も併せて示した。

で、これらの C 蛋白を欠損した組み換えウイルスを作製し、マウス病原性を調べた。C' を欠損する rZh/-C' の 1 LD₅₀ は rZh と同等であったが、C を欠損する rZh/-C では約 100 倍弱毒化されていた (図 1)。一方、C' と C を共に欠く dm では接種可能な最大ウイルス量を接種してもマウスはまったく死亡せず、病原性が消失していた¹⁷⁾。C 蛋白欠損 SeV については、Kurotani らが同様の実験を行い、やはり C 蛋白が病原性に関与するという結果を報告している¹⁶⁾。

2 C 蛋白変異ウイルスの弱毒化機構

(1) ウイルス増殖に及ぼす細胞死の影響

これらの C 蛋白変異ウイルスのうち M1, rM, rZh および rZh/-C' は、マウスの死亡まで肺内で高いウイルス価を維持したが、一方、弱毒の MVC11, rMVC, rZh/-C および dm は、感染直後にはウイルス増殖が認められるものの、速やかに排除された。そこで LLC-MK2 細胞を用い、ウイルスの増殖について in vitro で詳細に検討した (図 2 a)。培養上清中のウイルス価

図2 LLC-MK 2 細胞における C 蛋白変異 SeV の増殖と感染細胞の生存率
細胞に各 SeV を MOI10 で感染させ、(a) 継時的に培養上清を採取しウイルス価を
定量すると同時に、(b) MTT 法により細胞の生死を測定した。●: M1, ○: MVC
11, ■: rM, □: rMVC, ◆: rZh, ◇: rZh/-C, ◆: rZh/-C', ◆: dm.

は、M1, rM, rZh および rZh/-C' では、感染後 11 日においても $10^7 \sim 10^8$ CIU/ml と高かったが、一方、MVC11, rMVC, rZh/-C および dm では、時間と共に急速に低下した。特に MVC11 では、一日目に 10^8 CIU/ml と高い値を示した後激減し、M1 との違いは顕著であった。この時、MVC11, rMVC, rZh/-C および dm 感染細胞には、M1, rM, rZh および rZh/-C' に比べ強い細胞変性効果がみられた。MTT 法で細胞の生死を検討したところ、弱毒株では感染細胞が急速に死滅し、上清中のウイルス価と細胞の生存率は相関して変動していた (図 2 b)。このことから、感染細胞が死滅することにより、子孫ウイルスの産生が阻止されたものと考えられる。

(2) 弱毒株によるアポトーシスの誘導

弱毒 SeV により引き起こされる細胞死について検討した。感染細胞中の DNA を継時的に抽出しアガロースゲル電気泳動を行うと、MVC11, rMVC, rZh/-C および dm では、DNA の断片化が検出され、アポトーシスの誘導が観察された (図 3 a)。これに対し、M1, rM, rZh および rZh/-C' では DNA の断片

化は認められないか、検出されても弱かった。

(3) カスパーゼ阻害剤のウイルス増殖への影響

一群のカスパーゼはアポトーシスのシグナル伝達において中心的な役割を果たしており⁴⁾²¹⁾²⁵⁾、その阻害剤である Z-VAD-fmk は、しばしばアポトーシス抑制剤として利用されている。そこで、Z-VAD-fmk のウイルス増殖への影響を調べた。図 3 b に示すように、40 μ M Z-VAD-fmk 存在下で弱毒株の DNA の断片化は完全に阻止され、アポトーシスの抑制が観察された。しかし驚いたことに、ウイルスの増殖曲線および細胞の生存曲線は、図 2 とまったく同一であり、アポトーシスの誘導の有無にかかわらず、弱毒株感染細胞が死滅することが判明した。

(4) 弱毒 SeV によるネクローシスの誘導

そこで、ヨウ化プロピジウム (PI) の感染細胞への取り込みについて検討したところ、MVC11, rMVC, rZh/-C および dm 感染細胞では、PI により染色され、アポトーシスと同時にネクローシスも起こしていることが、明らかとなった (図 4 a)。さらに図 3 b と

図3 C蛋白変異 SeV によるアポトーシスの誘導

LLC-MK 2 細胞に各 SeV を MOI10 で感染させ、継時的に細胞抽出液を作製して DNA をアガロースゲル電気泳動で解析した。(a) Z-VAD-fmk 非存在下で培養、(b) 40μM Z-VAD-fmk 存在下で培養。

同じ条件の40μM Z-VAD-fmk 存在下で検討したところ、これらのウイルス感染細胞への PI の取り込み量は Z-VAD-fmk 非存在下と変わらず、ネクローシスは抑制されないことが示された (図 4 b)。一方、強毒の M1, rM, rZh および rZh/-C' 感染細胞では、Z-VAD-fmk の有無に関わらず、PI の取り込みは観察されなかった。以上の結果は、弱毒株ではネクローシス誘導の結果感染細胞が死滅することが、ウイルス増殖の阻止に大きな役割を果たしていることを示唆している。

(5) マウス気管支上皮細胞におけるウイルス増殖

つぎに、マウスの気管支上皮細胞で同様のことが起こりうるか検討した。図 5 に示すようにマウス気管支上皮細胞の初代培養で、MVC11, rMVC, rZh/-C および dm の弱毒株は感染後急速に上清中のウイルス価が減少し、特に MVC11 では顕著であった。Hoechst 33342 で核染色を行うと、これらの株の感染細胞の一部にアポトーシスが検出された。また PI の取り込みを調べると、感染細胞の多くがネクローシスを起こし

ていた。このことは、マウス気管支上皮細胞においても、ウイルス増殖の抑制が主としてネクローシスによる細胞死で引き起こされることを示している。しかし、アポトーシスが何らかの影響を与えている可能性も否定はできない。

(6) アポトーシス/ネクローシスと SeV マウス病原性

近年、アポトーシスがウイルス感染にともなう宿主側の防御機構の一つとして捉えられるようになってきている。宿主の免疫機能が働き始める前のウイルス感染のごく初期に、アポトーシスにより感染細胞を排除しようとする、という考えである²²⁾。これをウイルスの病原性との関係からみると、アポトーシスが病原性を 1) 増強する場合と、2) 減弱する場合が考えられる。増強するのは、その細胞自身が重要な生理機能を発揮しているような、例えば神経細胞や免疫細胞などがウイルス感染にともなうアポトーシスにより死滅する場合で、これによりポリオウイルスによる麻痺³³⁾や、HIV による免疫不全⁷⁾³⁵⁾といった病態が生じてくる。一方、減弱するのは、感染細胞を排除してウ

図4 C 蛋白変異 SeV によるネクロシスの誘導

LLC-MK 2 細胞に各 SeV を MOI10 で感染させ、感染 3 日後 (M1, MVC11, rZh, rZh/-C, rZh/-C', dm および Mock) あるいは感染 5 日後 (rM および rMVC) に PI を取り込ませた後、1 % パラホルムアルデヒドで固定し、蛍光顕微鏡で観察した。(a) Z-VAD-fmk 非存在下で培養、(b) 40 μ M Z-VAD-fmk 存在下で培養。

図5 マウス気管支上皮細胞における SeV の増殖

8 週齢の ICR マウスから採取した気管支上皮細胞の初代培養に SeV を MOI10 で接種して、継続的に培養上清中のウイルス価を測定した。●: M1, ○: MVC11, ■: rM, □: rMVC, ○: rZh, ◇: rZh/-C, ◆: rZh/-C', ◇: dm.

ウイルス増殖を阻害し、周囲へのウイルスの拡散を阻止する場合である。ネクロシスについては、これまでウイルスの病原性との関連の議論はほとんどなされていないが、細胞死という面から考えると、アポトーシスと同様の効果があるものと推察される。SeVでは、ウイルス増殖の場合は気管支上皮細胞で、その病原性はこれらの細胞が損傷を受けることではなく、ウイルスが増殖した結果、宿主の免疫反応として細気管支や肺胞への単核球/マクロファージなどの細胞浸潤がおこり、呼吸不全がおこることによって発揮される。すなわち、ウイルスの増殖の程度が、病原性に直結する³⁰⁾。ここで示した MVC11, rMVC, rZh/C および dm が、細胞にアポトーシス/ネクロシスを容易に誘導するという事実は、感染細胞を早期に排除してウイルスのマウス肺内における拡散を抑えることを通して、これらのウイルスの弱毒化現象に少なからず寄与しているに相違ない。実際、感染マウスの肺切片の免疫組織学的観察を行うと、強毒の M1 では気管支上皮細胞はウイルス抗原陽性のまま生存し、感染 6 日後には肺胞内のみならず細気管支腔内にも浸潤細胞で満たされ閉塞状態であったのに対し、MVC11 ではウイルスに感染した気管支上皮細胞が気管支内腔に脱落し、それ以上の感染の拡がりは認められなかった¹¹⁾。

(7) SeV によるアポトーシス/ネクロシス誘導の分子機構についての考察

細胞のアポトーシス誘導のシグナル伝達経路については近年盛んに研究され、実行および抑制に関わる因子が次々と明らかにされた²⁰⁾。SeV によるものとしては、Caspase 8/FLICE および Caspase 3/CPP32 を介する経路が報告された²⁾。これに反し、ネクロシスは、その現象がアポトーシスという概念が提唱される以前から広く知られていたにもかかわらず、そのメカニズムについてはほとんど解析がなされていない。最近、Kawahara らにより、ネクロシスが FADD (Fas-associated death domain) を介して誘導されることが報告された¹⁴⁾。Caspase 8/FLICE および Caspase 3/CPP32 は、アポトーシスの経路において FADD の下流に位置しているため³⁾¹⁹⁾、ここで観察された弱毒株によるアポトーシスとネクロシスはシグナル伝達経路の一部を共有している可能性がある。弱毒株でのみ細胞死が誘発される理由を探る目的で、各々の株の C 蛋白を単独で DNA トランスフェクション法により細胞に一過性に発現させ、そのアポトーシス/ネクロシス誘導能を比較した。C 蛋白は弱いながらアポト

シス/ネクロシスを誘導したが、株間でその程度に差は認められなかった。従って、変異 C 蛋白が単独で弱毒株のアポトーシス/ネクロシスを誘導しているのではないと推察される。

アポトーシスという宿主側の防御機構に対し、逆にウイルス側は進化の過程でアポトーシスの進行を阻む手段を獲得し、生き存えてきた²²⁾。その代表的なものが、アポトーシスのシグナル伝達を阻止するウイルス蛋白で、アデノウイルスの E1B^{51/24)}、ヒトパピローマウイルスの E6^{27/34)} や ウシポックスウイルスの CrmA^{18/29/32)} などがよく知られている。SeV においても、実験室内流行から分離される強毒株はすべて M1 同様、アポトーシス/ネクロシスを引き起こさない。もしかしたら SeV の強毒株は、アポトーシス/ネクロシスの進行を途中で阻止する機能を有しているのかもしれない。この点について、C 蛋白を中心に検証する必要があるものと思われる。

一方、SeV と同じパラミクソウイルスに属するムンプスウイルスやパラインフルエンザウイルス 2 型の持続感染では、インターフェロンに対する感受性を低下させることで、宿主の感染防御機構から逃れているという。つまり、これらの持続感染細胞では、STAT 1 (signal transducers and activators of transcription 1) のレベルの低下により ISGF 3 (IFN-stimulated gene factor-3) の形成が阻害されているため、通常ウイルス感染にともないインターフェロンに応答して上昇してくる dsRNA 依存性蛋白質リン酸化酵素 (PKR) や 2', 5'-オリゴアデニル酸合成酵素 (2-5 AS) などの抗ウイルス蛋白の転写促進がみられない^{8/37)}。PKR や 2-5 AS はウイルス蛋白の合成を阻害すると同時に、アポトーシスを誘導することが報告されており^{11/6/28/36)}、これらの持続感染細胞ではアポトーシスも抑制されているものと考えられる。SeV (強毒株) ではウイルス感染後にインターフェロンを作用させても、抗ウイルス状態を誘導できないとされ、これは SeV 感染細胞中では STAT 1a のリン酸化が阻害されて ISGF 3 が形成されないことに起因している¹⁵⁾。最近 Geneva 大の Kolakofsky らは、M1 や rM の感染細胞がインターフェロンに抵抗し VSV の重感染を許すのに対し、MVC11 や rMVC では容易に抗ウイルス状態となることを明らかにした。MVC11 および rMVC 感染細胞中では STAT 1 レベルの上昇が認められたという (私信)。ここで用いたウイルスについて感染細胞内の PKR の量を調べてみると、rMVC や dm などの弱毒化ウイルスでは活性化状態のリン酸

化 PKR レベルの上昇が観察された。このことは、弱毒化ウイルスが引き起こすアポトーシスが PKR を經由している可能性を示すものかもしれない。

おわりに

SeV の弱毒株感染細胞がインターフェロンに感受性である事実は、一面では PKR や 2-5 AS によってウイルス蛋白合成が阻害され、このことが弱毒化をもたらしていることを示唆している。しかし一方、ここで述べたように、PKR や 2-5 AS がアポトーシスを誘起し、感染細胞を排除してウイルスの拡散を阻止することにより弱毒化に役かっていることも確かのようなのである。C 蛋白の変異がいかに関与するかについてまったく未知であるが、PKR や 2-5 AS の活性化には dsRNA の存在が不可欠であることから、一つの可能性として、C 蛋白の RNA 合成抑制作用が介在していることも考えられる。ネクロシスのシグナル伝達経路とあわせて、その分子機構の解明が待たれる。

謝 辞

SeV の組み換えウイルスを作製し提供していただきました Geneva 大の Prof. Kolakofsky とその研究グループの方々に御礼申し上げます。また、アポトーシスに関する研究を推進するにあたり、貴重な御助言および御指導いただき、さらに本稿の校閲をしていただきました神戸大学医学部教授、堀田博先生、ならびに、SeV の研究に関しこれまでご指導いただきました神戸大学名誉教授、本間守男先生に深謝致します。最後に、この原稿を書く機会を与えてくださいました名古屋大学医学部教授、西山幸廣先生に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Balachandran, S., Kim, C. N., Yeh, W.-C., Mak, T. W., Bhalla, K. and Barber, G. N. (1998) Activation of the dsRNA-dependent protein kinase, PKR, induces apoptosis through FADD-mediated death signaling. *EMBO J.*, **17**, 6888-6902.
- 2) Bitzer, M., Prinz, F., Bauer, M., Spiegel, M., Neubert, W. J., Gregor, M., Schulze-Osthoff, K. and Lauer, U. (1999) Sendai virus infection induces apoptosis through activation of caspase-8 (FLICE) and caspase-3 (CPP32). *J. Virol.*, **73**, 702-708.
- 3) Boldin, M. P., Goncharov, T. M., Goltsev, Y. V. and Wallach, D. (1996) Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1 and TNF receptor-induced cell death. *Cell*, **85**, 803-815.
- 4) Cohen, G. M. (1997) Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem. J.*, **326**, 1-16.
- 5) Debbas, M. and White, E. (1993) Wild-type p53 mediates apoptosis by E1A, which is inhibited by E1B. *Genes Develop.*, **7**, 546-554.
- 6) Diaz-Guerra, M., Rivas, C. and Esteban, M. (1997) Activation of the IFN-inducible enzyme RNaseL causes apoptosis of animal cells. *Virology*, **236**, 354-363.
- 7) Finkel, T. H., Tudor-Williams, G., Banda, N. K., Cotton, M. F., Curiel, T., Monks, C., Baba, T. W., Ruprecht, R. M. and Kpfer, A. (1995) Apoptosis occurs predominantly in bystander cells and not in productively infected cells of HIV-infected lymphnodes. *Nature Medicine*, **1**, 129-134.
- 8) 藤井暢弘, 横沢紀子. (1999) 感染防御に対するウイルスの戦略—ウイルス感染によるインターフェロン情報伝達系の破綻—. 蛋白質・核酸・酵素, **44**, 8-18.
- 9) Garcin, D., Itoh, M. and Kolakofsky, D. (1997) A point mutation in the Sendai virus accessory C proteins attenuates virulence for mice, but not virus growth in cell culture. *Virology*, **238**, 424-431.
- 10) Itoh, M., Tan, D.-M., Hayashi, T., Mochizuki, Y. and Homma, M. (1990) Pneumopathogenicity of a Sendai virus protease-activation mutant, TCs, which is sensitive to trypsin and chymotrypsin. *J. Virol.*, **64**, 5660-5664.
- 11) Itoh, M., Isegawa, Y., Hotta, H. and Homma, M. (1997) Isolation of an avirulent mutant of Sendai virus with two amino acid mutations from a highly virulent field strain through adaptation to LLC-MK 2 cells. *J. Gen. Virol.*, **78**, 3207-3215.
- 12) Itoh, M., Hotta, H. and Homma, M. (1998) Increased induction of apoptosis by a Sendai virus mutants is associated with attenuation of mouse pathogenicity. *J. Virol.*, **72**, 2927-2934.
- 13) Kato, A., Kiyotani, K., Sakai, Y., Yoshida, T. and Nagai, Y. (1997) Importance of the cysteine-rich carboxyl-terminal half of V protein for Sendai virus pathogenesis. *J. Virol.*, **71**, 7266-7272.
- 14) Kawahara, A., Ohsawa, Y., Matsumura, H., Uchiyama, Y. and Nagata, S. (1998) Caspase-independent cell killing by Fas-associated protein with death domain. *J. Cell Biol.*, **143**, 1353-1360.
- 15) 小松孝行, 竹内健司, 後藤敏, 横尾順子, 木村吉延. (1998) センダイウイルスによるインターフェロンシグナル伝達の阻害: STAT-1 のチロシンリン酸化抑制による転写因子複合体の形成阻害. 第46回 日本ウイルス学会総会 IB20.
- 16) Kurotani, A., Kiyotani, K., Kato, A., Shioda, T.,

- Sakai, Y., Mizumoto, K., Yoshida, T. and Nagai, Y. (1998) Sendai virus C proteins are categorically nonessential gene products but silencing their expression severely impairs viral replication and pathogenesis. *Genes Cells*, **3**, 111-124.
- 17) Latorre, P., Cadd, T., Itoh, M., Curran, J. and Kolakofsky, D. (1998) The various Sendai virus C proteins are not functionally equivalent and exert both positive and negative effects on viral RNA accumulation during the course of infection. *J. Virol.*, **72**, 5984-5993.
 - 18) Miura, M., Friedlander, R. M. and Yuan, J. (1995) Tumor necrosis factor-induced apoptosis is mediated by a CrmA-sensitive cell death pathway. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **92**, 8318-8322.
 - 19) Muzio, M., Chinnaiyan, A. M., Kischkel, F. C., O'Rourke, K., Shevchenko, A., Ni, J., Scaffidi, C., Bretz, J. D., Zhang, M., Gentz, R., Mann, M., Krammer P. H., Peter, M. E. and Dixit, V. M. (1996) FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex. *Cell*, **85**, 817-827.
 - 20) Nagata, S. (1997) Apoptosis by death factor. *Cell*, **88**, 355-365.
 - 21) Nicholson, D. W. and Thornberry, N. A. (1997) Caspases : killer proteases. *Trends Biochem. Sci.*, **22**, 299-306.
 - 22) O'Brien, V. (1998) Viruses and apoptosis. *J. Gen. Virol.*, **79**, 1833-1845.
 - 23) Okada, H., Seto, J. T., McQueen, N. L., Klenk, H.-D., Rott, R. and Tashiro, M. (1998) Determinants of pantropism of the F1-R mutant of Sendai virus : specific mutations involved are in the F and M genes. *Arch. Virol.*, **143**, 2343-2352.
 - 24) Rao, L., Debbas, M., Sabbatini, P., Hockenbery, D., Korsmeyer, S. and White, E. (1992) The adenovirus E1A proteins induce apoptosis, which is inhibited by the E1B 19 kDa and Bcl-2 proteins. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **89**, 7742-7746.
 - 25) Rao, L. and White, E. (1997) Bcl-2 and the ICE family of apoptotic regulators : making a connection. *Curr. Opin. Genet. Develop.*, **7**, 52-58.
 - 26) Sakaguchi, T., Kiyotani, K., Sakaki, M., Fujii, Y. and Yoshida, T. (1994) A field isolate of Sendai virus : its high virulence to mice and genetic divergence from prototype strains. *Arch. Virol.*, **135**, 159-164.
 - 27) Scheffner, M., Werness, B. A., Huibregtse, J. M., Levine, A. J. and Howley, P. M. (1990) The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus type-16 and type-18 promotes the degradation of p53. *Cell*, **63**, 1129-1136.
 - 28) Srivastava, S. P., Kumar, K. U. and Kaufman, R. J. (1998) Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis in response to activation of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.*, **273**, 2416-2423.
 - 29) Talley, A. K., Dewhurst, S., Perry, S. W., Dollard, S. C., Gummuluru, S., Fine, S. M., New, D., Epstein, L. G., Gendelman, H. E. and Gelbard, H. A. (1995) Tumor necrosis factor α -induced apoptosis in human neuronal cells : protection by the antioxidant N-acetylcysteine and the genes Bcl-2 and crmA. *Mol. cell. Biol.*, **15**, 2359-2366.
 - 30) Tashiro, M. and Homma, M. (1983) Pneumotropism of Sendai virus in relation to protease-mediated activation in mouse lungs. *Infect. Immun.*, **39**, 879-888.
 - 31) Tashiro, M. and Seto, J. T. (1997) Determinants of organ tropism of Sendai virus. *Front. Biosci.*, **2**, d588-591.
 - 32) Tewari, M., Telford, W. G., Miller, R. A. and Dixit, V. M. (1995) CrmA, a poxvirus-encoded serpin, inhibits cytotoxic T-lymphocyte-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **270**, 22705-22708.
 - 33) Tsunoda, I., Kurtz, C. I. and Fujinami, R. S. (1997) Apoptosis in acute and chronic central nervous system disease induced by Theiler's murine encephalomyelitis virus. *Virology*, **228**, 388-393.
 - 34) Werness, B. A., Levine, A. J. and Howley, P. M. (1990) Association of human papillomavirus type-16 and type-18 E6 proteins with p53. *Science*, **248**, 76-79.
 - 35) Westendorp, M. O., Frank, R., Ochsenbauer, C., Stricker, K., Dhein, J., Walczak, H., Debatin, K. M. and Krammer, P. H. (1995) Sensitization of T-cells to CD95-mediated apoptosis by HVI-1 Tat and gp120. *Nature*, **371**, 21-22.
 - 36) Yeung, M. C. and Lau, A. S. (1998) Tumor suppressor p53 as a component of the tumor necrosis factor-induced, protein kinase PKR-mediated apoptotic pathway in human promonocytic U937 cells. *J. Biol. Chem.*, **273**, 25198-25202.
 - 37) Yokosawa, N., Kubota, T. and Fujii, N. (1998) Poor induction of interferon-induced 2', 5'-oligoadenylate synthetase (2-5 AS) in cells persistently infected with mumps virus is caused by decrease of STAT-1 α . *Arch. Virol.*, **143**, 1985-1992.