

4. 神経細胞が示すポリオウイルス抵抗性

柳谷 朗子, 大岡 静衣, 野本 明男

ポリオウイルス (PV) は小児麻痺 (急性灰白髄炎) の病因となる RNA ウイルスである。ヒトでは腸管上皮細胞や神経細胞などで増殖する。また、PV はヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞などの培養細胞でも効率の良い増殖が可能である。PV が細胞に感染すると細胞が丸くなり、細胞変性効果 (Cytopathic effect; CPE) を発現する。この CPE 発現には PV 由来蛋白質である 2A protease (2A^{pro}) が重要な因子の一つであるとの報告があるが、PV 感染による CPE 発現機構の詳細は未だに明らかになっていない。神経培養細胞に PV を感染後、抗 PV 血清を細胞培養液に加えると、PV 感染による CPE 発現が抑制されるという報告がある¹⁾。また本研究室では、PV 感染に重要な役割を果たす宿主細胞側分子であるヒトポリオウイルスレセプター (hPVR; CD155) に対する抗体を用いても同様の CPE 発現阻害効果があることを明らかにした。PV 感染 HeLa 細胞に両抗体を添加しても CPE 発現を阻害することができないことから、これは神経細胞特異的な現象であることが示唆された。PV 感染による CPE 発現機構を理解するために、本研究では神経細胞特異的なポリオウイルス感染に対する抵抗性の機構解析を行った。

はじめに

PV はピコルナウイルス科エンテロウイルス属に分類される一本のプラス鎖 RNA をゲノムとして持つウイルスである。感染細胞内において、PV ゲノム RNA は mRNA として機能する。PV 蛋白質の合成は PV RNA の非翻訳領域に存在する Internal ribosomal entry site (IRES) 依存的に行われる。すなわち、キャップ非依存的翻訳開始機構である (図 1)²⁾。

ヒトにおいて PV 感染は経口感染に始まり、咽頭や腸管上皮で増殖した後、ウイルス血症となる。その後、PV は血液脳関門を通過して中枢神経系に侵入し、主に脊髄前角

の運動神経細胞を破壊し、四肢に弛緩性の麻痺を生じさせる。PVR は PV 感染に重要な役割を担う宿主細胞側因子であり、イムノグロブリン (Ig) スーパーファミリーの一員である。PVR は PV 感染初期、すなわちウイルスの細胞表面への吸着、侵入、脱殻といった段階で重要な役割を担うと考えられている。PV はヒトとサルのみに感染するという明確な種特異性を示すが、この種特異性は PVR の存在によって決定されている。

PV が培養細胞に感染すると、細胞膜の透過性の亢進^{3,4)}、宿主細胞側の転写と翻訳阻害⁵⁻⁸⁾、クロマチンの縮合、核内蛋白質の細胞質への移行⁹⁾などが生じ、劇的な CPE を発現する。PV 蛋白質である 2A^{pro} を HeLa 細胞で単独発現させると CPE を発現することから、2A^{pro} が CPE 発現において重要な因子の一つであることが示唆されている¹⁰⁾。PV RNA は、一つの前駆体ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム (ORF) を持つ。このポリペプチドは翻訳されながら¹¹⁾、PV プロテアーゼにより切断され、機能を持つ各ウイルス蛋白となる¹²⁾。PV プロテアーゼには 2A^{pro} と 3C^{pro} の二種類が存在する。2A^{pro} は Tyr-Gly (Y-G: tyrosine-glycine) 間を、3C^{pro} とその前駆体である 3CD^{pro} は Gln-Gly (Q-G: glutamine-gly-

東京大学大学院医学系研究科・微生物学講座
(〒113-0033 東京都文京区本郷7丁目3番1号)
Anti-poliovirus response of neural cells
Akiko Yanagiya, Seii Ohka, Akio Nomoto
Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan
電話: 03-5841-3407
FAX: 03-5841-3374

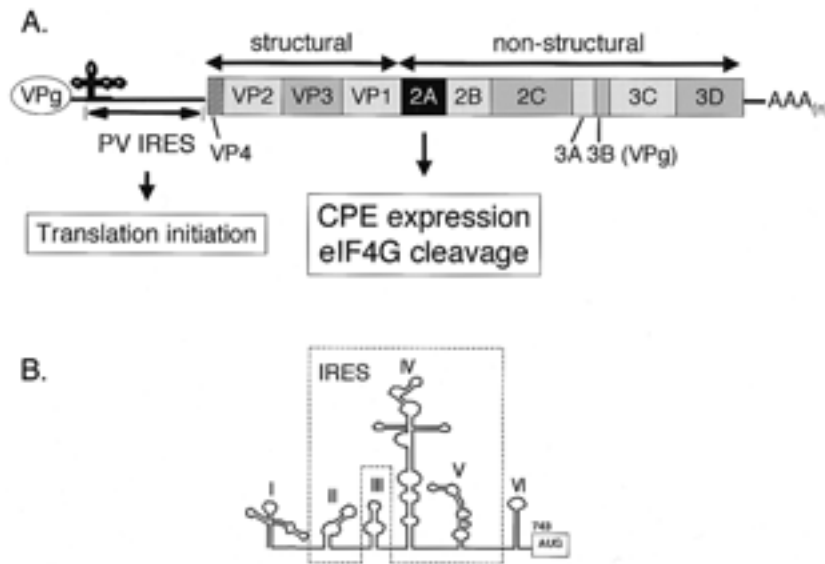


図1 ポリオウイルス (PV) の構造

(A) PV のゲノムは一本のプラス鎖 RNA であり, 感染細胞内で mRNA として機能する. PV 感染による細胞変性効果 (CPE) 発現には PV 由来蛋白質である 2A プロテアーゼ (2A^{pro}) が重要な因子の一つであることが明らかとなっている. (B) PV IRES (internal ribosomal entry site) を含む PV ゲノム 5' 末端の構造を示す. PV はキャップ非依存的翻訳開始を行い, リボソームは PV mRNA の 5' 非翻訳領域内に存在する IRES 領域にエントリーし翻訳を開始する.

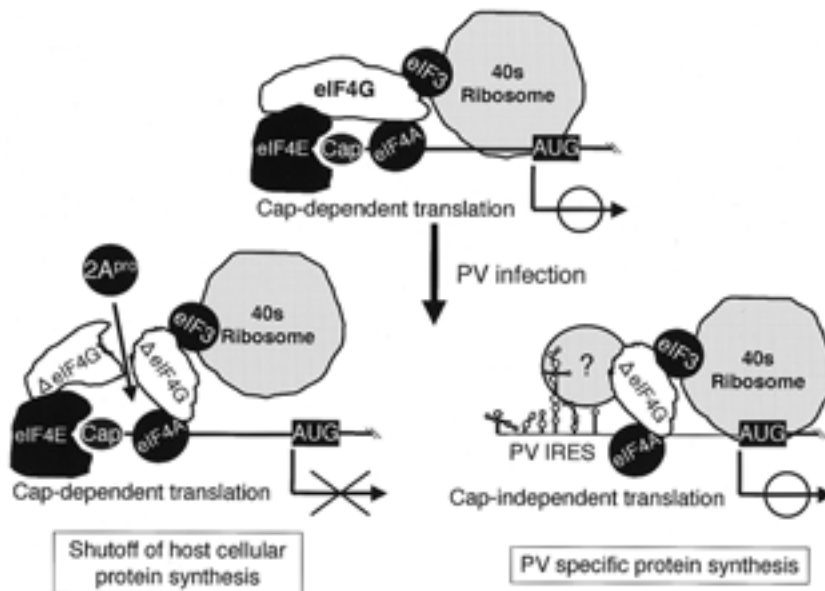


図2 PV 感染細胞内における蛋白合成

PV 感染により, PV 蛋白質である 2A^{pro} が翻訳開始因子の一つである eIF 4 G を切断することにより, キャップ依存的翻訳である宿主細胞側蛋白合成が阻害される. 一方, PV 蛋白質は IRES 領域よりキャップ非依存的に翻訳されるので, 蛋白合成が効率的に行われる.

vine) 間を切断する. 2A^{pro} は PV の構造蛋白質 (P1) と非構造蛋白質 (P2, P3) 間を切断するうえ^{13,14)}, さらに宿主細胞側蛋白質も切断することが報告されている.

2A^{pro} により切断される宿主細胞側蛋白質としては, eucaryotic polypeptide chain initiation factor 4 G (eIF 4 G), poly A binding protein (PABP), TATA binding pro-

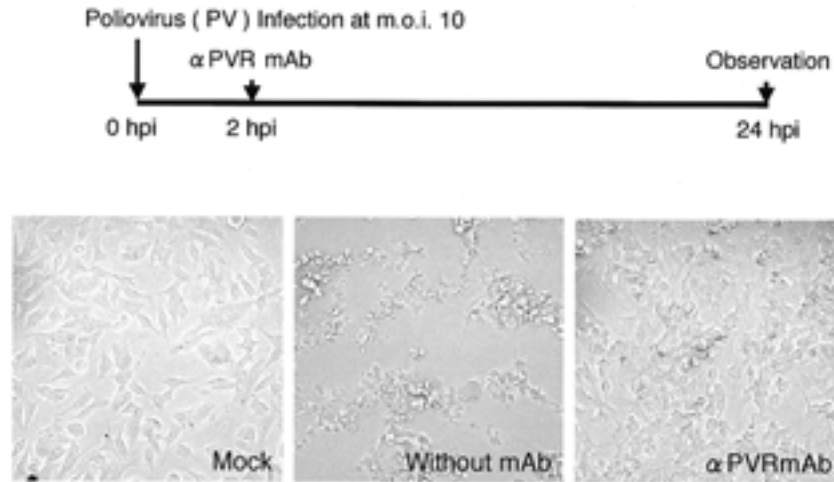


図3 抗hPVR抗体処理による神経細胞特異的なCPE発現阻害
PV感染2時間後に、抗hPVR抗体で神経細胞を処理すると、PVによるCPE発現が抑制された。Mock (mock infected)。

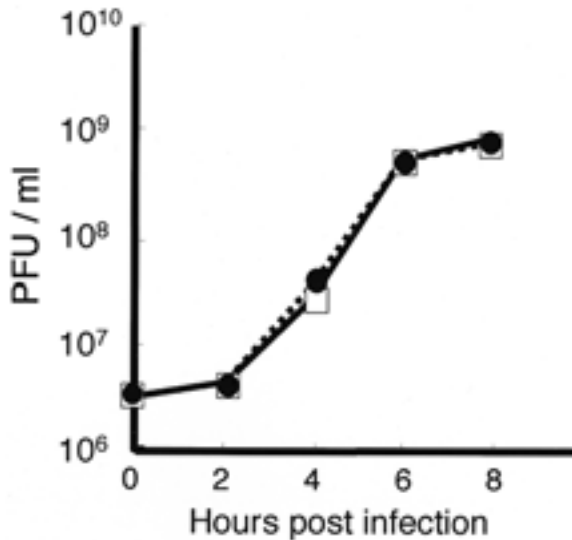


図4 ブラークアッセイ法によるウイルスの一段増殖実験
抗hPVR抗体処理神経細胞と抗体未処理神経細胞内のウイルス複製効率をブラークアッセイ法により検討した。PFU (plaque forming unit)。

tein (TBP) などが挙げられる^{15,16)}。eIF 4 G と PABP は共に翻訳における重要な因子である。PV 感染細胞における翻訳レベルでの変化は $2 A^{PO}$ によって引き起こされると報告されている。 $2 A^{PO}$ が翻訳開始因子の一つである eIF 4 G を切断することによって、宿主細胞側のキャップ依存的翻訳開始が阻害されることが明らかとなっている^{17,18)} (図2)。一方、PV 蛋白質の合成は、キャップ依存的翻訳開始ではなく PV IRES 依存的に行われるので、その翻訳は効率よく進行する。PV は感染細胞にこのような翻訳レベ

ルでの変化を引き起こし、PV 自身の複製を有利なものとしている。

ヒト神経芽細胞種 (SK-N-SH) に PV 感染2時間後、抗 PV 血清を培養液に加えると PV 感染による CPE 発現が阻害されることが報告されていたが、抗 hPVR モノクローナル抗体 (p286) で処理しても、同様に CPE 発現が阻害されることを明らかにした (図3)。非神経細胞である HeLa 細胞ではこれらの抗体の有無に関わらず CPE が発現するので、この現象が神経細胞特異的であることが示唆された。

1. 抗体処理細胞における PV の複製

本研究で使用した抗 PV モノクローナル抗体 (7m008) と抗 hPVR モノクローナル抗体 (p286) はいずれも PV 感染を阻害できる。抗体処理により PV 複製が抑制されるかを検討する目的で、抗 hPVR 抗体処理 PV 感染神経細胞内における PV の一段増殖実験を行った (図4)。その結果、PV 感染時における神経細胞内の PV 複製効率は抗体処理により影響を受けないことが明らかとなった。また、神経細胞における PV 産生量は非神経細胞である HeLa 細胞での PV 産生量とほぼ同じであり、神経細胞においても効率的に PV が複製できることも明らかとなった。したがって、抗体処理以前に感染した PV は抗体存在下でも増殖することが可能であり、抗体が PV の複製を抑制することはないと結論された。すなわち、抗体処理による CPE 発現阻害は PV 複製効率の問題ではないことが示された。

この両抗体のターゲットはそれぞれ PV および hPVR と異なるにも関わらず、CPE 発現阻害に対する効果が同じであることから、PV 感染を阻止するという両抗体に共

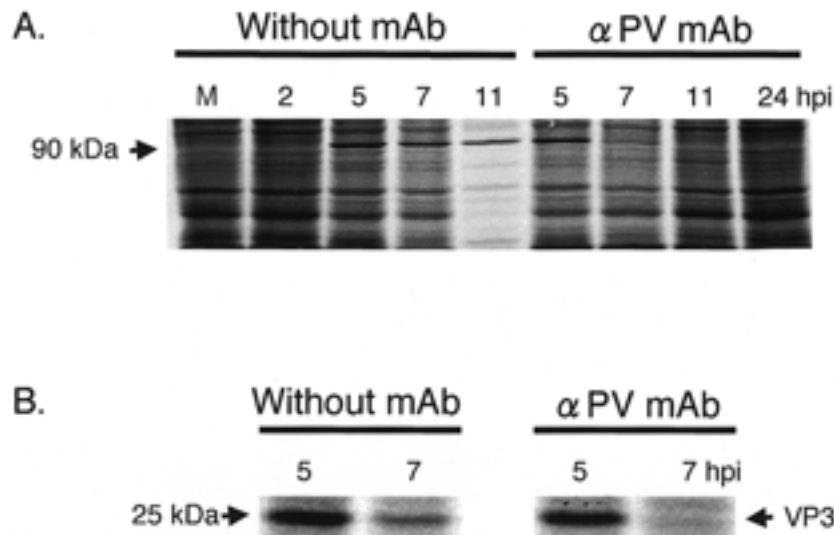


図5 PV 感染神経細胞内における蛋白合成
 パルスラベル法により、PV 感染神経細胞における蛋白合成を検討した。
 (A) PV 感染神経細胞内の宿主細胞側蛋白合成。(B) PV 感染神経細胞内の PV 蛋白合成。M (mock infected)。

通する作用が、CPE 発現阻害において重要である可能性がある。実際、抗体での処理開始時間を子孫ウイルスが産生される感染 4 時間後以降に遅らせると、抗体による CPE 発現抑制作用がなくなる。このことから CPE 発現が抑制されるのは、抗体により子孫ウイルスによる再感染が阻害されることが原因の一つである可能性が示唆された。非神経細胞である HeLa 細胞では、抗体処理をして子孫ウイルスの再感染を阻害しても CPE を発現することから、神経細胞には子孫ウイルスの再感染阻害以外にも CPE 発現抑制に関与している機構が存在している可能性が考えられた。

PV に対する免疫染色実験により、抗体処理神経細胞では、感染 11 時間後までに一度は増殖した PV が感染 24 時間後ではほとんど細胞からクリアランスされていることが明らかとなり、神経細胞特異的にウイルスをクリアランスする機構が存在する可能性が示唆された。以下の実験では、ウイルスをクリアランスする神経細胞特異的な分子機構の存在を検討した。

2. 抗体処理神経細胞における蛋白合成

^{35}S -methionine を用いたパルスラベル法により、PV 感染神経細胞内における蛋白合成を経時的に検討した (図 5)。抗体処理を行わない場合、感染 11 時間後には宿主細胞側蛋白合成が阻害されていた。一方、抗体処理を行った場合、宿主細胞側蛋白合成は持続されることが明らかとなった (図 5A)。また、抗体処理神経細胞では、PV 蛋白合成は感染 7 時間後までに阻害されることが明らかとなった (図 5B)。この結果より、抗体処理による子孫ウイルス

の再感染阻害および PV 蛋白合成の選択的抑制という二つの機構によって、感染細胞内における PV 蛋白質の蓄積が抑制される可能性が示唆された。この PV 蛋白質の蓄積抑制が、神経細胞における CPE 発現阻害の原因の一つであることが示唆された。

非神経細胞である HeLa 細胞の場合、抗体の有無に関わらず、感染 5 時間後には宿主細胞側蛋白合成が阻害され、PV 蛋白合成のみが行われていた。両細胞の PV に対する感受性は異なり、神経細胞は HeLa 細胞と比べて、約 10 倍感受性が低い。この PV に対する感受性の差が両感染細胞に蛋白合成機構の違いをもたらしているのではないかと考えた。そこでこの可能性を検討する為に、神経細胞に HeLa の約 10 倍の力価の PV を感染させたところ、1 倍の力価の場合と蛋白合成パターンがまったく同じであった。以上の結果から、両細胞間の蛋白合成パターンの差は、それらの PV に対する感受性の差により生じているのではないことが示された。

PV 蛋白合成阻害が、転写レベルまたは翻訳レベルのどちらの段階で生じているかを検討するために以下の実験を行った。ノーザンブロット法により、抗体処理神経細胞内で PV IRES 依存的翻訳開始による PV 蛋白合成が阻害される感染 7 時間後において、PV mRNA の存在を検討したところ、確かに存在することが明らかとなった。したがって、PV 蛋白合成の阻害は翻訳レベルの阻害である。すなわち、PV IRES 活性が阻害されている可能性が示唆された。PV IRES は RNA の特殊な二次構造を持っており、その活性発現に必要な細胞側因子として、La 蛋白質^{19~22)}、polypyrimidine tract binding protein (PTB)^{23,24)}、poly (rC)

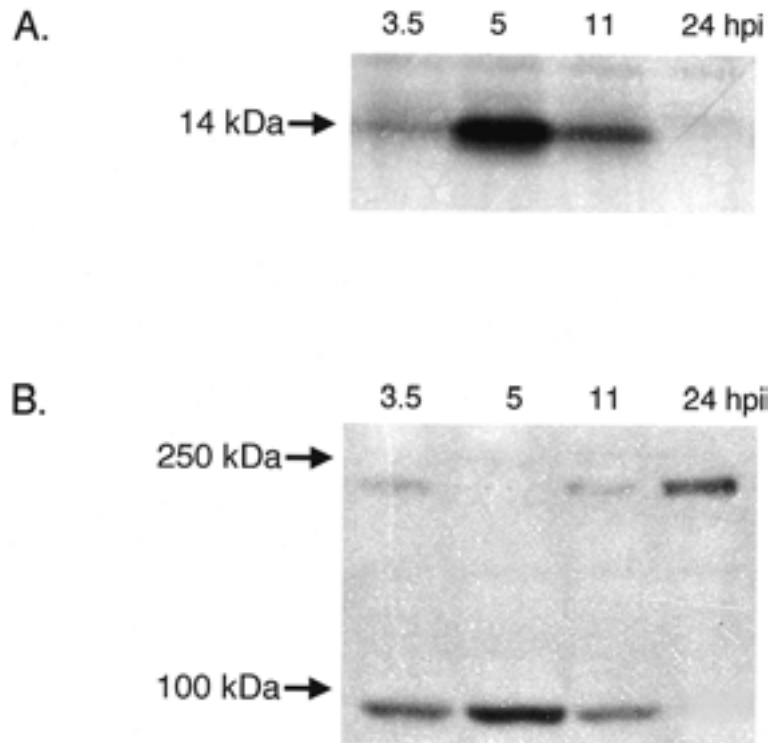


図 6 抗 PV 抗体処理 PV 感染神経細胞における 2 A^{pro} の発現量と eIF 4 G の切断
 抗 PV 抗体処理 PV 感染神経細胞における 2 A^{pro} の発現量 (A) と翻訳開始因子の一つである eIF 4 G の切断 (B) をウエスタンブロット法により検討した。220kDa のバンドは完全長の eIF 4 G を示し、約100kDa のバンドは切断型 eIF 4 G を示す。M (mock infected)。

binding protein 2 (PCBP-2)^{25,26)}などが報告されている。これら以外にも、PV IRES 活性発現に関わる細胞側因子が存在している可能性があり、またそれら因子の発現量は各細胞により異なることが予測される。以上のことから、神経細胞内では PV 感染に応答して発現する分子が存在し、その作用によって PV IRES 活性が阻害されている可能性が考えられた。

3. 抗体処理神経細胞における 2 A^{pro} および eIF 4 G の経時変化

PV 感染時による CPE 発現に重要な役割を担っているのは 2 A^{pro} であるので、CPE 発現が抑制される抗体処理神経細胞におけるその発現量をウエスタンブロット法により検討した。その結果、感染11時間後の抗体処理神経細胞では 2 A^{pro} の発現量が減少しているが、細胞内に依然として存在していることが明らかとなった (図 6 A)。

抗体処理神経細胞内の 2 A^{pro} を介した eIF 4 G の切断をウエスタンブロット法により検討した (図 6 B)。その結果、eIF 4 G は感染 5 時間後までに一度は完全に切断されるが、感染11時間後には再び完全長の eIF 4 G が出現する

ことが明らかとなった。また感染24時間後では完全長の eIF 4 G のみが検出されることから、完全長の eIF 4 G による蛋白合成が復活していると考えられた。このために抗体処理神経細胞では宿主細胞側蛋白合成が継続的に行われていると思われる。

抗体未処理神経細胞内においては、eIF 4 G は感染 5 時間後に完全に切断され、完全長の eIF 4 G はそれ以後存在しないのであるが、図 5 A に示すように宿主細胞側蛋白合成は感染11時間後になって初めてほぼ完全に阻害される。このことから、完全長の eIF 4 G に代わって、宿主細胞蛋白合成を担う他の翻訳因子が神経細胞には存在している可能性が示唆された。

PV 感染11時間後の抗体処理神経細胞内で 2 A^{pro} は検出されるのにも関わらず、完全長の eIF 4 G が出現することから、2 A^{pro} がなんらかの原因により eIF 4 G の切断を行うことができない状態になっている可能性が示唆された。その原因の一つとして、eIF 4 G が存在する細胞質に 2 A^{pro} が存在していない可能性が考えられたので、以下の実験では、PV 感染時における 2 A^{pro} の細胞内局在を経時的に検討することにした。

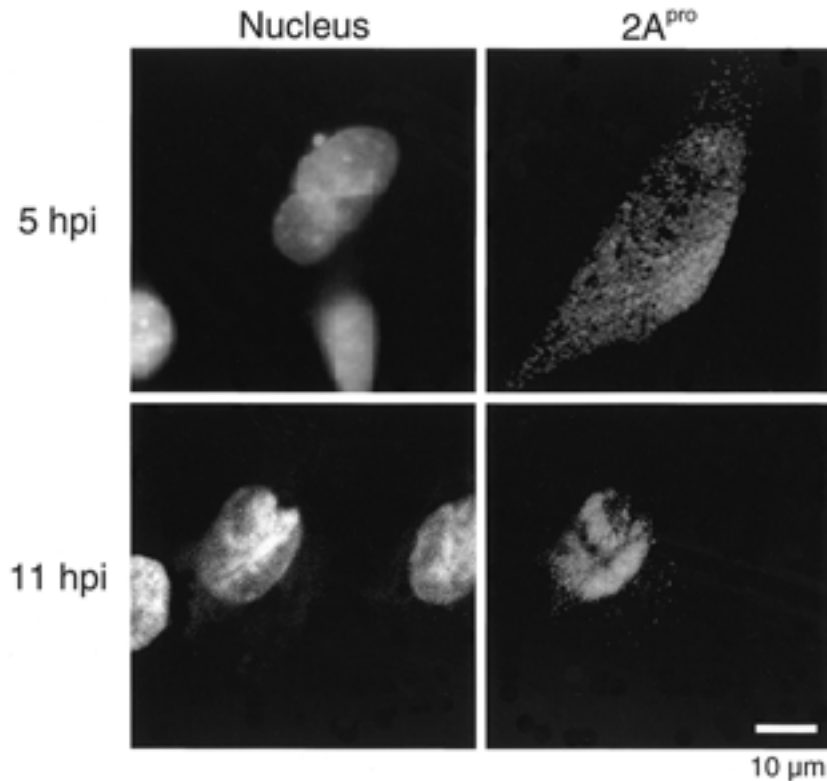


図7 抗 hPVR 抗体処理 PV 感染神経細胞内における 2A^{pro} の局在
抗 hPVR 抗体処理 PV 感染神経細胞における 2A^{pro} の局在を免疫染色法により検討した。

4. PV 感染神経細胞内における 2A^{pro} の局在

HA tag を付加した 2A^{pro} を発現するようなりコンビナントウイルスを作製し、免疫染色法により 2A^{pro} の細胞内局在を検討した(図7)。その結果、感染5時間後の抗 hPVR 抗体処理神経細胞では、2A^{pro} は細胞質と核の両方に存在していた。また、感染11時間後の抗体処理神経細胞では 2A^{pro} は核に局在しており、細胞質には検出されなかった。抗 PV 抗体処理の場合もこの局在は同様な結果であった。これらの結果より、感染11時間後の抗体処理神経細胞において 2A^{pro} が核に局在することが、2A^{pro} の eIF 4G 切断活性消失の原因であると考えられた。また、今回初めて PV 感染細胞内において 2A^{pro} が核内に移行することが明らかとなったが、2A^{pro} の核内における機能は現在のところ不明である。PV 蛋白質はその種類が少数であることから、一つのウイルス蛋白質が多機能を持つ可能性は十分に考えられる。2A^{pro} の基質として核内蛋白質である TBP が切断されることが報告されているが、この現象と 2A^{pro} の核局在がどのような関係にあるのか大変興味深いところである。

5. 2A^{pro} 単独発現細胞におけるその細胞内局在

2A^{pro} が他の PV 蛋白質の非存在下でも核局在するかを

検討するために、2A^{pro} 発現プラスミドを神経細胞にトランスフェクションし、一過性に単独発現させて免疫染色法によりその局在を検討した(図8)。その結果、2A^{pro} を単独発現させると、トランスフェクション4日後でも CPE を発現せず、2A^{pro} は核に局在することが明らかとなった。これらの結果から、2A^{pro} が核局在することが抗体処理 PV 感染神経細胞において CPE 発現が阻害される原因の一つである可能性が示唆された。

PV 感染細胞において核膜孔複合体(nuclear pore complex; NPC)の構成分子が分解され、核-細胞質間輸送系が攪乱されるとの報告がある²⁷⁾。PV 感染細胞では、宿主細胞の核内蛋白質が細胞質に移行する現象が報告されている^{19, 28, 29)}。また核内蛋白質である La 蛋白質は、その C 末端側にある核局在化シグナル(nuclear localization signal; NLS)が PV 蛋白質である 3C^{pro} により切除され、核から細胞質に移行する³⁰⁾。この PV 感染細胞内における核内蛋白質の細胞質への移行と PV による CPE 発現との関係は明らかとなっていない。

6. 抗体処理 PV 感染神経細胞における CPE 発現阻害機構

以上の結果をまとめると、抗体処理 PV 感染神経細胞で

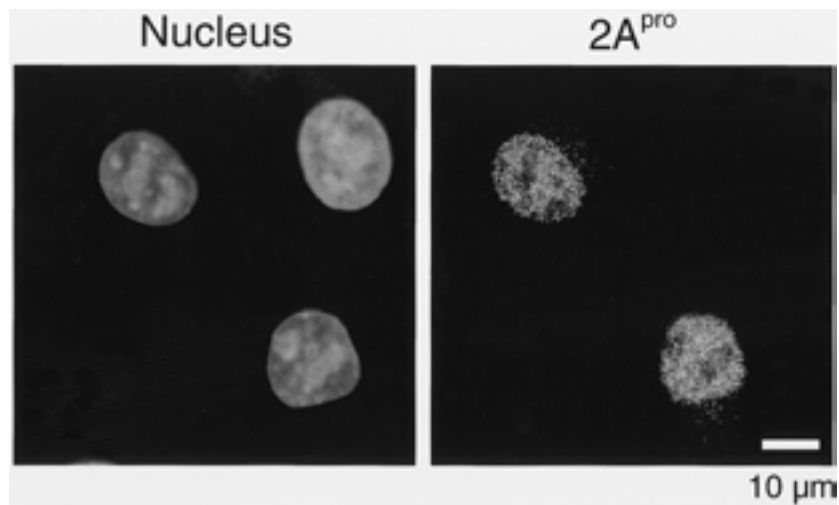


図8 2A^{pro}の一過性発現
哺乳細胞発現ベクターを用いて、2A^{pro}を神経細胞に一過性発現させ、2日後に細胞を固定し、免疫染色法によりその局在を検討した。

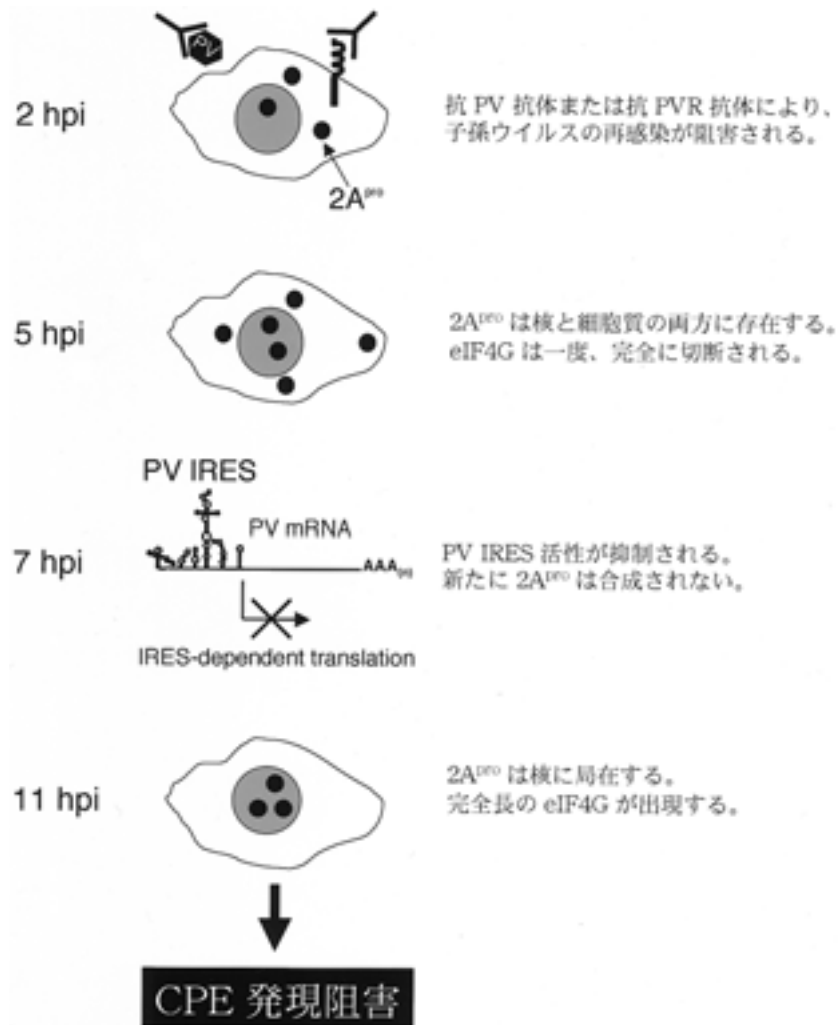


図9 抗体処理神経細胞における CPE 発現阻害機構
抗体処理神経細胞内における CPE 発現阻害機構を示した。
hpi (hours post infection).

は以下のような機構により CPE 発現を阻害している可能性が示唆された (図 9)。PV 感染 2 時間後に抗 PV 抗体または抗 hPVR 抗体を培養液に加えることにより、子孫ウイルスによる再感染を阻害する。各抗体処理以前に感染した PV は通常に複製が可能である。感染 5 時間後に $2A^{pro}$ は細胞質と核の両方に存在するので、細胞質にある eIF 4 G は一度切断される。感染 7 時間後では PV IRES による翻訳活性が阻害されて、PV 蛋白質合成が阻止される。この時点で $2A^{pro}$ は新たに細胞質において合成されなくなる。感染 11 時間後では $2A^{pro}$ が核内に局在するので、完全長の eIF 4 G が細胞質に出現する。そのため、宿主細胞側の翻訳が回復し、結果として神経細胞は生存し続ける。以上の機構により、抗体処理神経細胞では PV 感染による損傷を最小限に食い止めている可能性が示された。

おわりに

ヒトにおいて、中枢神経系に存在する神経細胞は、血液脳関門により他の組織から隔たれていることから、他の組織とは異なった生体防御機構を持っていると考えられる。免疫系の関与は単球由来のミクログリアなどの細胞性免疫である。ミクログリアは遊走能、貪食能を持ち、サイトカインを産生することから、免疫調節細胞として、神経-免疫相互作用に重要な役割を担っている。近年、intracellular immunity として、dsRNA によって誘導される二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (double-stranded RNA-dependent protein kinase; PKR) や RNA interference (RNAi) などが報告されている。本研究により、神経細胞自身にもこのような intracellular immunity の機構が存在していることが明らかになりつつある。今回の実験では神経細胞自体が持つ PV 抵抗性の存在を示すことが出来た。実際、PV 感染後のサルにおいて、一度は変性しかけた神経細胞が回復していく現象も観察されているので、本研究の各抗体処理による CPE 発現阻害現象は *in vivo* での現象を反映している可能性がある^{3,31)}。このような PV IRES の活性を阻害する物質を同定できれば、抗ウイルス剤としての候補になると期待される。

本研究により、抗体処理感染神経細胞において、PV 蛋白質合成が翻訳レベルで阻害されていることが明らかとなった。また、神経細胞と非神経細胞である HeLa 細胞とでは、PV 感染時における経時的な蛋白合成に違いがあることが明らかとなった。過去の PV 感染による翻訳レベルの実験はそのほとんどが非神経細胞で行われており、本研究により、PV の本来のターゲットの一つである神経細胞を用いて翻訳レベルの実験を行う重要性が示唆された。

抗体処理感染神経細胞において eIF 4 G が完全に切断されている PV 感染 5 時間後から感染 10 時間後の間は、通常 eIF 4 G 以外の翻訳開始因子が完全長の eIF 4 G の代わりに翻訳に関わっている可能性がある。eIF 4 G ファミリー

には数種類の分子が存在することが報告されている。例えば、p97/NAT 1/DAP 5 という eIF 4 G ファミリーの分子は、eIF 4 G の N 末端が欠損したものであり、PV 感染により切断された eIF 4 G の C 末端側に類似した構造を持つ³²⁻³⁴⁾。このような eIF 4 G ファミリーに属する他の分子または他の翻訳に関わる宿主細胞側分子が神経細胞には発現しており、完全長の eIF 4 G が存在しない時にそれらが機能している可能性が考えられる。すなわち、神経細胞では非神経細胞にはない翻訳制御機構が存在し、ウイルス感染といったストレス環境に適応する機構を持っている可能性が考えられる。

PV 感染細胞では短時間で CPE が発現するが、この時、細胞内において分子の挙動は劇的に変化している。したがって、感染細胞内における各分子の転写、翻訳レベルでの制御機構、細胞内局在、量的変化や質的变化を短時間に経時的かつ総合的に評価することは、PV の神経毒性発現にとって基本的でしかも、非常に有益な知見をもたらすと考えている。

謝 辞

日本ポリオ研究所の堀江均先生と橋爪壮先生には、抗 PV 中和抗体 (7m008) を提供して頂いたことに、お礼申し上げます。

文 献

- 1) Tolskaya, E. A., Ivannikova, T. A., Kolesnikova, M. S., Drozdov, S. G., and Agol, V. I. (1992). Postinfection treatment with antiviral serum results in survival of neural cells productively infected with virulent poliovirus. *J. Virol.* **66**, 5152-5156.
- 2) Pelletier, J., and Sonenberg, N. (1988). Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature* **334**, 320-325.
- 3) Bodian, D. (1949). Histopathologic basis of clinical finding in poliomyelitis. *Am. J. Med.* **6**, 563-578.
- 4) Carrasco, L. (1978). Membrane leakiness after viral infection and a new approach to the development of antiviral agents. *Nature* **272**, 694-699.
- 5) Mandel, B. (1967). The relationship between penetration and uncoating of poliovirus in HeLa cells. *Virology* **31**, 702-712.
- 6) Clark, M. E., Hammerle, T., Wimmer, E., and Dasgupta, A. (1991). Poliovirus proteinase 3C converts an active form of transcription factor III C to an inactive form: a mechanism for inhibition of host cell polymerase III transcription by poliovirus. *EMBO J.* **10**, 2941-2947.
- 7) Clark, M. E., Lieberman, P. M., Berk, A. J., and Dasgupta, A. (1993). Direct cleavage of human TATA-binding protein by poliovirus protease 3C *in vivo* and *in vitro*. *Mol. Cell. Biol.* **13**, 1232-1237.
- 8) Yalamanchili, P., Harris, K., Wimmer, E., and Dasgupta, A. (1996). Inhibition of basal transcription by

- poliovirus : a virus-encoded protease (3C^{pro}) inhibits formation of TBP-TATA box complex *in vitro*. *J. Virol.* **70**, 2922–2929.
- 9) Meerovitch, K., Svitkin, Y. V., Lee, H. S., Lejbkovicz, F., Kenan, D. J., Chan, E. K., Agol, V. I., Keene, J. D., and Sonenberg, N. (1993). La autoantigen enhances and corrects aberrant translation of poliovirus RNA in reticulocyte lysate. *J. Virol.* **67**, 3798–3807.
 - 10) Barco, A., Feduchi, E., and Carrasco, L. (2000). A stable HeLa cell line that inducibly expresses poliovirus 2A^{pro} : effects on cellular and viral gene expression. *J. Virol.* **74**, 2383–2392.
 - 11) Wimmer, E., Hellen, C. U., and Cao, X. (1993). Genetics of poliovirus. *Annu. Rev. Genet.* **27**, 353–436.
 - 12) Krausslich, H. G., and Wimmer, E. (1988). Viral proteinases. *Annu. Rev. Biochem.* **57**, 701–754.
 - 13) Pallansch, M. A., Kew, O. M., Semler, B. L., Omilianowski, D. R., Anderson, C. W., Wimmer, E., and Rueckert, R. R. (1984). Protein processing map of poliovirus. *J. Virol.* **49**, 873–880.
 - 14) Toyoda, H., Nicklin, M. J., Murray, M. G., Anderson, C. W., Dunn, J. J., Studier, F. W., and Wimmer, E. (1986). A second virus-encoded proteinase involved in proteolytic processing of poliovirus polyprotein. *Cell* **45**, 761–770.
 - 15) Yalamanchili, P., Banerjee, R., and Dasgupta, A. (1997). Poliovirus-encoded protease 2A^{pro} cleaves the TATA-binding protein but does not inhibit host cell RNA polymerase II transcription *in vitro*. *J. Virol.* **71**, 6881–6886.
 - 16) Joachims, M., Van Breugel, P. C., and Lloyd, R. E. (1999). Cleavage of poly(A)-binding protein by enterovirus proteases concurrent with inhibition of translation *in vitro*. *J. Virol.* **73**, 718–727.
 - 17) Etchison, D., Milburn, S. C., Edery, I., Sonenberg, N., and Hershey, J. W. (1982). Inhibition of HeLa cell protein synthesis following poliovirus infection correlates with the proteolysis of a 220,000-dalton polypeptide associated with eucaryotic initiation factor 3 and a cap binding protein complex. *J. Biol. Chem.* **257**, 14806–14810.
 - 18) Krausslich, H. G., Nicklin, M. J., Toyoda, H., Etchison, D., and Wimmer, E. (1987). Poliovirus proteinase 2A induces cleavage of eucaryotic initiation factor 4F polypeptide p220. *J. Virol.* **61**, 2711–2718.
 - 19) Meerovitch, K., Pelletier, J., and Sonenberg, N. (1989). A cellular protein that binds to the 5'-noncoding region of poliovirus RNA : implications for internal translation initiation. *Genes Dev.* **3**, 1026–1034.
 - 20) Svitkin, Y. V., Meerovitch, K., Lee, H. S., Dholakia, J. N., Kenan, D. J., Agol, V. I., and Sonenberg, N. (1994). Internal translation initiation on poliovirus RNA : further characterization of La function in poliovirus translation *in vitro*. *J. Virol.* **68**, 1544–1550.
 - 21) Belsham, G. J., Sonenberg, N., and Svitkin, Y. V. (1995). The role of the La autoantigen in internal initiation. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **203**, 85–98.
 - 22) Craig, A. W., Svitkin, Y. V., Lee, H. S., Belsham, G. J., and Sonenberg, N. (1997). The La autoantigen contains a dimerization domain that is essential for enhancing translation. *Mol. Cell. Biol.* **17**, 163–169.
 - 23) Hellen, C. U., Witherell, G. W., Schmid, M., Shin, S. H., Pestova, T. V., Gil, A., and Wimmer, E. (1993). A cytoplasmic 57-kDa protein that is required for translation of picornavirus RNA by internal ribosomal entry is identical to the nuclear pyrimidine tract-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **90**, 7642–7646.
 - 24) Hellen, C. U., Pestova, T. V., Litterst, M., and Wimmer, E. (1994). The cellular polypeptide p57 (pyrimidine tract-binding protein) binds to multiple sites in the poliovirus 5' nontranslated region. *J. Virol.* **68**, 941–950.
 - 25) Blyn, L. B., Towner, J. S., Semler, B. L., and Ehrenfeld, E. (1997). Requirement of poly(rC) binding protein 2 for translation of poliovirus RNA. *J. Virol.* **71**, 6243–6246.
 - 26) Gamarnik, A. V., and Andino, R. (1997). Two functional complexes formed by KH domain containing proteins with the 5' noncoding region of poliovirus RNA. *RNA* **3**, 882–892.
 - 27) Gustin, K. E., and Sarnow, P. (2001). Effects of poliovirus infection on nucleocytoplasmic trafficking and nuclear pore complex composition. *EMBO J.* **20**, 240–249.
 - 28) McBride, A. E., Schlegel, A., and Kirkegaard, K. (1996). Human protein Sam68 relocalization and interaction with poliovirus RNA polymerase in infected cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **93**, 2296–2301.
 - 29) Waggoner, S., and Sarnow, P. (1998). Viral ribonucleoprotein complex formation and nucleolar-cytoplasmic relocalization of nucleolin in poliovirus-infected cells. *J. Virol.* **72**, 6699–6709.
 - 30) Shiroki, K., Isoyama, T., Kuge, S., Ishii, T., Ohmi, S., Hata, S., Suzuki, K., Takasaki, Y., and Nomoto, A. (1999). Intracellular redistribution of truncated La protein produced by poliovirus 3C^{pro}-mediated cleavage. *J. Virol.* **73**, 2193–2200.
 - 31) Bodian, D. (1976). Poliomyelitis and the sources of useful knowledge. *Johns Hopkins Med. J.* **138**, 130–136.
 - 32) Imataka, H., Olsen, H. S., and Sonenberg, N. (1997). A new translational regulator with homology to eucaryotic translation initiation factor 4G. *EMBO J.* **16**, 817–825.
 - 33) Levy-Strumpf, N., Deiss, L. P., Berissi, H., and Kimchi, A. (1997). DAP-5, a novel homolog of eucaryotic translation initiation factor 4G isolated as a putative modulator of gamma interferon-induced programmed cell death. *Mol. Cell. Biol.* **17**, 1615–1625.
 - 34) Yamanaka, S., Poksay, K. S., Arnold, K. S., and Innerarity, T. L. (1997). A novel translational repressor mRNA is edited extensively in livers containing tumors caused by the transgene expression of the apoB mRNA-editing enzyme. *Genes Dev.* **11**, 321–333.