

## 宿主細胞のミトコンドリア機能に対する RSウイルス感染の影響の研究

### Introduction

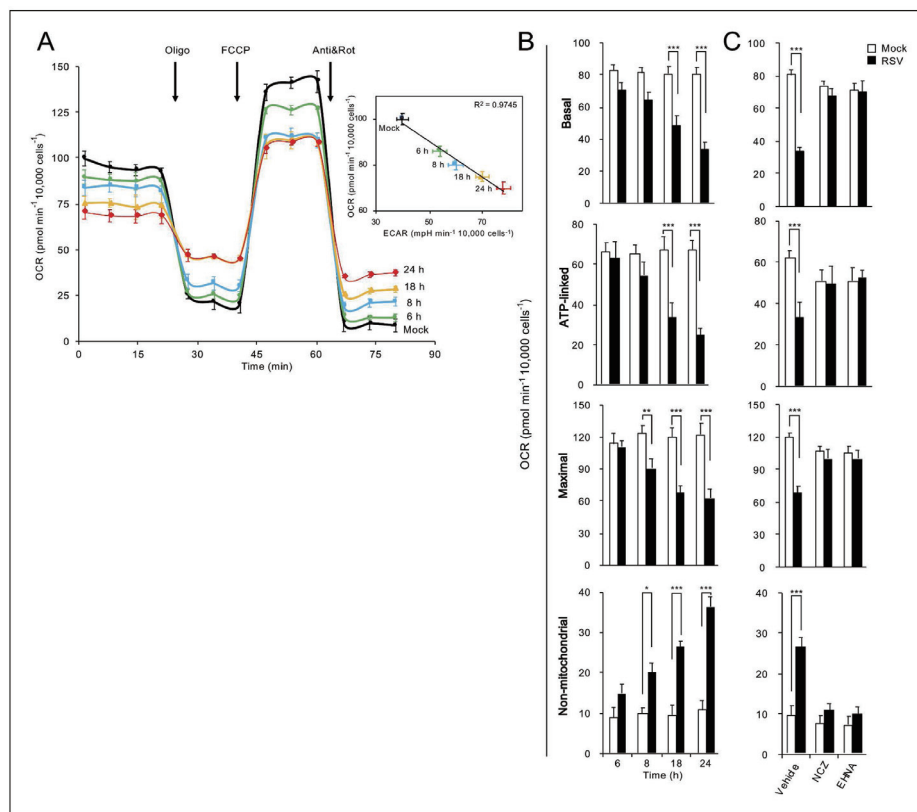
病原ウイルスは、それらの複製と拡散のための理想的な環境を確保するためにそれぞれの戦略を持ち、従って、多数の宿主細胞経路を変化させるように進化してきました。最近の研究は、多くのウイルスが中心的な炭素代謝経路とミトコンドリア機能の変化の乗っ取りを含む、宿主細胞の代謝における大規模な変化を誘発することを示してきました。ウイルスの複製に必要とされるこれらの代謝変化をより深く理解することにより、特定のミトコンドリア機能および／または代謝経路の標的となる改変を介した、革新的な治療的戦略につながる可能性があります。

RSウイルス (RSV; Respiratory syncytial virus) は乳児における気道疾患の主な原因で、免疫抑制および高齢の成人の脅威となる呼吸器の病原体であり、毎年世界的にインフルエンザよりも多数の死者を出しています。現在では、有効な抗RSV治療法がなく、このことは、宿主-病原体相互作用をより深く理解する必要性を強調しています。

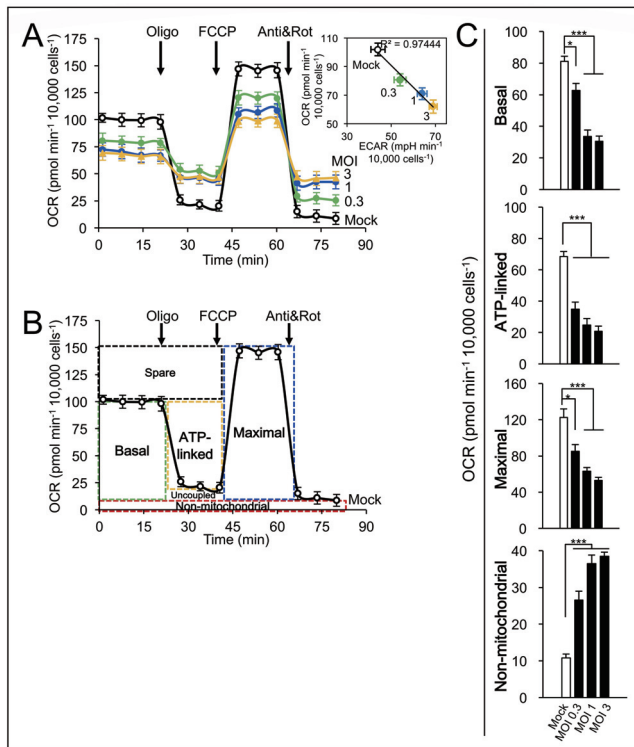
肺炎ウイルス属 (例えばRSV) は、細胞質で複製します。従って、ウイルス感染の宿主細胞代謝と生体エネルギーへの影響が、最近の研究の焦点となってきました。これは後述の例で説明されています。RSV感染は、ミトコンドリア分布と機能に影響を与える細胞の細胞骨格組織と運動活性の変化を誘発します。これは微小管とアクチンフィラメントの上で動作する分子モーター (例えば、ダイニンATPase) の動きを通してミトコンドリアが細胞内に再分布するためです。

Agilent Seahorse XFテクノロジーは、生きた細胞におけるエネルギー代謝の基本的なプロセスのリアルタイムな見解を供給します。この能力は、宿主細胞への病原体感染の代謝への影響 (ミトコンドリア機能に対する特定のものを含む) について、容易な調査を可能にし、重要な宿主-病原体相互作用についての新しい洞察を提供します。これらの洞察は、次に、新しい治療方針の開発に対して情報を与える可能性があります。

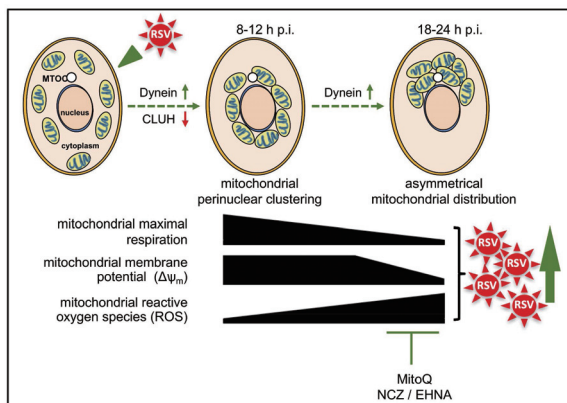
Hu et al.<sup>1</sup>は、ミトコンドリア機能のパラメータを計測するためにXF3ミトストレステストの実用性を利用し、small interference RNAs (siRNAs)、酸化還元/膜電位測定、高解像度定量的イメージング/フローサイトメトリー解析、の直交アッセイ法と組み合わせて、感染した細胞でRSVがミトコンドリアの段階的な再分布を引き起こすことを示しました。この再分布は、微小管とダイニン依存性の様式で起こり、ミトコンドリア呼吸の減少と解糖活性の増加と同時に起こることが観察されました (Figure 1)。これらの変化は、それぞれFigure 1および2に示されるように、感染後の時間 (p.i.) と初期量 (すなわち、multiplicity of infection (感染多重度、MOI)) と相関していました。このミトコンドリア再分布を、微小管脱重合剤であるノコダゾール (NCZ) またはダイニンATPase 阻害剤であるEHNAを伴ったRSV感染によって阻害することで、ミトコンドリア活性の回復をもたらす、RSV感染から保護しました。結論として、著者らの詳細な研究は、将来の治療的なアプローチにとって重要な、宿主細胞のミトコンドリアに対するRSV感染のいくつかの新しい影響を明らかにします。具体的には、研究はダイニン/微小管依存性のミトコンドリア再分布および/またはミトコンドリア活性酸素種 (ROS) 産生の阻害剤が、RSV感染を制限することを示し、特にマウスでMitoQを用いた際、ウイルス血症と気道炎症を減少させることができます (Figure 3)。この研究は、宿主細胞のミトコンドリア機能の治療的な調節がRSV感染に対抗するための潜在的なターゲットとなることを示しています。



**Figure 1.** RSV感染は、ダイニン/微小管依存性の様式で宿主ミトコンドリア呼吸を阻害する。細胞の生体エネルギーの解析は、Agilent Seahorse XF96 細胞外フラックスアナライザーを用いて実施した。(AとB) 24時間のモック感染、または6~24時間のRSV感染 (MOI 1)、(C) 微小管脱重合剤ノコダゾール (NCZ、17 $\mu\text{M}$ ) または最後の2時間にわたるダイニンATPase阻害剤 EHNA (200 $\mu\text{M}$ ) の添加を伴う18時間のRSV感染 (MOI 1)。(A) これらの実験で得られた典型的な酸素消費速度 (OCR) の例。OCRは、ATP合成酵素阻害剤であるオリゴマイシン (Oligo、1 $\mu\text{M}$ )、プロトン・イオノフォアであるFCCP (1 $\mu\text{M}$ )、ミトコンドリア複合体III阻害剤であるアンチマイシンA (Anti、1 $\mu\text{M}$ ) とミトコンドリア複合体I阻害剤であるロテノン (Rot、1 $\mu\text{M}$ ) の連続した添加の上で、リアルタイムに計測した。挿入図: ミトコンドリア呼吸の計測であるOCRと、解糖の指標である細胞外酸性化速度 (ECAR) の相関 ( $R^2=0.9745$ )。(BとC) 基底、ATP産生、最大および非ミトコンドリア呼吸のミトコンドリア呼吸機能パラメータを計測した。結果は、独立したn=3の、それぞれtriplicateで実施した実験の平均 $\pm$ SEMを示す。モック感染細胞と比較して、\*\*\*p < 0.001、\*\*p < 0.01、\*p < 0.05。



**Figure 2.** 感染多重度 (MOI) と宿主細胞ミトコンドリア呼吸に対する影響の相関。細胞の生体エネルギーの解析は、Agilent Seahorse XF96細胞外フラックスアナライザーを用いて実施した。(A ~ C) A549細胞は、24時間モック感染またはRSV感染させた (MOI 0.3~3)。(A) 計測/解析は、Figure 1に従って実施した。挿入図：線形回帰によるOCRとECARの相関 ( $R^2=0.97444$ )。(B) 基底、ATP産生、最大、非ミトコンドリア呼吸パラメータの算出を示す概略図。(C) プールされた結果を、Figure 1に従って算出した。モック感染と比較して、\*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$ 。



**Figure 3.** RSV感染を支持する進行性の宿主細胞の変化の概略図。感染初期 (8~12h p.i.) のミトコンドリアの核周囲クラスター形成を伴い、RSV感染はミトコンドリア組織の変化を誘発し、その後、感染後期 (18~24h p.i.) にMTOCの近くにミトコンドリアが非対称に分布する。ミトコンドリア再分布の両方のフェーズ (上段) は、ダイニン構成要素 (DYNL1またはDYNC1H1で導かれるsiRNAsによって阻害される) に依存し、CLUHによって制限される核周囲クラスター形成を伴う (CLUHで導かれるsiRNAは、ミトコンドリアROS産生とRSVウイルス産生と同様に核周囲クラスター形成を増加させる)。これらの変化を伴って、RSV感染は宿主ミトコンドリア呼吸を阻害し、ミトコンドリア膜電位 ( $\Delta\psi_m$ ) の維持を阻害して、ミトコンドリアROS生成を増強する。RSV感染性ウイルスの産生は、ノコダゾール (NCZ) を用いた微小管組織の破壊、EHNAによるダイニンモーターの阻害、またはミトコンドリアを標的とした抗酸化剤MitoQの使用により減少するため、示されているように、これらのイベントはRSV感染を支持する。

## References

1. Hu, M. et al. Respiratory Syncytial Virus Co-opts Host Mitochondrial Function to Favor Infectious Virus Production. *Elife* 2019, 8, e42448. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31246170/>.

●お問合せ先 (Seahorse XFシリーズ 販売店) :



**プライムテック株式会社**

東京都文京区小石川 1-3-25 小石川大国ビル2F  
Phone: [東京] 03-3816-0851 [大阪] 06-6310-8077  
<http://www.primetech.co.jp/> [sales@primetech.co.jp](mailto:sales@primetech.co.jp)

※本文書に記載の製品は、すべて研究・実験用です。  
人・動物の診断あるいは治療等の臨床用途に使用することはできません。

●製造元 :



DE44273.8070138889

rev02 (202107E)