

2. ポリオウイラスの体内伝播機構解析

大岡 静衣

東京大学大学院医学系研究科微生物学講座

ポリオウイルス (PV) は急性灰白髄炎 (小児まひ) の病因ウイルスである。ヒトにおいて経口→消化管→ウイルス血症→血液脳関門→中枢神経系 (CNS) と伝播し、運動神経細胞を脱落させ四肢に麻痺を生じさせる経路と、PV が運動神経を介して骨格筋から直接 CNS へ侵入する神経経路が存在する。目的組織で PV が効率よく複製するためには、①目的組織に到達、②細胞に侵入、③細胞内の複製場所に到達、④そこで効率よく複製、の段階が重要である。我々は、胃の低 pH により PV が失活すること、および 1 型インターフェロン自然免疫系が PV 経口感染防御に寄与することを明らかにし、マウスを用いた PV 経口感染系を確立した。また、PV の神経経路を解析し、ヒト PV 受容体 (hPVR/CD155) 依存的 PV 逆行性輸送系では、PV が完全な感染性粒子のまま運動神経シナプスから hPVR によってエンドサイトーシスされ、細胞質ダイニンにより逆行性軸索輸送されることを証明した。さらに、hPVR 非依存的な PV 逆行性輸送系の存在も示した。

ポリオウイルス (PV) はヒトにおいて主に経口で感染し小児まひ (急性灰白髄炎) を発症する。ヒトにおいて経口で取り込まれると腸管で増殖し、血中へ侵入してウイルス血症を生じると考えられている (図 1AB)。その後、ウイルスは血液脳関門を透過して中枢神経系へ侵入し、脊髄前角にある運動神経細胞に感染し脱落させ、四肢に麻痺を生じさせる。そして最終的には呼吸麻痺に至ると考えられている (図 1A)。この感染経路の他に、PV が筋肉から中枢神経系内へ神経軸索を介して直接侵入する神経経路が存在することが知られている (図 1C)。

ウイルスの各体内伝播経路を大まかに分解して考えてみると、ウイルスが①目的組織に到達できるか、②細胞に侵入できるか、③細胞内の複製場所に到達できるか、④そこで効率よく複製できるか、という各ステージに分けることができる。ステージごとに検討すると、効率が悪い原因を

追及しやすい。また、各伝播経路に共通の要素を見いだしたりすることが容易になる。前半では経口感染経路をステージごとに、後半では神経経路について述べる。

1. 経口感染機構

PV 感染には膜結合型 PV 受容体 (PVR / CD155) が重要な役割を果たす⁶⁾。PVR はイムノグロブリンスーパーファミリーに属する。PV の自然宿主はヒトのみであり、実験的には霊長類で PV 感染が成立することが知られている。しかし、マウスなど霊長類以外の哺乳類は PV に非感受性である。その原因は、PVR の種差ではないかと考えられた。そこで、ヒト PVR (hPVR) 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (hPVR-Tg) が作製され、このマウスが PV 感受性を獲得していたことから、PVR が PV の種特異性を決定していることが判明した^{7,17)}。ところが、この hPVR-Tg において、PV を筋肉内・静脈内注射、腹腔内・脳内・脊髄内接種の各方法で投与すれば感染が成立し麻痺を発症するのに対し、経口投与による感染は容易に成立しない。腸上皮において hPVR を充分量発現させた hPVR-Tg においてでさえも、やはり経口感染は成立しないとの報告もある¹⁹⁾。したがって、hPVR のみが PV 経口感染を規定している訳ではないことが明白であるが、その原因は明らかになっていない。経口感染経路を上述のよう

連絡先

〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
 東京大学大学院医学系研究科微生物学講座
 TEL : 03-5841-3410
 FAX : 03-5841-3374
 E-mail : seii@m.u-tokyo.ac.jp

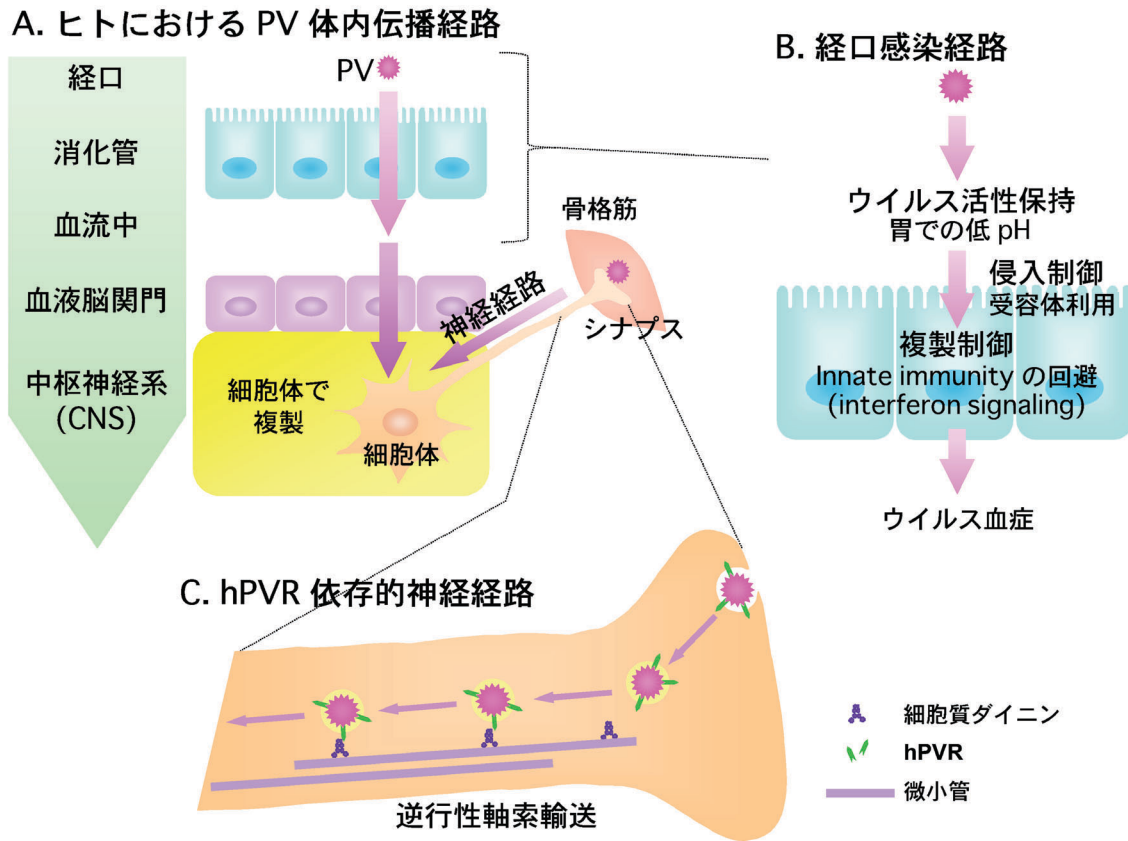


図1 ヒトにおける PV 体内伝播経路

ヒトにおける PV 体内伝播経路を模式的に表した (A)．経口感染経路 (B) および hPVR 依存的な神経経路 (C) について、クローズアップした． A: PV が経口で侵入すると腸管で増殖し、血中へ侵入してウイルス血症を生じ、血液脳関門を透過して中枢神経系へ侵入し、運動神経細胞に感染し脱落させ、四肢に麻痺を生じさせる． B: PV が経口で体内に侵入すると、胃での低 pH を乗り越えなければならない．ウイルス活性を保持できたものが、目的組織へアクセスし、適当な受容体を利用して細胞に侵入する．宿主自然免疫の回避等により細胞内で効率的に複製出来て、はじめてウイルス血症へと繋がると考えられる． C: hPVR 依存的な神経経路では、PV はシナプス表面に存在している hPVR 細胞外領域に結合し、エンドサイトーシスされる．ウイルスを内包しているエンドソームの外側には、hPVR 細胞質内領域が存在する．そこへ細胞質ダイニンが結合することにより、ウイルス含有小胞がシナプス側から細胞体側へと微小管に沿って逆行性輸送される．これ以外に、hPVR 非依存的な神経経路 (図5) も存在することが明らかになった．

にステージごとに分けると、①ウイルス力価を低下させずに胃を通過できるか、②小腸上皮細胞に受容体を利用して侵入できるか、③複製場所は細胞質なので問題ないと考えられる、④宿主自然免疫の影響を受けるか、となる．

①ウイルス力価を低下させずに胃を通過できるか

ヒトに PV 弱毒ワクチン株を経口投与すれば抗体価が効率的に上昇するし、昔から教科書的に PV は酸に強いと書かれてきていることから、胃における PV の失活は問題ない程度と考えられてきていた．ところが、マウスに PV を胃ゾンデで経口投与後、糞便中からウイルスを回収すると、かなり力価が低下していた¹⁹⁾ ことから、少なくともマウ

スでは胃において PV が失活しやすい可能性が考えられた．そこで、マウス胃内容物と PV1 型強毒 Mahoney 株 (10^5 PFU) を混合し 0 度で加温したところ力価の低下は見られなかったが、37 度で加温したところ、ウイルス力価が検出できない程度にまで低下していた (図 2A)．胃内容物との加温によりウイルスが失活する原因としては、消化酵素によるウイルスの消化と、低 pH によるウイルスの変性が考えられる．そこで、まず、95 度 5 分の加温によって消化酵素活性を失活させた胃内容物と PV を混合し 37 度で加温したところ、消化酵素活性のある胃内容物と混合した時と同様に、ウイルス力価は検出できない程度まで低下した．一方、胃内容物とウイルスの混合液に NaHCO_3 を

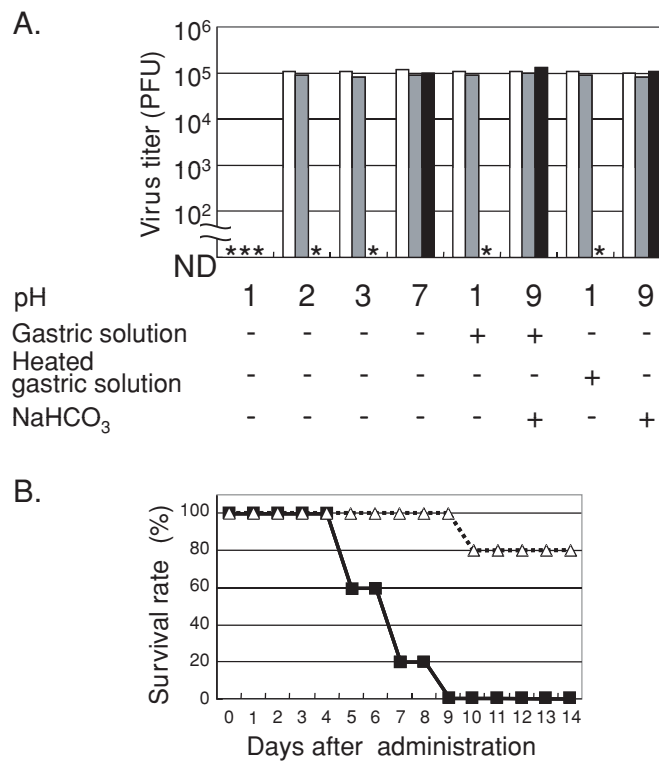


図2 各条件下の加温によるPV安定性とPV経口投与後のマウス生存曲線

A: 各条件下の加温によるPV安定性. 10^5 PFUのPVとpH1, 2, 3, 7の各液, またはマウス胃内容物, 熱変性マウス胃内容物, 重曹を示したとおりに混合し, 0°C (灰色), 37°C (黒)で4時間加温し, ウイルス力価を測定した. 白いカラムは, 混合直後のウイルス力価を示す. *: not detected. B: PV経口投与後のマウス生存曲線. PVRTg21/*Ifnar*KO (■) またはPVRTg21 (Δ) に 3×10^8 PFU/2mlのPVを経口投与し, 経過を観察した.

添加し, 混合液のpHを上昇させて 37°C で加温したところ, ウイルス力価の低下は見られなくなった. 以上の結果から, 胃内容物の低pHによってウイルス力価が低下することが判明した. また, NaHCO_3 を添加することにより, 胃を通過する際のウイルス力価低下を抑えることができると考えられた¹⁰⁾. 実際に, NaHCO_3 を添加したウイルス液を経口投与した方が, ウイルスが力価を落とさずに小腸まで到達していた¹⁰⁾. そこで, 以後の実験では, NaHCO_3 を添加したウイルス液を経口投与することにした.

②小腸上皮細胞に受容体を利用して侵入できるか

細胞へ侵入するためには, 適切な受容体の存否およびその局在が重要なファクターとなる. PVの細胞侵入の際は, 細胞の管腔側にhPVRが発現していることが重要と考えられる. 膜結合型hPVRには, α と δ の2種類のスプライシングアイソフォームが存在する⁵⁾. PV感染における機能に関しては両者に差異が認められていない. イヌ腎臓(MDCK)細胞等における我々のこれまでの研究から, 細胞質内領域に基底膜側ソーティングシグナルを持つhPVR α

は基底膜側に局在するが, hPVR δ は細胞表面全体に分布することを明らかにしている¹³⁾. したがって, hPVR δ が発現していれば, 管腔側からの感染は可能なはずである.

hPVR-Tgでは, 腸管上皮でのhPVRの発現量が少なく, 腸管上皮細胞におけるhPVRの発現部位を確認することはかなり難しい. この点がhPVR-Tgの経口感染感受性が低い原因の一つになっている可能性がある. 次章で詳しく触れるが, 経口感染が成立するマウス系統(hPVR-Tg/*Ifnar*KO)の小腸を結紮ループを作りその中に蛍光標識PVを注入し, 小腸上皮にウイルスが取り込まれるかどうかを確認したところ, 小腸上皮細胞内にウイルスが小胞状に取り込まれていることを確認することができた. 観察した限りでは, M細胞への取り込みは確認できなかった¹⁰⁾. この結果から, hPVR-Tg/*Ifnar*KO小腸においては, PVは小腸上皮細胞に取り込まれ, 感染プロセスが開始されると考えられる.

④宿主自然免疫の影響を受けるか

小腸上皮細胞系では③については問題とならないようで

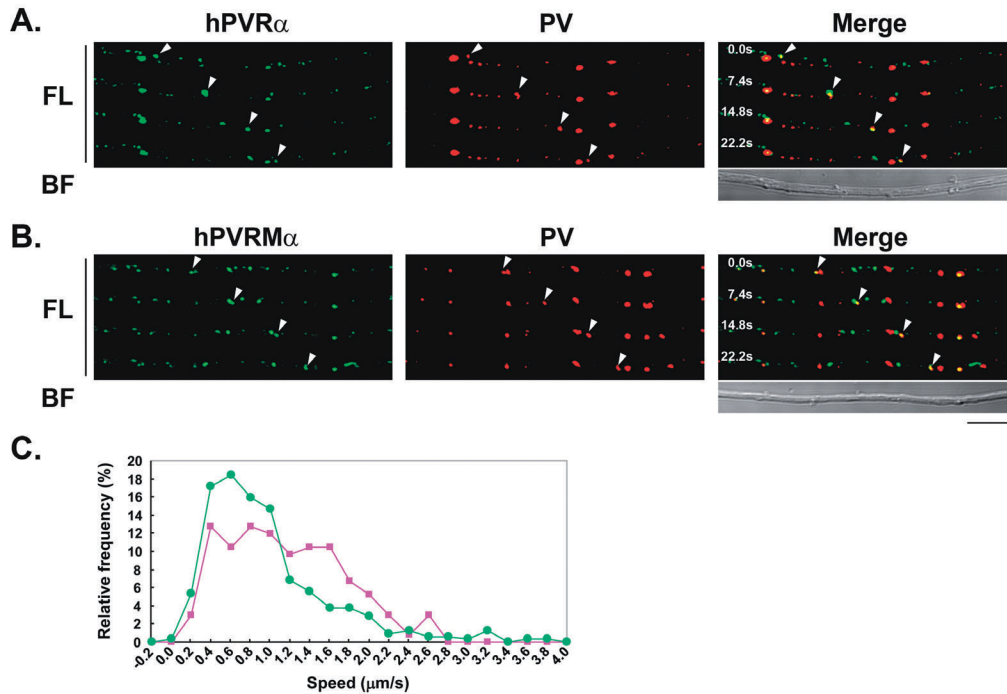


図 3 PV 逆行性軸索輸送に対する, hPVR 細胞質内領域の Tctex-1 結合共通配列の変異が及ぼす影響 (hPVR 発現ラット MN)
 GFP 融合 hPVR (A) または GFP 融合 hPVR の Tctex-1 結合共通配列変異体 (B) をラット MN に発現させ, Alexa Fluor555 標識 PV を添加し加温後, 洗浄し, 共焦点顕微鏡下経時観察を行った. 緑が hPVR, 赤が PV の局在を示す. 矢頭は hPVRs と PV を両方含有する小胞を示す. 右側が細胞体側. FL は蛍光像, BF は透過光像. スケールバーは 10 μ m を示す. C: hPVRs と PV を両方含有する小胞の速度キネティクスを示した. ■が GFP 融合 hPVR と PV を含有する小胞, ●が GFP 融合 hPVR 変異体と PV を含有する小胞の速度分布を示す.

あるが, ④については議論の余地がある. 1 型インターフェロン (IFN) は PV が属するピコルナウイルスの組織トロピズムや病原性発現にも重要であることが報告されている^{1, 18)}. 小池氏は, IFN 受容体を欠損させた hPVR-Tg (hPVR-Tg/*Ifnar*KO) において, PV の組織トロピズムや病原性発現に重要な IFN シグナリング⁸⁾ が働いていないことを明らかにした⁴⁾. 我々が通常用いている hPVR-Tg は, 正常な IFN システムを持っており, 経口感染は容易に成立しない. そこで, IFN システムが働かなければ経口感染感受性が上がる可能性を考え, hPVR-Tg (PVRTg21) と hPVR-Tg/*Ifnar*KO (PVRTg21/*Ifnar*KO) に PV1 型強毒 Mahoney 株 3×10^8 PFU/mouse を 3% NaHCO₃ とともに定量給水瓶にて摂取させ, 経過を観察した (図 2B). PVRTg21 は 20% 程度のみが麻痺を発症し死亡したが, PVRTg21/*Ifnar*KO は 100% が投与後 9 日目までに麻痺を発症し死亡した. この結果から, IFN 受容体が欠損することにより, PV 経口投与に対する感受性が高くなることが明らかとなった¹⁰⁾. したがって, IFN シグナリングが PV 経口感染防御に寄与していることが示唆された. またこのように, PV 経口投与により全例に麻痺を発症する経

口感染系を確立することに成功した.

2. 神経経路

ヒトにおいて神経経路が存在することは, 不活化が不完全な PV ワクチンをヒトに筋肉内注射した後, 注射した側の手足に麻痺が発症したという Cutter incident により確認されている (①)⁹⁾. そして, 同様な神経経路がサル³⁾, および hPVR-Tg^{15, 16)} においても存在することが報告されている. また, 筋肉に外傷を負うと, 外傷部位からの神経経路によりウイルスが直接中枢神経系内へ侵入 (①) し麻痺を発症する, provocation poliomyelitis がヒトにおいて見られることが知られているが, hPVR-Tg においても同様の現象が再現されている²⁾. このように, ヒトにおいても神経経路は重要な伝播経路である. この経路は中枢神経系内の運動神経細胞におけるウイルスの感染伝播モデルとも考えられ, 中枢神経系内のウイルスの感染伝播機構を明らかにする上で, 大変重要である. 運動神経細胞への感染伝播経路のステージとして, ①は上述の通りであるが, ②受容体を介して運動神経細胞に侵入できるか, ③シナプスから細胞体へと逆行性輸送されるか, ④宿主自然免疫の影響を

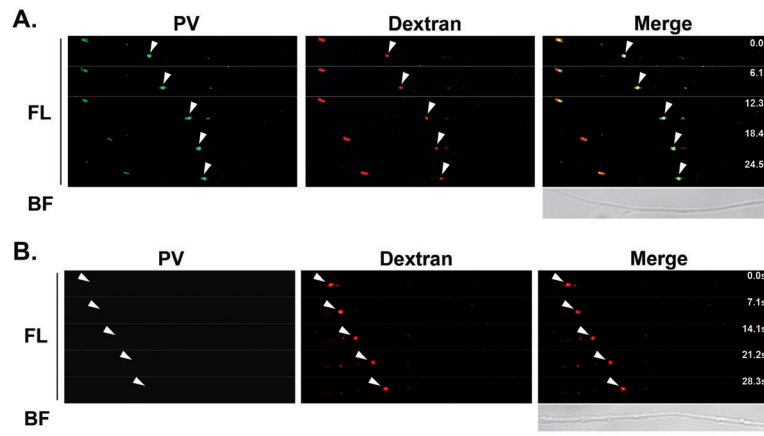


図4 hPVR 発現マウス MN における PV 逆行性軸索輸送

A: PVRTg21 由来 MN に蛍光標識 PV を添加し加温後、洗浄し、共焦点顕微鏡下経時観察を行った。緑が PV、赤が dextran の局在を示す。矢頭は PV と dextran を両方含有する小胞を示す。B: A と同様の実験を、抗 hPVR 抗体存在下行った。矢頭は dextran のみを含有する小胞を示す。FL は蛍光像、BF は透過光像。スケールバーは 10 μ m を示す。

受けるか、となる。我々は、主に②、③に焦点を絞り解析を行った。

hPVR-Tg マウス坐骨神経における PV 神経経路

まず我々は、hPVR-Tg の坐骨神経における PV 神経経路について、検討を行った。hPVR-Tg の下腿背側に PV を筋肉内注射する前に坐骨神経を切断しておく、投与した下肢から発症するはずの弛緩性麻痺が阻害されたことから、hPVR-Tg にも、坐骨神経を介した神経経路が存在することが明らかになった¹⁵⁾。この神経経路における PV 逆行性輸送速度は、逆行性モーター蛋白質である細胞質ダイニンにより小胞などが輸送されると考えられている速い輸送系と同等の速さであることが判明した。そこで、PV がシナプス側から小胞として取り込まれているかどうかを明らかにするため、PV を筋肉内注射後、神経筋接合部位を免疫電子顕微鏡観察したところ、PV 抗原を内包した小胞が確認された。同部位の電子顕微鏡観察では、PV らしい粒子を内包した小胞が確認されたことから、PV は神経筋接合部位においてシナプスから小胞として取り込まれていることが明らかとなった¹¹⁾。また、軸索内部で PV は hPVR と共存しているにも関わらず、完全な感染性粒子のまま輸送されることも示した¹⁵⁾。このことから、PV は細胞体へ到達後に脱殻し複製開始すると考えられる。

hPVR 依存的 PV 逆行性軸索輸送仮説

上述の通り PV は小胞に包まれて逆行性輸送されることが明らかになった。また、PV と抗 hPVR 抗体を混合して hPVR-Tg の下腿背側に筋肉内注射すると、麻痺発症が阻害

されたことから、PV 逆行性輸送による病原性発現は hPVR 依存的であることを我々は示した¹⁵⁾。膜貫通型 hPVR は、PV と結合する細胞外領域、膜貫通領域、細胞質内領域から成ることから、PV 含有小胞には hPVR が存在し、小胞の細胞質側には hPVR 細胞質内領域が突き出す格好になっていると考えられる。以上を総合すると、次のような PV の hPVR 依存的逆行性輸送機構の仮説が考えられた(図 1C)¹²⁾。「シナプス部位に存在する hPVR に PV が結合しエンドサイトーシスされる。PV 含有エンドソームの細胞質側には hPVR の細胞質内領域が突きだしている。ここへ細胞質ダイニンが相互作用することにより、PV 含有小胞が逆行性輸送されるのではないか。」そこで、hPVR の細胞質内領域と相互作用する蛋白質を yeast two-hybrid system で検索したところ、細胞質ダイニン複合体の軽鎖である Tctex-1 が結合することが明らかになり、それらは直接結合していることが判明した¹¹⁾。さらに、hPVR 細胞質内領域に、Tctex-1 共通結合配列として報告されている配列が見つかった。そこで、その配列をアラニン置換したところ、hPVR 変異体では Tctex-1 との相互作用が減弱していることが明らかとなった¹¹⁾。したがって、細胞質ダイニンが hPVR を介して PV 輸送に寄与していると考えられた。

細胞系を用いた上記仮説の検証

そこで次に、細胞系を用いて上記仮説を検証することにした。ラット運動神経初代培養細胞 (MN) に GFP 融合 hPVR を発現させた後、Alexa Fluor で直接蛍光標識した PV を添加し細胞に取り込ませ、共焦点顕微鏡下リアルタイムイメージングを行った。PV は hPVR と共に同一小胞

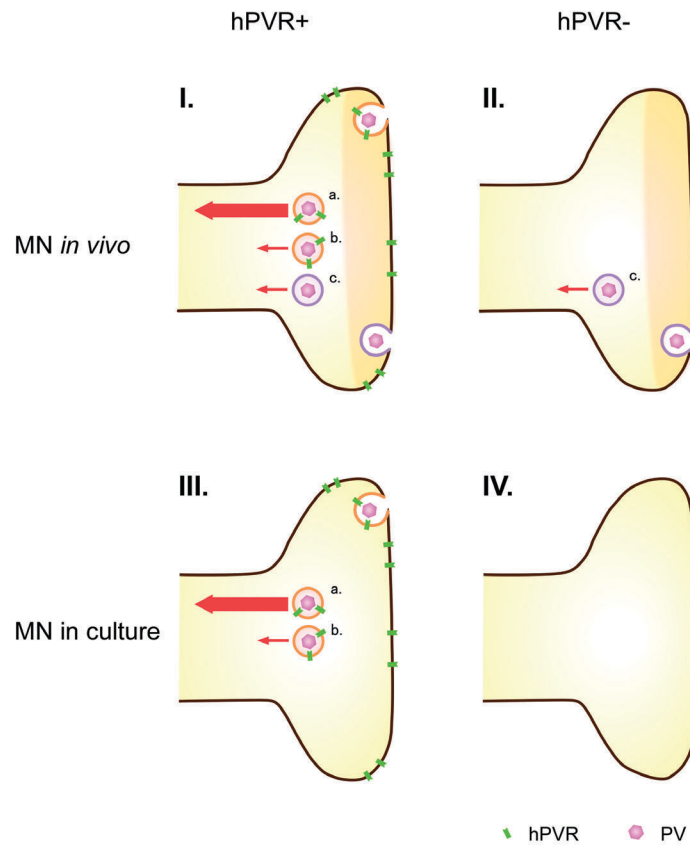


図5 運動神経細胞における hPVR 依存のおよび非依存な PV 逆行性軸索輸送機構

I: hPVR-Tg では、シナプス表面に hPVR が存在するため、hPVR に PV が吸着しエンドサイトーシスされる。In vivo においては、hPVR 非依存な PV のエンドサイトーシスおよび輸送が見られる。これは、未同定 PV 受容体を介している可能性や、in vivo でのみ見られるシナプス活性により活性化される機能による可能性が考えられる。hPVR と PV を含有する小胞は、hPVR 依存な速い輸送系 (a) か hPVR 非依存な遅い輸送系 (b) で逆行性輸送されると考えられる。hPVR を持たない PV 含有小胞は、hPVR 非依存な遅い輸送系で運ばれる (c)。II: non-Tg では、PV が hPVR 非依存にエンドサイトーシスされ、hPVR 非依存な遅い輸送系で運ばれる (c)。III: hPVR 発現 MN では、hPVR 依存な PV のエンドサイトーシスしか見られない。PV は速い輸送系と遅い輸送系で運ばれる。速い輸送は hPVR 依存な輸送系に (a)、遅い輸送は hPVR 非依存な輸送系に (b) 相当すると考えられる。IV: hPVR 非発現 MN では、PV のエンドサイトーシスは全く検出されない。長い矢印は速い逆行性輸送系、短い矢印は遅い逆行性輸送系を模式的に表している。

で、in vivo 同様に速い輸送系で逆行性輸送されていた (図 3A)。そこで、この PV 輸送に細胞質ダイニンが寄与しているかどうかを検証するため、Tctex-1 との相互作用が減弱した hPVR 変異体に GFP を融合させたものをラット MN に発現させ、同様の実験を行った。hPVR 変異体-PV 含有小胞も hPVR-PV 含有小胞と同様に逆行性輸送されていたため (図 3B)、hPVR 変異体-PV 含有小胞の輸送速度カイネティクスを詳細に解析したところ、速い輸送で運ばれる成分が hPVR 変異体-PV 含有小胞では少なくなっていることがわかった (図 3C)¹⁴⁾。したがって、少なくとも速い輸送成分について、細胞質ダイニンの寄与が示唆された。これにより、上記仮説がラット MN において証明さ

れた。マウス MN においても hPVR 依存な PV 輸送系が存在するかどうかを確認したところ、エンドソームマーカーとして用いた dextran と PV が同一小胞で逆行性輸送されているのが観察された (図 4A)¹⁴⁾。抗 hPVR 抗体存在下、PV の輸送を観察したところ、dextran のみを含む小胞の輸送しか観察されなくなった (図 4B)。したがって、マウス MN で見られる PV 取り込みおよび逆行性輸送系は hPVR 依存であることが確認できた¹⁴⁾。

hPVR 非依存な PV 逆行性軸索輸送

以上は hPVR 依存な PV 逆行性輸送についてであったが、実は non-Tg 坐骨神経にも hPVR 非依存に PV が取

り込まれることを発見した(図 5IIc)¹⁴⁾。そして, hPVR 非依存的な PV 逆行性輸送系も存在し, その輸送速度は hPVR 依存的な輸送系よりも圧倒的に遅いことを我々は明らかにした(図 5IIc)¹⁴⁾。そこで, hPVR-Tg 坐骨神経でも hPVR 非依存的な PV 逆行性輸送系が存在しているのかどうかを確認した。抗 hPVR 抗体と PV を co-injection し, hPVR-Tg 坐骨神経内の hPVR 非依存的な PV 逆行性輸送を観察したところ, non-Tg で見られたのと同様の遅い逆行性輸送系が存在することが明らかになった(図 5Ic)¹⁴⁾。一方, ラットおよびマウス由来の MN においては hPVR が発現していないと PV が取り込まれなかった(図 5IV)¹⁴⁾ が, hPVR 発現 MN では PV が取り込まれ, hPVR を含みかつ PV を内包した小胞が, hPVR 依存的と思われる速い輸送系(図 5IIIa)と, hPVR 非依存的な輸送系に相当すると思われる遅い輸送系(図 5IIIb)で輸送されていた。同様に, hPVR-Tg においても, hPVR を含みかつ PV を内包した小胞が, 速い輸送系(図 5Ia)だけではなく遅い輸送系(図 5Ib)でも輸送されている可能性がある。このように, PV の逆行性輸送に関しては, *in vivo* と初代運動神経培養系に共通して, hPVR 依存的な速い輸送系(図 5Ia, IIIa) および遅い輸送系(図 5Ibc, IIc, IIIb)が存在している可能性が示唆された。PV の取り込みに関しては *in vivo* と初代運動神経培養系とで相違点もあることから, 今後はこうした点を突破口にして *in vivo* の現象をさらに解明できるのではないかと期待している。

おわりに

小腸でウイルス複製が開始されるまでの各ステップについて検討することによって, 経口感染が成立するまでの関門のいくつかを明らかにすることができた。また, PV の運動神経逆行性輸送についても, hPVR 非依存的な輸送系や, 取り込み現象を予想外に発見することができ, 今後に繋がる面白いデータが蓄積されつつあると考えている。*in vivo* と培養系の差異を明らかにすることなどにより, *in vivo* の現象をより深く解明できると考えられ, 今後は楽しみである。

謝 辞

都立神経研の小池智先生(マウス供与), 岩手医科大学の遠山稿二郎先生(電顕観察), Cancer Research UK の Giampietro Schiavo 先生(運動神経初代培養), 国立感染症研究所の永田典代さん(免疫組織染色), 東京大学医科学研究所の清野宏先生, 野地智法さん(M細胞染色), 国立健康・栄養研究所の大坂寿雅先生(迷走神経切断術)には, 本研究に不可欠な技術や材料の供与および有意義なディスカッションをしていただきましたことを心より感謝いたします。また, 当研究室の大学院生だった坂井麻依さんには標識ウイルス作製を, 技術職員の五十嵐博子さんには技術

的な援護を, 技術補佐員の太村あかねさんには動物飼育援護を, 野本明男先生には有益なディスカッションや示唆をいただきましたことにお礼を申し上げます。

引用文献

- 1) Fiette, L., C. Aubert, U. Muller, S. Huang, M. Aguet, M. Brahic, and J. F. Bureau. Theiler's virus infection of 129Sv mice that lack the interferon alpha/beta or interferon gamma receptors. *J Exp Med* 181:2069-2076, 1995.
- 2) Gromeier, M., and E. Wimmer. Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J Virol* 72:5056-5060, 1998.
- 3) Howe, H., and D. Bodian. *Neural Mechanisms in Poliomyelitis*. Commonwealth Fund, New York, 1942.
- 4) Ida-Hosonuma, M., T. Iwasaki, T. Yoshikawa, N. Nagata, Y. Sato, T. Sata, M. Yoneyama, T. Fujita, C. Taya, H. Yonekawa, and S. Koike. The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 79:4460-4469, 2005.
- 5) Koike, S., H. Horie, I. Ise, A. Okitsu, M. Yoshida, N. Iizuka, K. Takeuchi, T. Takegami, and A. Nomoto. The poliovirus receptor protein is produced both as membrane-bound and secreted forms. *EMBO J* 9:3217-3224, 1990.
- 6) Koike, S., I. Ise, and A. Nomoto. Functional domains of the poliovirus receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:4104-4108, 1991.
- 7) Koike, S., C. Taya, T. Kurata, S. Abe, I. Ise, H. Yonekawa, and A. Nomoto. Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:951-955, 1991.
- 8) Muller, U., U. Steinhoff, L. F. Reis, S. Hemmi, J. Pavlovic, R. M. Zinkernagel, and M. Aguet. Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science* 264:1918-1921, 1994.
- 9) Nathanson, N., and A. D. Langmuir. The Cutter incident: poliomyelitis following formaldehyde-inactivated poliovirus vaccination in the United States during the spring of 1955. III. Comparison of the clinical character of vaccinated and contact cases occurring after use of high rate lots of Cutter vaccine. *Am J Hyg* 78:61-81, 1963.
- 10) Ohka, S., H. Igarashi, N. Nagata, M. Sakai, S. Koike, T. Nochi, H. Kiyono, and A. Nomoto. Establishment of a poliovirus oral infection system in human poliovirus receptor-expressing transgenic mice that are deficient in alpha/beta interferon receptor. *J Virol* 81:7902-7912, 2007.
- 11) Ohka, S., N. Matsuda, K. Tohyama, T. Oda, M. Morikawa, S. Kuge, and A. Nomoto. Receptor (CD155)-dependent endocytosis of poliovirus and retrograde axonal transport of the endosome. *J Virol* 78:7186-7198, 2004.
- 12) Ohka, S., and A. Nomoto. Recent insights into poliovirus pathogenesis. *Trends Microbiol* 9:501-506, 2001.
- 13) Ohka, S., H. Ohno, K. Tohyama, and A. Nomoto. Basolateral sorting of human poliovirus receptor alpha

- involves an interaction with the *mulB* subunit of the clathrin adaptor complex in polarized epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 287:941-948,2001.
- 14) Ohka, S., M. Sakai, S. Bohnert, H. Igarashi, K. Deinhardt, G. Schiavo, and A. Nomoto. Receptor-dependent and -independent axonal retrograde transport of poliovirus in motor neurons. *J Virol* 83:4995-5004, 2009.
 - 15) Ohka, S., W. X. Yang, E. Terada, K. Iwasaki, and A. Nomoto. Retrograde transport of intact poliovirus through the axon via the fast transport system. *Virology* 250:67-75,1998.
 - 16) Ren, R., and V. R. Racaniello. Poliovirus spreads from muscle to the central nervous system by neural pathways. *J Infect Dis* 166:747-752, 1992.
 - 17) Ren, R. B., F. Costantini, E. J. Gorgacz, J. J. Lee, and V. R. Racaniello. Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor: a new model for poliomyelitis. *Cell* 63:353-362,1990.
 - 18) Wessely, R., K. Klingel, K. U. Knowlton, and R. Kandolf. Cardiospecific infection with coxsackievirus B3 requires intact type I interferon signaling: implications for mortality and early viral replication. *Circulation* 103:756-761,2001.
 - 19) Zhang, S., and V. R. Racaniello. Expression of the poliovirus receptor in intestinal epithelial cells is not sufficient to permit poliovirus replication in the mouse gut. *J Virol* 71:4915-4920, 1997.

Analysis of dissemination pathways for poliovirus

Seii OHKA

Department of Microbiology, Graduate School of Medicine,
The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, 113-0033 Tokyo, Japan.
seii@m.u-tokyo.ac.jp

Poliomyelitis is an acute disease of the central nervous system (CNS) caused by poliovirus (PV). In humans, an infection is initiated by oral ingestion of the virus, followed by multiplication in the alimentary mucosa, from which the virus spreads through the bloodstream. Paralytic poliomyelitis initiates from the invasion of the central nervous system by circulating poliovirus, probably via the blood-brain barrier. After the virus enters the central nervous system, it replicates in neurons, especially in motor neurons, inducing the cell death that causes paralytic poliomyelitis. Along with this route of dissemination, a neuron-specific pathway has been reported in humans, monkeys, and PV-sensitive transgenic (Tg) mice carrying the PV receptor (*hPVR/CD155*) gene. It is important for the efficient virus dissemination to overcome the barriers as follows; i) to access the target tissue, ii) to enter the cells, iii) to reach the place for the replication, iv) to replicate efficiently.

PV is easily transferred to humans orally; however, no rodent model for oral infections has been developed. We analyzed the each barrier above, and showed that PV is inactivated by the low pH of the gastric contents in mice. We also demonstrated that type I interferon signaling plays an important role in determining permissivity in the alimentary tract.

As for the neural pathway, we demonstrated that direct efficient interaction between the cytoplasmic domain and cytoplasmic dynein is essential for the efficient retrograde transport of PV-containing vesicles along microtubules for the *hPVR*-dependent PV transport. On the other hand, we found that *hPVR*-independent axonal transport of PV was also observed in *hPVR*-Tg and non-Tg mice, indicating that several different pathways for PV axonal transport exist.