

## 【第54回 小島三郎記念文化賞】

# 単純ヘルペスウイルスの増殖・病態発現機構の解明

Elucidation of mechanisms for replication and pathogenicity of herpes simplex virus

かわ ぐち やすし  
川 口 寧  
Yasushi KAWAGUCHI

### はじめに

この度は、54 回の伝統があり大変榮譽ある小島三郎記念文化賞を賜り、誠に光榮に思っております。選考委員長の渡邊治雄先生、選考委員・理事の諸先生方、そして、ご推薦いただいた東京大学医科学研究所所長の村上善則先生に心より御礼を申し上げます。小島三郎先生は、私が現在所属する医科学研究所の前身である伝染病研究所のご出身であり、つまり、私は後輩にあたります。そのような大先輩を記念した賞を賜ることは、医科学研究所の一員として大変嬉しく思っております。

### I. 序論

私は大学で軟式野球部に所属していました。私が進学した大学は、教養課程(大学1、2年)での成績によって学部・学科が決定されます。私が所属していた学類だと、成績が悪いと動物園(獣医学科)に行くか、漁師(水産学科)、または、木こり(林産学科)になるんだと言われていました(30年以上前の話で、現在は状況がかなり変わっているようです)。当時の私は、「教養課程の2年間が人生で最も自由な(遊べる)時期」と勝手に思い込み、野球と社会勉強に没頭していました。そんな私の成績が良いはずもなく、「3つの中だったら、動物園かな?基礎医学にも興味があるし。。。とあまり深く考えずに獣医学科に進学しました。進学後、動物を扱うのが苦手だった私は、「ウイルス研究だと、動物を扱うことも少ないだろう!？」と、これまた勝手に思い

込み、獣医微生物学教室への配属を希望しました。このように、時の流れに身をまかせ過ぎた結果、私のウイルス研究が始まりました。

学部・大学院と見上彪東京大学名誉教授に指導教官として大変お世話になりました。学部学生の時に、動物のヘルペスウイルスの研究を開始しましたが、それ以来、四半世紀以上に渡り、一貫してヘルペスウイルス研究に従事することになりました。また、大学院修了後すぐに、ヘルペスウイルス研究の世界的権威であるシカゴ大学 Bernard Roizman 教授の研究室に留学する幸運に恵まれ、最先端のウイルス研究を体験することができ、ヒトのヘルペスウイルス研究を開始することになりました。

### II. 単純ヘルペスウイルス

ヘルペスウイルスは、牡蠣といった無脊椎動物から高等哺乳動物に至るまで様々な宿主から約130種類が分離されており、それぞれの宿主に固有の病態を引き起こします。医学領域では、現在までに9つのヘルペスウイルスが同定され、ヒトに多様な疾患を引き起こすことが知られています。水産領域では、コイヘルペスウイルスの日本でのアウトブレイクが記憶にあると思いますが、それ以外にも、牡蠣ヘルペスウイルスによる養殖牡蠣被害が海外で問題となっています。また、獣医学・畜産領域では、5つのヘルペスウイルスが家畜伝染病予防法における届出伝染病に指定されています。このように、ヘルペスウイルスは、医学、獣医学、畜産、水産といった多領域において重要なウイルス群です。

単純ヘルペスウイルス (HSV: herpes simplex virus) は、古く (1920 年頃) から精力的に研究が推進されているヘルペスウイルスのプロトタイプであり、その知見は、他のヘルペスウイルス研究に効率的にフィードバックされています。HSVには2つの血清型 (HSV-1 および HSV-2) があり、ヒトに脳炎、口唇ヘルペス、性器ヘルペス、皮膚疾患、眼疾患、全身性の新生児ヘルペスウイルスといった多様な疾患を引き起こします。脳炎においては、無治療の場合、致死率は70～90%に達します。抗ヘルペスウイルス剤を使用しても10～20%が死に至り、2/3に中および重度の後遺症が残ると考えられています。比較的統計がはっきりしているアメリカ合衆国では、HSV脳炎は年間約1,500人、性器ヘルペスは年間約50～70万人、角膜ヘルペスは年間約30万人、新生児ヘルペスには年間約1,500人が罹患するとされています。さらに、性器ヘルペスはエイズウイルスの感染危険度を2～4倍程度増加させるという報告もあります。上記のように、HSV感染症に対しては、ノーベル賞の受賞対象となった抗ウイルス剤が開発されていますが、脳炎や性器ヘルペスに対してはその効果は限定的であり、ワクチンも未だ開発されていません。このようにHSV感染症は、長年精力的に研究が推進されてきたにもかかわらず、今だにアンメット・メディカルニーズの高い医学上重要な感染症です。

HSVは、最先端のウイルス研究を推進する上でも非常に魅力的な研究対象です。その理由としては、(i) 様々な培養細胞で極めて効率よく増殖する、(ii) ヒトでのHSV病態を比較的良く再現できる小動物モデルが多く存在する、(iii) ウイルスの分子生物学的解析の根幹をなすウイルス改変系が35年以上も前に確立されている、(iv) 古くから精力的に研究が推進され、多くの研究知見の蓄積がある、(v) 弱毒化したHSVが癌を特異的に殺傷する能力があることが明らかにされ、腫瘍溶解性HSVがヒトの癌治療に実際に臨床応用されている等が挙げられます。実はあまり知られていないかもしれませんが、(i) と (ii) の要件を満たすヒト病原ウイルスは意外にも少なく、つまり、HSV研究ではウイルス学におけるあらゆる研究・解析が可能であり、最先端かつ多面的な研究を行うことができます。

### Ⅲ. 大腸菌遺伝学を利用した新しい HSV 改変系の確立

HSVの基礎研究や医学的利用には、ウイルスゲノム改変系は極めて重要な技術基盤です。ウイルスの病原性発現機構や増殖機構の解析には、あるウイルス因子に改変を施した変異ウイルスの作製が、また、遺伝子治療ベクターの開発や改良には、病原性因子の不活化や外来遺伝子の搭載等が必須になります。HSVの遺伝子改変法は、1980年代初頭にシカゴ大学のRoizman博士によって確立されました。しかし、HSVは比較的大きなウイルスゲノム (~150kbp) を有することより、その遺伝子操作の過程は煩雑であり、作製に長期間と熟練を要しました。我々は、野生体の性状を保持する感染HSV-1ゲノム全長をBAC (bacterial artificial chromosome) にクローニングすることに成功しました。そして、このHSV-1-BACクローンを大腸菌に保持させ、大腸菌の遺伝学を利用してウイルスゲノムに変異を導入後、HSV-1-BACクローンを大腸菌より抽出し、培養細胞に導入することによって変異ウイルスを再構築させる新しいHSV改変系を確立しました (図1)<sup>1)</sup>。その後、野生体の性状を保持する感染性HSV-2ゲノム全長のBACへのクローニングにも成功し<sup>2)</sup>、さらに、大腸菌内での遺伝子改変系やHSV-1クローンの改良を経て<sup>3,4)</sup>、現在では、約10日で組換えHSVを作製することが可能となっています。本改変系は、国内外の多くの研究室に分与され、HSVの基礎研究を大幅に加速しただけでなく、HSVのワクチンの開発、さらには、現在臨床応用が開始されている癌を特異的に殺傷する腫瘍溶解性HSVの開発にも大きく貢献しています。

### Ⅳ. HSV の新規受容体の発見

ウイルスの細胞への侵入に必要な受容体の同定は、ウイルス生活環の最初のステップを明らかにするだけでなく、ウイルス侵入を阻害する新しい抗ウイルス剤の開発標的を提示することになります。これまでの研究からHSVの細胞侵入には、ウイルス粒子膜 (エンベロープ) 上にある糖タンパク質B (gB: glycoprotein B) および糖タンパク質D (gD: glyco-

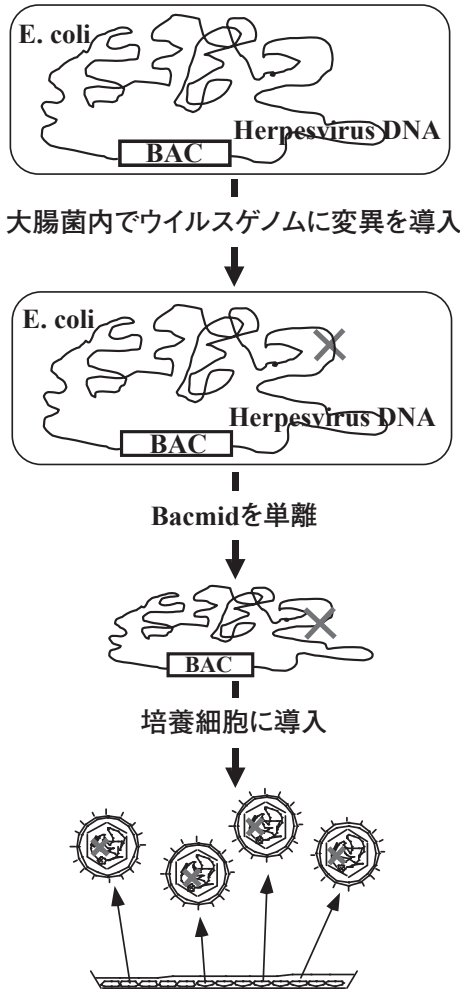


図 1

新しいHSV改変系。HSVゲノムをBACにクローニングし、それを保持する大腸菌を用いる。まず、大腸菌の遺伝学を利用してウイルスゲノムに変異を導入する。その後、大腸菌よりBACクローンを抽出し、培養細胞に導入すると変異ウイルスが産生される。

protein D) がそれぞれ異なる受容体と会合することが必要であると考えられてきました。gD 受容体に関しては、古くから研究が進んでおり、培養細胞や生体内のウイルス感染に主要な役割を果たす受容体は明らかになっていました。一方、gB 受容体としては、PILR $\alpha$  (paired immunoglobulin-like type 2 receptor  $\alpha$ ) や MAG (myelin-associated glycoprotein) が同定されていましたが、これらの培養細胞および生体内での発現は限定されており、ウイルス感染に主要な役割を果たすgB受容体は不明でした。我々は、HSVの新規gB受容体として、非筋肉ミオシン IIA および IIB を同定しました。これらの受容体は、「ウイルス侵入開始によって細胞表面に誘導される」という未だ報告のない極めてユニークな受容体でした。また、受容体の細胞表面誘導機構を解明し、その阻害剤がマウス病態モデルにおいて HSV 感染を抑制し病態が改善することを示し、当該受容体の制御機構が新規抗ウイルス剤開発の標的になることを見出しました (図 2)<sup>5,6)</sup>。特筆すべきことに、これらの受容体は、その後、同じヘルペスウイルス科に属する EB ウイルスだけでなく、ブニヤウイルス科の重症熱性血小板減少症候群ウイルスや、アルテリウイルス科に属する豚繁殖・呼吸器症候群ウイルスの細胞侵入にも重要であることが報告され、広域スペクトラムを示す抗ウイルス剤の開発標的となる可能性が示唆されています。

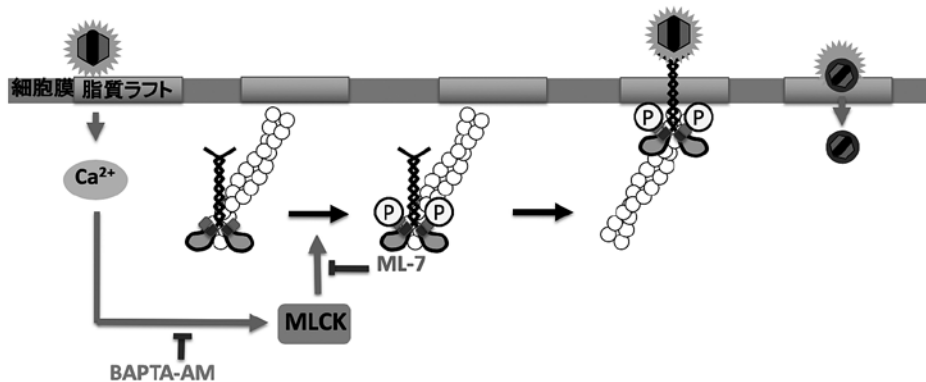


図 2

NM-IIAを介したHSV感染機構。HSVの細胞侵入時には、速やかなCa<sup>2+</sup>の流入が報告されている。Ca<sup>2+</sup>依存キナーゼであるMLCKは活性化され、NM-IIA RLCをリン酸化する。するとNM-IIAが細胞表面に誘導され、HSV gBと会合し、gD-gD受容体の会合と協調してエンベロープと細胞膜の膜融合を引き起こし、HSVは細胞に侵入する。NM-IIAの細胞表面誘導およびHSV感染はCa<sup>2+</sup>キレート剤(BAPTA-AM)やMLCK特異阻害剤(ML-7)で阻害される。

## V. 生体レベルにおける HSV の 宿主免疫回避機構の解明

HSV を含むヘルペスウイルスの最大の特徴は、一度感染すると宿主に終生潜伏感染し、頻繁に再活性化し再発を繰り返すことにあります。宿主体内で HSV が何度も再発するためには、宿主の生体防御反応である多様な免疫応答から逃れる必要があります。しかし、生体レベルにおいて実証された HSV の宿主免疫回避機構は、長い間ほとんど報告されていませんでした。我々は、HSV の特異蛋白質キナーゼ (PK: protein kinase) UL13 が、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL: cytotoxic T lymphocyte) を誘引するケモカイン CXCL9 の発現を阻害することによって、HSV 感染に対する CTL 応答を生体レベルで抑制することを明らかにしました。興味深いことに、本 HSV 免疫回避機構が HSV 脳炎の発症に深く関わっており、CTL 応答の人為的な亢進によって抗ウイルス剤の効果が限定的な HSV 脳炎を顕著に抑制できることを示し、予後の悪い HSV 脳炎の新規治療法の

可能性を提示しました (図 3)<sup>7)</sup>。また、様々な病原体感染の自然免疫応答として重要であるインフラマソームの活性化を、HSV の粒子タンパク質 VP22 が迅速かつほぼ完全に抑制し、本 HSV 免疫回避機構が生体レベルでのウイルス増殖に重要であることを明らかにしました (図 4)<sup>8)</sup>。これらの知見は、生体レベルでの HSV 免疫回避機構を明らかにしたという点で学術的に高い意義を有するだけでなく、HSV 感染で誘導される多様な免疫反応の中で、真に HSV 感染を抑制できる免疫反応の解明、すなわち、未だ実現していない HSV ワクチンの開発に繋がると考えられます。

## VI. HSV の増殖および病態発現の 多様な分子機構の解明

- (i) HSV の増殖と潜伏の双方に重要な役割を担うウイルス因子 ICP0 が、様々な宿主因子と相互作用する驚くべき多機能因子であることを明らかにし、「限られたゲノム情報しかもちえないウイルスが、各ウイルス因子を多機能化する

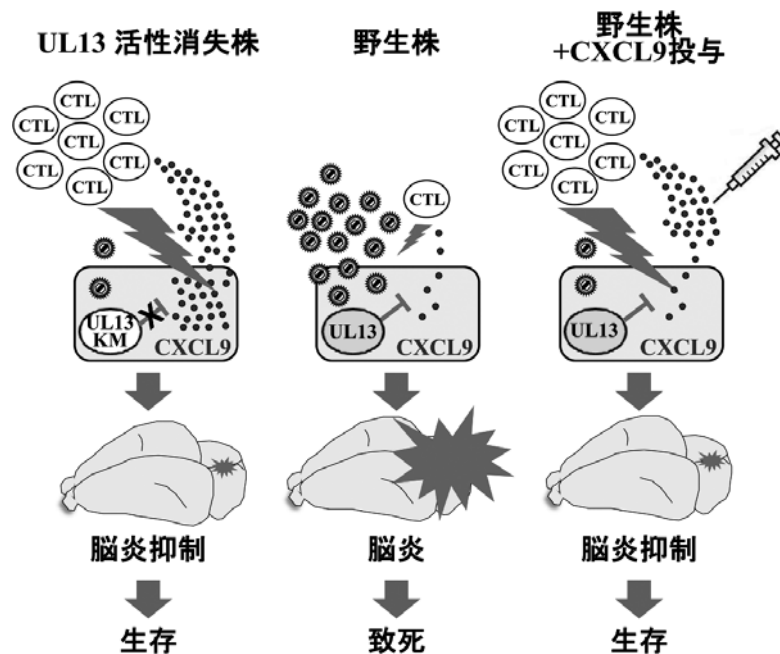


図 3

UL13 活性消失株を感染させたマウスでは、CXCL9 の発現が抑制されず、脳感染部位に CTL が効率的に浸潤しウイルス感染細胞を排除するため、脳炎が抑制されマウスは生存する。一方、野生株を感染させたマウスでは、UL13 によって CXCL9 の発現が抑制され、脳感染部位への CTL 浸潤が阻害されウイルス感染細胞が除去されないため、脳炎によってマウスは死に至る。また、野生株を感染させたマウスの脳感染部位に CXCL9 を投与すると、CTL の浸潤が増強されウイルス感染細胞を排除できるため、脳炎が抑制されマウスは生存する。

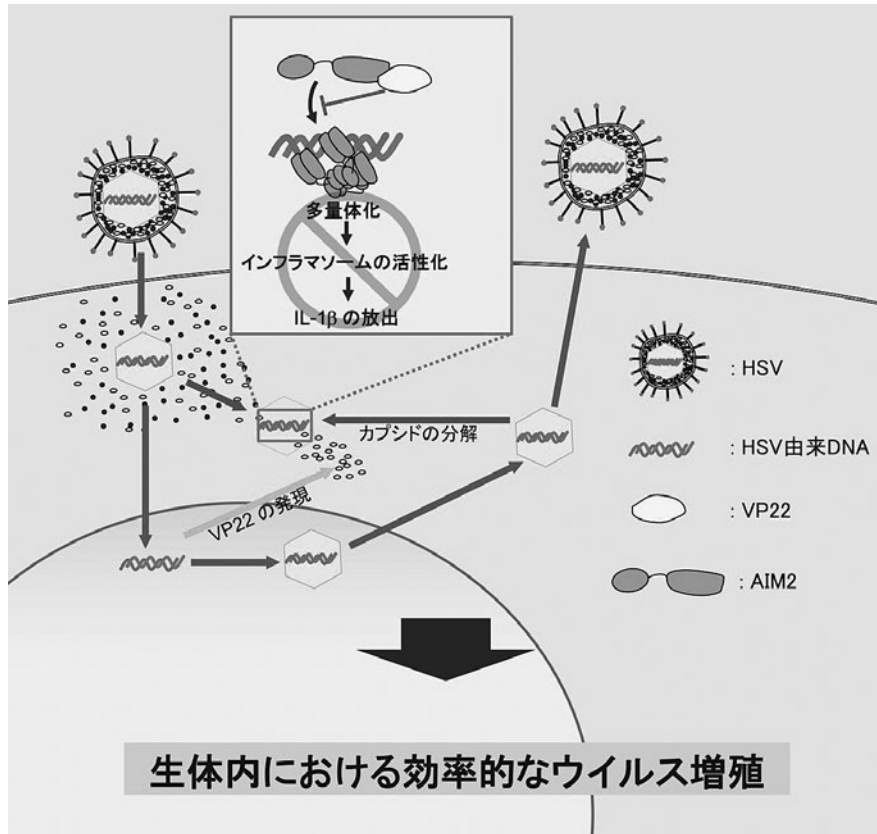


図 4

①HSVが細胞に感染するとウイルス粒子内、および、新規に合成されたVP22が細胞内に誘導される。  
 ②HSVのDNA遺伝子はウイルスのカプシドに内包されているが、宿主のユビキチン/プロテアソーム経路でカプシドが分解されると、HSVのDNA遺伝子は細胞質に放出されてAIM2に認識される。③しかし、VP22はAIM2と結合し、その多量体化を抑制することによって、インフラマソームの活性化およびそれに伴うIL-1 $\beta$ やIL-18の放出を阻害する。この免疫回避機構によってHSVは生体内で効率的にウイルス増殖を行うことができる。

- ることにより様々な宿主環境を制御する」といったウイルスの巧みな生存戦略を実証しました<sup>9-12)</sup>。
- (ii) 多段階のHSV成熟過程を可視化可能なリアルタイムイメージング系を確立し、HSVアセンブリーの最大の焦点であったHSVウイルス粒子最終成熟の場を明らかにし、その制御機構を解明しました<sup>13-15)</sup>。
- (iii) 困難と考えられていたHSV PKの試験管内アッセイ系を確立し<sup>16,17)</sup>、すべてのヘルペスウイルスで普遍的に保存されているPKの機能が、宿主細胞のサイクリン依存性PKを模倣することを明らかにしました<sup>16,18-20)</sup>。本知見によって、様々なヘルペスウイルスPKの標的基質やそのリン酸化部位を容易に予想することが可能となり、その作用機序に関して多くの知見が集積されました。また、本知見を発展させ、HSV

感染細胞内における様々なリン酸化反応が、HSV病態発現制御に深く関わっていることを明らかにしました<sup>4,21-36)</sup>。さらに、HSV増殖・病態発現の多様な分子機構を明らかにしました<sup>37-42)</sup>。

- (iv) HSVヌクレオカプシドは、核内から細胞質へ生物学上極めてユニークな小胞媒介性核外輸送によって輸送されます。本輸送機構を制御するウイルス因子および宿主因子を複数同定し、全く不明だった分子機構の一端を解明しました<sup>43-50)</sup>。

## 謝 辞

受賞対象となった研究業績は、決して私1人では成し得ることができないものであり、我々の研究室の多くのスタッフ、学生諸君の努力の賜です。今回の受賞は、

我々の研究室の過去、現在の全てのメンバーを含むチームでの受賞とっており、研究室のメンバーには心より感謝いたします。また、ご指導・ご支援をいただいた先生方、共同研究者の皆様に心より御礼を申し上げます。本賞の受賞を励みにさらに精進し、世界最先端レベルの感染症研究を遂行すると共に、将来の日本の感染症研究を担う若手研究者を育成するように、微力ではありますが尽力したいと思っております。

## 文 献

- 1) M. Tanaka, et al.,(2003)Construction of an Excisable Bacterial Artificial Chromosome Containing a Full-Length Infectious Clone of Herpes Simplex Virus Type 1: Viruses Reconstituted from the Clone Exhibits Wild-Type Properties In Vitro and In Vivo. *J. Virol.* **77**: 1382-1391.
- 2) T. Morimoto, et al.,(2009)Differences in the Regulatory and Functional Effects of the Us3 Protein Kinase Activities of Herpes Simplex Virus 1 and 2. *J. Virol.* **83**: 11624-11634.
- 3) A. Kato, et al.,(2016)Roles of Us8A and its phosphorylation mediated by Us3 in herpes simplex virus 1 pathogenesis. *J. Virol.* **90**: 5622-5635.
- 4) A. Kato, et al.,(2018)Roles of the Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 UL51 at a Specific Site in Viral Replication and Pathogenicity. *J. Virol.* **92**: e01035-18.
- 5) J. Arii, et al.,(2010)Non-muscle myosin IIA is a functional entry receptor for herpes simplex virus 1. *Nature* **467**: 859-862.
- 6) J. Arii, et al.,(2015)Non-Muscle Myosin Heavy Chain IIB Mediates Herpes Simplex Virus 1 Entry. *J. Virol.* **89**: 1879-1888.
- 7) N. Koyanagi, et al.,(2017)Herpes simplex virus-1 evasion of CD8+ T cell accumulation contributes to viral encephalitis. *J. Clin. Invest.* **127**: 3784-3795.
- 8) Y. Maruzuru, et al.,(2018)Herpes Simplex Virus 1 VP22 Inhibits AIM2-dependent Inflammasome Activation to Enable Efficient Viral Replication. *Cell Host & Microbe* **23**: 254-265.
- 9) Y. Kawaguchi, et al.,(2001)Herpes Simplex Virus Type 1  $\alpha$  Regulatory Protein ICP0 Functionally Interacts with a Cellular Transcription Factor BMAL1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**: 1877-1882.
- 10) Y. Kawaguchi, et al.,(1997)Herpes simplex virus-1  $\alpha$  regulatory protein ICP0 interacts with and stabilizes cell cycle regulator cyclin D3. *J. Virol.* **71**: 7328-7336.
- 11) Y. Kawaguchi, et al.,(1997)Interaction of herpes simplex virus 1  $\alpha$  regulatory protein ICP0 with elongation factor 1  $\delta$ : ICP0 affects translational machinery. *J. Virol.* **71**: 1019-1024.
- 12) Y. Sato, et al.,(2016)Cellular Transcriptional Coactivator RanBP10 and Herpes Simplex Virus 1 ICP0 Interact and Synergistically Promote Viral Gene Expression and Replication. *J. Virol.* **90**: 3173-3186.
- 13) K. Sugimoto, et al.,(2008)Simultaneous tracking of capsid, tegument, and envelop protein localization in living cells infected with triple fluorescent herpes simplex virus 1. *J. Virol.* **82**: 5198-5211.
- 14) J. Arii, et al.,(2016)Multiple Roles of the Cytoplasmic Domain of Herpes Simplex Virus 1 Envelope Glycoprotein D in Infected Cells. *J. Virol.* **90**: 10170-10181.
- 15) S. Oda, et al.,(2016)Interaction between Herpes Simplex Virus 1 Tegument Proteins UL51 and UL14 and Its Role in Virion Morphogenesis. *J. Virol.* **90**: 8754-8767.
- 16) Y. Kawaguchi, et al.,(2003)Conserved Protein Kinases Encoded by Herpesviruses and a Cellular Protein Kinase Cdc2 Target the Same Phosphorylation Site In Eukaryotic Elongation Factor 1 $\delta$ . *J. Virol.* **77**: 2359-2368.
- 17) A. Kato, et al.,(2005)Identification of Proteins Phosphorylated Directly by the Us3 Protein Kinase Encoded by Herpes Simplex Virus 1. *J. Virol.* **79**: 9325-9331.
- 18) Y. Kawaguchi, et al.,(1998)Eukaryotic elongation factor 1  $\delta$  is hyperphosphorylated by the protein kinase encoded by the UL13 gene of herpes simplex virus 1. *J. Virol.* **72**: 1731-1736.
- 19) Y. Kawaguchi, et al.,(1999)The cellular elongation factor 1 $\delta$  is modified in cells infected with representative alpha-, beta-, or gamma herpesviruses. *J. Virol.* **73**: 4456-4460.
- 20) Y. Kawaguchi, et al.,(2003)Protein kinases conserved in herpesviruses potentially share a function mimicking the cellular protein kinase cdc2. *Rev. Med. Virol.* **13**: 331-340.
- 21) A. Kato, et al.,(2006)Herpes Simplex Virus 1-Encoded Protein Kinase UL13 Phosphorylates the Viral Us3 Protein Kinase and Regulates nuclear Localization of Viral Envelopment Factors UL34 and UL31. *J. Virol.* **80**: 1476-1486.
- 22) A. Kato, et al.,(2008)Identification of a physiological phosphorylation site of the Herpes simplex virus 1-encoded protein kinase Us3 which regulates its optimal catalytic activity in vitro and influences its function in infected cells. *J. Virol.* **82**: 6172-6189.
- 23) A. Kato, et al.,(2009)Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 phosphorylates viral envelope glycoprotein B and regulates its expression on the cell surface. *J. Virol.* **83**: 250-261.
- 24) K. Sagou, et al.,(2009)Regulation of the Catalytic Activity of Herpes Simplex Virus 1 Protein Kinase Us3 by Auto-Phosphorylation and Its Role in Pathogenesis. *J. Virol.* **83**: 5773-5783.
- 25) T. Imai, et al.,(2010)Effects of Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 Envelope Glycoprotein B by Us3 Kinase In Vivo and In Vitro. *J. Virol.* **84**: 153-162.
- 26) T. Imai, et al.,(2011)Role of the Herpes Simplex Virus 1 Us3 Kinase Phosphorylation Site and Endocytosis Motifs in Envelope Glycoprotein B in Its Intracellular Transport and Neurovirulence. *J. Virol.* **85**: 5003-5015.

- 27) A. Kato, et al., (2011) Herpes Simplex Virus 1 Protein Kinase Us3 and Major Tegument Protein UL47 Reciprocally Regulate Their Subcellular Localization in Infected Cells. *J. Virol.* **85**: 9599-9613.
- 28) A. Kato, et al., (2014) Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 phosphorylates viral dUTPase and regulates its catalytic activity in infected cells. *J. Virol.* **88**: 655-666.
- 29) A. Kato, et al., (2014) Phosphorylation of a herpes simplex virus 1 dUTPase by a viral protein kinase Us3 dictates viral pathogenicity in the central nervous system but not at the periphery. *J. Virol.* **88**: 2775-2785.
- 30) A. Kato, et al., (2014) Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Up-regulated Viral dUTPase Activity to Compensate for Low Cellular dUTPase Activity for Efficient Viral Replication. *J. Virol.* **88**: 7776-7785.
- 31) H. Fujii, et al., (2014) The UL12 Protein of Herpes Simplex Virus 1 Is Regulated by Tyrosine Phosphorylation. *J. Virol.* **88**: 10624-10634.
- 32) A. Kato, et al., (2015) Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Regulates Viral Virulence and Genome Integrity by Compensating for Low Cellular dUTPase Activity in the Central Nervous System. *J. Virol.* **89**: 241-248.
- 33) R. Kobayashi, et al., (2015) The Function of the Herpes Simplex Virus 1 Small Capsid Protein VP26 is Regulated by Phosphorylation at a Specific Site. *J. Virol.* **89**: 6141-6147.
- 34) A. Kato, et al., (2016) Roles of Us8A and its phosphorylation mediated by Us3 in herpes simplex virus 1 pathogenesis. *J. Virol.* **90**: 5622-5635.
- 35) K. Shindo, et al., (2016) Characterization of a chimera herpes simplex virus 1 (HSV-1) in which its Us3 protein kinase gene was replaced with the HSV-2 Us3 gene. *J. Virol.* **90**: 457-473.
- 36) N. Koyanagi, et al., (2018) Regulation of Herpes Simplex Virus 2 Protein Kinase UL13 by Phosphorylation and Its Role in Viral Pathogenesis. *J. Virol.* **92**: e00807-18.
- 37) Y. Maruzuru, et al., (2013) Roles of p53 in herpes simplex virus 1 replication. *J. Virol.* **86**: 5264-5277.
- 38) J. Ariei, et al., (2009) Entry of herpes simplex virus 1 and other alphaherpesviruses via the paired immunoglobulin-like type 2 receptor  $\alpha$ . *J. Virol.* **83**: 4520-4527.
- 39) J. Ariei, et al., (2010) A Single Amino Acid Substitution in Herpes simplex virus 1 Envelope Glycoprotein B at a Site Required for Binding to the Paired Immunoglobulin-like Type 2 Receptor  $\alpha$  (PILR $\alpha$ ) Abrogates PILR $\alpha$ -dependent Viral Entry and Reduces Pathogenesis. *J. Virol.* **84**: 10773-10783.
- 40) M. Tanaka, et al., (2012) Herpes Simplex Virus 1 VP22 Regulates Translocation of Multiple Viral and Cellular Proteins and Promotes Neurovirulence. *J. Virol.* **86**: 5264-5277.
- 41) H. Fujii, et al., (2014) Role of the Nuclease Activities Encoded by Herpes Simplex Virus 1 UL12 in Viral Replication and Neurovirulence. *J. Virol.* **88**: 2359-2364.
- 42) Y. Maruzuru, et al., (2016) p53 is a Host Cell Regulator during Herpes Simplex Encephalitis. *J. Virol.* **90**: 6738-6745.
- 43) K. Sagou, et al., (2010) Nucleolin is required for efficient nuclear egress of herpes simplex virus 1 nucleocapsids. *J. Virol.* **84**: 2110-2121.
- 44) Z. Liu, et al., (2014) Herpes Simplex Virus 1 UL47 Interacts with Viral Nuclear Egress factors UL31, UL34 and Us3, and Regulates Viral Nuclear Egress. *J. Virol.* **88**: 4657-4667.
- 45) Y. Maruzuru, et al., (2014) The Role of Herpes Simplex Virus 1 Immediate-Early Protein ICP22 in Viral Nuclear Egress. *J. Virol.* **88**: 7445-7454.
- 46) Y. Hirohata, et al., (2015) Herpes simplex virus 1 recruits CD98 heavy chain and  $\beta$ 1 integrin to the nuclear membrane for viral de-envelopment. *J. Virol.* **89**: 7799-7812.
- 47) Z. Liu, et al., (2015) Role of Host Cell p32 in Herpes Simplex Virus 1 De-envelopment During Viral Nuclear Egress. *J. Virol.* **89**: 8982-8998.
- 48) R. Kobayashi, et al., (2017) Herpes Simplex Virus 1 Small Capsomere-Interacting Protein VP26 Regulates Nucleocapsid Maturation. *J. Virol.* **91**: e00271-17.
- 49) F. Maeda, et al., (2017) Herpes Simplex Virus 1 UL34 Protein Regulates the Global Architecture of the Endoplasmic Reticulum in Infected Cells. *J. Virol.* **91**: e000271-17.
- 50) J. Ariei, et al., (2018) ESCRT-III mediates budding across the inner nuclear membrane and regulates its integrity. *Nat. Commun.* **9**: 3379.