

ウイルスタンパク質とミトコンドリアとの相互作用

吉住, 拓馬
九州大学大学院システム生命科学府

安川, 開
九州大学大学院システム生命科学府

小柴, 琢己
九州大学大学院システム生命科学府 | 九州大学大学院理学研究院生物科学部門

<https://doi.org/10.15017/1785664>

出版情報：福岡醫學雑誌. 107 (8), pp.148-154, 2016-08-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

総 説

ウイルスタンパク質とミトコンドリアとの相互作用

¹⁾九州大学大学院 システム生命科学府

²⁾九州大学大学院理学研究院 生物科学部門

吉住 拓馬¹⁾, 安川 開¹⁾, 小柴 琢己^{1)2)*}

はじめに

ミトコンドリアは、真核細胞内に存在する二重膜構造（外膜、及び内膜）を有した特徴的なオルガネラであり、その主な生理機能として、呼吸活性に依る ATP 産生が挙げられる¹⁾。また、ミトコンドリアはエネルギー産生以外にも、例えば細胞死（アポトーシス）の制御²⁾ や細胞内カルシウムイオン濃度の調節³⁾、さらには様々なシグナル伝達反応⁴⁾ ともリンクしている多面的な側面を合わせ持つことも知られている。このようなミトコンドリアの機能発現は、近年の研究により、ミトコンドリア自身の動的な形態（ミトコンドリア・ダイナミクスと呼ばれる）と密接な関係にあることが明らかになってきた⁵⁾。

特にここ十年では、ミトコンドリアによる新たな役割として、高等哺乳動物の RNA ウイルス感染に伴った自然免疫応答の拠点としての機能も注目を集めている⁶⁾。このミトコンドリア依存による抗ウイルス自然免疫応答は、細胞内 RNA センサータンパク質 Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) を上流に位置付けた一連のシグナル伝達経路 (RLR 経路) に属しており、ミトコンドリア外膜局在型タンパク質 (Mitochondrial antiviral signaling ; MAVS) がその経路における中心的な役割を担っている (図 1)。これまでの研究で、MAVS は RIG-I の下流においてアダプター分子として機能し、その後、様々なシグナル伝達因子群をミトコンドリア膜上にリクルートすることで巨大なタンパク質複合体 (シグナルソーム) を形成し、最終的に I 型インターフェロン (IFN) や炎症性サイトカインなどの抗ウイルス因子の産生を誘導すると考えられている⁷⁾。さらに、RLR 経路における抗ウイルス自然免疫の亢進には、上述 MAVS のアダプター分子としての働き以外にも、ミトコンドリア膜電位の維持が必須であることも明らかになっている⁸⁾。このようにミトコンドリアは、ウイルス感染時における生体防御の最前線として積極的に関与していることが近年、明らかにされてきた。

ウイルス由来タンパク質とミトコンドリアとの関わり

一方で、ウイルスに感染した細胞内では、新たに合成されるウイルスタンパク質とミトコンドリアとの間で繰り広げられる興味深い事例が多数報告されている。そこで、本総説では、いくつかのウイルスタンパク質とミトコンドリアとの相互作用例を紹介し、ミトコンドリアに着目した宿主とウイルスとの攻防について概説する。

i) A 型肝炎ウイルス 3ABC タンパク質

A 型肝炎ウイルス (HAV) は、ピコルナウイルス科ヘパトウイルス属の一本鎖 RNA (プラス鎖) ウイルスである。HAV は、感染した宿主細胞質内で自身のゲノム情報に基づいた一本鎖のポリプロテインを産生させ、その後プロテアーゼによるポリプロテインの切断により複数の成熟型ウイルスタンパク質がつく

*Correspondence should be addressed to Takumi KOSHIBA

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University, 744 Motooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan

Tel : +81-92-802-4289 Fax : +81-92-802-4289

E-mail : koshiba@kyudai.jp

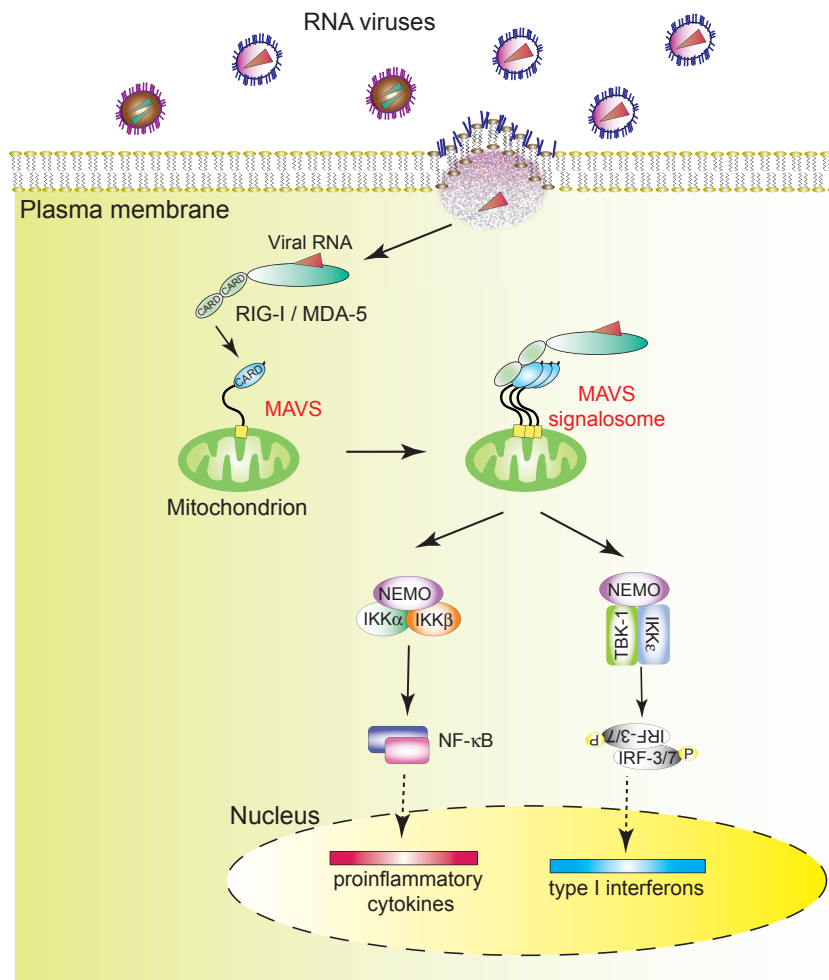


図1 宿主細胞のRNAウイルス感染時におけるRLR経路の活性化機構。ウイルス感染初期において、細胞質中に放出されたウイルス由来RNAは、そのセンサー分子RIG-IまたはMDA-5に認識され、タンパク質・核酸複合体としてミトコンドリア外膜上のアダプター分子MAVSと結合する。その後、MAVSは立体構造変化を伴い多量体化し、様々なシグナル伝達因子群をミトコンドリア膜上にリクルートする(MAVS signalosome)。MAVS signalosomeは下流のキナーゼや転写因子(NF- κ B, IRF3/7)を活性化し、最終的に炎症性サイトカインやI型インターフェロンが産生される。

られる。ポリプロテインの切断は、ウイルス・システインプロテアーゼ3C^{pro}が担っているが、その前駆体タンパク質である3ABCも成熟型同様にポリプロテインの切断⁹⁾に関わる。一方で、3ABCは別の機能として感染宿主内ミトコンドリアの外膜上に局在し、MAVSの428番目グルタミン残基直後を切断することが明らかになっている¹⁰⁾(図2A)。ウイルス性プロテアーゼにより切断されたMAVSは、ミトコンドリア局在能を失い、細胞質中に遊離することとなり、もはやRIG-Iのアダプターとしての機能が損なわれる。事実、HAV感染細胞ではIFN- β 産生能が低下することがこれまで報告されており¹¹⁾、ウイルス側における免疫系からの回避と捉えることが出来る。

ii) B型肝炎ウイルス HBX タンパク質

B型肝炎ウイルス(HBV)は、ヘパドナウイルス科オルソヘパドナウイルス属のDNAウイルスである。HBV由来タンパク質の一つHBXは、154個のアミノ酸からなる比較的小さなタンパク質であり、このウイルスタンパク質をHuh7細胞内で過剰発現させた場合には、ミトコンドリアへの局在やミトコンドリア

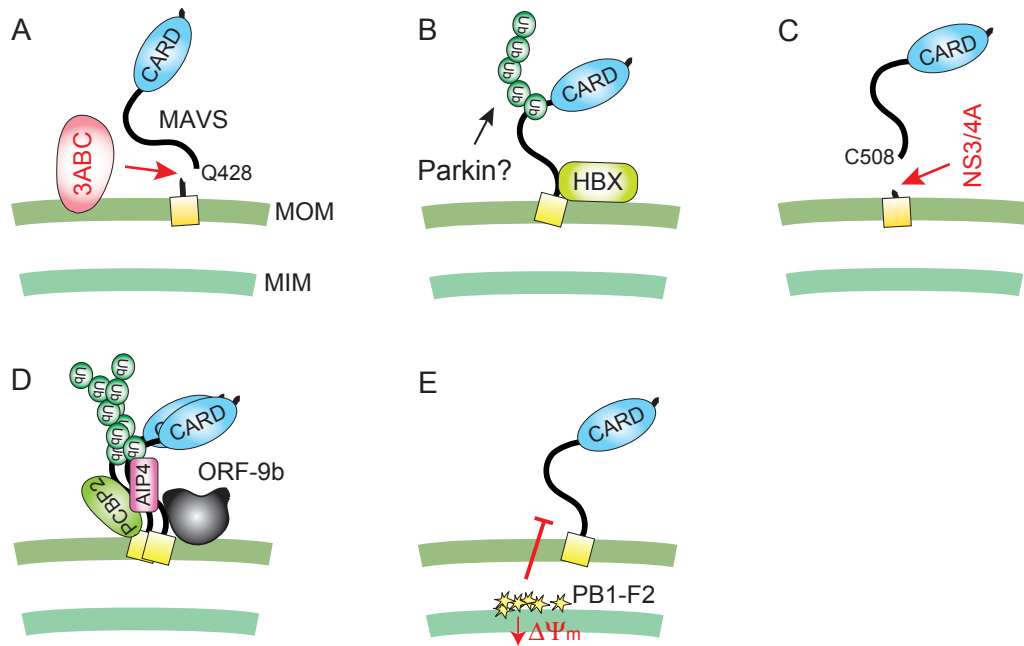


図2 ウイルスタンパク質によるミトコンドリア (MAVS) の修飾.

A) A型肝炎ウイルス3ABCは、ミトコンドリア外膜上に局在するMAVSの428番目に位置するグルタミン酸後方をプロテアーゼ活性により切断し、MAVS分子をミトコンドリア膜上から細胞質中に遊離させる。B) B型肝炎ウイルスHBXは、ParkinなどのE3ユビキチンリガーゼを介してMAVSの翻訳後修飾を行い、プロテアソーム依存的な分解に誘導する。C) C型肝炎ウイルスNS3/4Aは、MAVSの508番目に位置するシステイン後方を切断し、RLR経路の阻害を行う。D) SARSコロナウイルスORF-9bは、MAVSと相互作用し、RLR経路の負の調節因子PCBP2/AIP4を介してMAVSをユビキチン化し、その後プロテアソーム依存的な分解に導く。E) A型インフルエンザウイルスPB1-F2は、ミトコンドリア内膜上に集積し、 $\Delta\Psi_m$ を低下させる。ミトコンドリア $\Delta\Psi_m$ の低下は結果として、RLR経路の阻害に繋がる。MOM:ミトコンドリア外膜、MIM:ミトコンドリア内膜。

の膜電位 ($\Delta\Psi_m$) を消失させることが報告されている¹²⁾¹³⁾。HBXのミトコンドリア局在には、分子内に位置する68番目から117番目のアミノ酸領域が関与しているものと思われ、特に115番目のシステイン残基の寄与が重要であることが報告されている¹⁴⁾。実際にHBXの生理的意義としては、宿主をBAX依存的なアポトーシスに誘導することが挙げられている¹³⁾。

一方では、HBXとRLR経路との間接的な繋がりに関する研究成果も報告されている。HBXは先述、115番目のシステイン残基を介してミトコンドリア外膜に局在し、MAVSと相互作用する。その際に、MAVSの136番目のリジン残基をユビキチン化誘導し、プロテアソーム依存的なMAVSの選択的分解を亢進させ、最終的にRLR経路を負に制御することが明らかになっている¹⁵⁾。その後の研究により、HBX依存的なユビキチン化はミトコンドリアの選択的分解 (Mitophagy) に働くE3ユビキチンリガーゼParkinの修飾と関係していることが明らかになった¹⁶⁾ (図2B)。

iii) C型肝炎ウイルス NS3/4A プロテアーゼ

C型肝炎ウイルス (HCV) は、フラビウイルス科ヘパシウイルス属の一本鎖RNA (プラス鎖) ウイルスである。HCVはHAV同様、宿主感染後に巨大な一本鎖ポリプロテインを産生させるが、そのポリペプチド切断にはウイルス由来プロテアーゼNS3/4Aが用いられる¹⁷⁾。NS3/4Aは、セリンプロテアーゼドメインを有するNS3サブユニットと、そのコファクターであるNS4Aサブユニットとの複合体構造により形成され、HCVポリプロテインの開裂以外に宿主タンパク質MAVSを基質とすることが報告されている。その作用機序として、MAVSのC末端領域に位置する508番目のシステイン残基直後を切断し、前述の

ウイルス性プロテアーゼ 3ABC 同様に, MAVS のミトコンドリア非局在, その結果の RLR 経路の阻害効果をもたらす¹⁸⁾ (図 2C). 興味深いことに, NS3/4A によるこの副反応の影響は, ミトコンドリアと小胞体の近接領域である Mitochondrial associated membrane (MAM) にも及ぶ¹⁹⁾. 最後に, 同じフラビウイルス科に属する GB ウイルス B 由来 NS3/4A プロテアーゼも上記同様, MAVS を攻撃し, RLR 経路を阻害することも明らかになっている²⁰⁾. このようにプロテアーゼ活性に依る自然免疫系の回避は, 他のフラビウイルス科に属するウイルス間で保存された戦略のようにも考えられる.

iv) SARS コロナウイルス ORF-9b タンパク質

SARS (severe acute respiratory syndrome) コロナウイルス (CoV) は, コロナウイルス科ベータコロナウイルス属の一本鎖 RNA (プラス鎖) ウイルスである. コロナウイルスはゲノム内に 14 個の遺伝子をコードしており, そのうちの一つのアクセサリタンパク質 ORF-9b (98 アミノ酸) とミトコンドリアとの相互作用が報告されている. ORF-9b は, SARS-CoV に感染したヒトの肺や回腸の組織から検出されており²¹⁾, ORF-9b に対する抗体もこれまでに検出されている²²⁾. このウイルスタンパク質に関しては生化学的な知見も明らかになっており, β -strand 構造に富んだ ORF-9b は二量体を形成し, 脂質膜との相互作用に関する分子モデルも提唱されている²³⁾. 近年報告された興味深い研究成果として, ORF-9b はミトコンドリア外膜上に局在し, ミトコンドリア・ダイナミクスを調節していることが示された²⁴⁾. また, ORF-9b による RLR 経路の阻害効果についても同グループによって報告されており, その作用機序として MAVS への K48 ユビキチン化を促す分解系への誘導モデルもなされている (図 2D).

v) A 型インフルエンザウイルス PB1-F2 タンパク質

A 型インフルエンザウイルス (IAV) は, オルトミクソウイルス科に分類される, 8 分節ゲノムを有する一本鎖 RNA (マイナス鎖) ウイルスである. IAV の生活環は, エンドサイトーシスによって宿主細胞内に侵入し, 細胞質中に放出されたウイルス由来ゲノムから少なくとも 10 種類以上のウイルスタンパク質が合成される²⁵⁾. 第 2 分節にコードされている PB1 遺伝子は, RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ複合体の β 1 サブユニットをコードしており, この遺伝子の読み枠のずれにより新たなタンパク質 PB1-F2 がつくられる. これまでの研究により, PB1-F2 はウイルスの複製などには必須ではなく²⁶⁾, ウイルスの亜型ごとにコードされているサイズも均一ではないことが明らかになっている²⁷⁾. このウイルスタンパク質は, 2001 年に感染細胞内のミトコンドリアに局在し, アポトーシスを誘導するミトコンドリア相互作用因子として同定された²⁸⁾. PB1-F2 は, これまでに紹介してきたようなミトコンドリア外膜局在型のウイルスタンパク質ではなく, ミトコンドリア内に輸送されるタンパク質であることが著者らの研究によって明らかになった²⁹⁾ (図 2E). そのミトコンドリア内部への輸送機序も特徴的で, PB1-F2 はミトコンドリア外膜輸送装置 Tom40 チャンネルを経由して膜間スペースに輸送されるが, 一般的な宿主タンパク質の輸送過程に見られるような Tom20/22 受容体を介さないでチャンネルを透過していた. 事実, PB1-F2 の一次配列内には典型的なミトコンドリア輸送シグナル (Mitochondrial targeting signal) に相当するアミノ酸配列は見つかっていない.

実際に PB1-F2 がミトコンドリア内に蓄積することでどのような影響を受けるのであろうか? これまでに複数のグループによって PB1-F2 依存的なミトコンドリア膜電位の低下が報告されている²⁹⁾⁻³¹⁾. このようなミトコンドリアの機能低下は, 結果として RLR 経路の阻害効果として現れる²⁹⁾³¹⁾.

考 察

これまで見てきたように, 各種ウイルスで, そのゲノム内にコードされた一部の遺伝子産物が, 宿主内ミトコンドリアと何らかの相互作用を持つウイルス性因子として存在することが確認できる. 本来, それらウイルスタンパク質の機能としては, ウイルス自身の複製や成熟などに関わる合目的性と考えられるが, 一方でそれら副反応として宿主 (ミトコンドリア) の機能に影響を及ぼす分子も事実存在する. 本総説で

は、宿主に対する生理的な影響として特に MAVS を中心とした抗ウイルス免疫系のみについて言及したが、前述、ミトコンドリアの機能は多岐に及ぶために、このようなウイルスタンパク質によるミトコンドリアとの相互作用は様々な形で細胞機能に影響すると予想される。

ウイルスタンパク質による MAVS シグナル伝達への作用機序としては、主に三つのクラスに大別することが出来る。一つ目は、3ABC や NS3/4A に見られるようなプロテアーゼ活性による MAVS 切断型で、RLR 経路のアダプター分子をミトコンドリア膜上から遊離させることで下流のシグナル伝達を遮断する機構である (図 2A, C)。二つ目は、HBX や ORF-9b などのように MAVS をユビキチン化誘引することでプロテアソーム分解系に導き、RLR 経路の阻害を行う機構である (図 2B, D)。三つ目の PB1-F2 は、直接的な MAVS への攻撃を行わずに、ミトコンドリア自体の働きを弱めることで結果的に自然免疫を抑制する手法である (図 2E)。このようにウイルスはそれぞれの進化を遂げていく過程の中で、独自の手法により宿主免疫系からの回避機構を獲得したものと思われる。私たちは、ウイルス側のしたたかな戦略に学ぶことで将来的に感染症に対する新たな治療法や創薬開発に繋げて行けることに期待したい。

参 考 文 献

- 1) Attardi G and Schatz G : Biogenesis of mitochondria. *Annu. Rev. Cell Biol.* 4 : 289-333, 1988.
- 2) Wang C and Youle RJ : The role of mitochondria in apoptosis. *Annu. Rev. Genet.* 43 : 95-118, 2009.
- 3) Gunter TE, Yule DI, Gunter KK, Eliseev RA and Salter JD : Calcium and mitochondria. *FEBS Lett.* 567 : 96-102, 2004.
- 4) McBride HM, Neuspiel M and Wasiak S : Mitochondria: more than just a powerhouse. *Curr. Biol.* 16 : R551-560, 2006.
- 5) Chan DC : Fusion and fission : interlinked processes critical for mitochondrial health. *Annu. Rev. Genet.* 46 : 265-287, 2012.
- 6] Seth RB, Sun L, Ea CK and Chen ZJ : Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- κ B and IRF 3. *Cell* 122 : 669-682, 2005.
- 7] Koshihara T : Mitochondrial-mediated antiviral immunity. *Biochim Biophys Acta* 1833 : 225-232, 2013.
- 8] Koshihara T, Yasukawa K, Yanagi Y and Kawabata S : Mitochondrial membrane potential is required for MAVS-mediated antiviral signaling. *Sci. Signal.* 4 : ra7, 2011.
- 9) Kusov Y and Gauss-Müller V : Improving proteolytic cleavage at the 3A/3B site of the hepatitis A virus polyprotein impairs processing and particle formation, and the impairment can be complemented in trans by 3AB and 3ABC. *J. Virol.* 73 : 9867-9878, 1999.
- 10) Yang Y, Liang Y, Qu L, Chen Z, Yi M, Li K and Lemon SM : Disruption of innate immunity due to mitochondrial targeting of a picornaviral protease precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104 : 7253-7258, 2007.
- 11) Brack K, Berk I, Magulski T, Lederer J, Dotzauer A and Vallbracht A : Hepatitis A virus inhibits cellular antiviral defense mechanisms induced by double-stranded RNA. *J. Virol.* 76 : 11920-11930, 2002.
- 12) Rahmani Z, Huh KW, Lasher R and Siddiqui A : Hepatitis B virus X protein colocalizes to mitochondria with a human voltage-dependent anion channel, HVDAC3, and alters its transmembrane potential. *J. Virol.* 74 : 2840-2846, 2000.
- 13) Shirakata Y and Koike K : Hepatitis B virus X protein induces cell death by causing loss of mitochondrial membrane potential. *J. Biol. Chem.* 278 : 22071-22078, 2003.
- 14) Li SK, Ho SF, Tsui KW, Fung KP and Waye MY : Identification of functionally important amino acid residues in the mitochondria targeting sequence of hepatitis B virus X protein. *Virology* 381 : 81-88, 2008.
- 15) Wei C, Ni C, Song T, Liu Y, Yang X, Zheng Z, Jia Y, Yuan Y, Guan K, Xu Y, Cheng X, Zhang Y, Yang X, Wang Y, Wen C, Wu Q, Shi W and Zhong H : The hepatitis B virus X protein disrupts innate immunity by downregulating mitochondrial antiviral signaling protein. *J. Immunol.* 185 : 1158-1168, 2010.
- 16) Khan M, Syed GH, Kim SJ and Siddiqui A : Hepatitis B virus-induced Parkin-dependent recruitment of linear ubiquitin assembly complex (LUBAC) to mitochondria and attenuation of innate immunity. *PLoS Pathog.* 12 : e1005693, 2016.
- 17) Moradpour D, Penin F and Rice CM : Replication of hepatitis C virus. *Nat. Rev. Microbiol.* 5 : 453-463, 2007.
- 18) Li XD, Sun L, Seth RB, Pineda G and Chen ZJ : Hepatitis C virus protease NS3/4A cleaves mitochondrial

- antiviral signaling protein off the mitochondria to evade innate immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102 : 17717-11722, 2005.
- 19) Horner SM, Liu HM, Park HS, Briley J and Gale M Jr : Mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes (MAM) form innate immune synapses and are targeted by hepatitis C virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 : 14590-14595, 2011.
 - 20) Chen Z, Benureau Y, Rijnbrand R, Yi J, Wang T, Warter L, Lanford RE, Weinman SA, Lemon SM, Martin A and Li K : GB virus B disrupts RIG-I signaling by NS3/4A-mediated cleavage of the adaptor protein MAVS. *J. Virol.* 81 : 964-976, 2007.
 - 21) Nal B, Chan C, Kien F, Siu L, Tse J, Chu K, Kam J, Staropoli I, Crescenzo-Chaigne B, Escriou N, van der Werf S, Yuen KY and Altmeyer R : Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. *J. Gen. Virol.* 86 : 1423-1434, 2005.
 - 22) Qiu M, Shi Y, Guo Z, Chen Z, He R, Chen R, Zhou D, Dai E, Wang X, Si B, Song Y, Li J, Yang L, Wang J, Wang H, Pang X, Zhai J, Du Z, Liu Y, Zhang Y, Li L, Wang J, Sun B and Yang R : Antibody responses to individual proteins of SARS coronavirus and their neutralization activities. *Microbes Infect.* 7 : 882-889, 2005.
 - 23) Meier C, Aricescu AR, Assenberg R, Aplin RT, Gilbert RJ, Grimes JM and Stuart DI : The crystal structure of ORF-9b, a lipid binding protein from the SARS coronavirus. *Structure* 14 : 1157-1165, 2006.
 - 24) Shi CS, Qi HY, Boularan C, Huang NN, Abu-Asab M, Shelhamer JH and Kehrl JH : SARS-coronavirus open reading frame-9b suppresses innate immunity by targeting mitochondria and the MAVS/TRAF3/TRAF6 signalosome. *J. Immunol.* 193 : 3080-3089, 2014.
 - 25) Neumann G, Noda T and Kawaoka Y : Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 459 : 931-939, 2009.
 - 26) Ozawa M, Basnet S, Burley LM, Neumann G, Hatta M and Kawaoka Y : Impact of amino acid mutations in PB2, PB1-F2, and NS1 on the replication and pathogenicity of pandemic (H1N1) 2009 influenza viruses. *J. Virol.* 85 : 4596-4601, 2011.
 - 27) Chakrabarti AK and Pasricha G : An insight into the PB1F2 protein and its multifunctional role in enhancing the pathogenicity of the influenza A viruses. *Virology* 440 : 97-104, 2013.
 - 28) Chen W, Calvo PA, Malide D, Gibbs J, Schubert U, Bacik I, Basta S, O'Neill R, Schickli J, Palese P, Henklein P, Bennink JR, Yewdell JW : A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat. Med.* 7 : 1306-1312, 2001.
 - 29) Yoshizumi T, Ichinohe T, Sasaki O, Otera H, Kawabata S, Mihara K and Koshiba T : Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity. *Nat. Commun.* 5 : 4713, 2014.
 - 30) Gibbs JS, Malide D, Hornung F, Bennink JR and Yewdell JW : The influenza A virus PB1-F2 protein targets the inner mitochondrial membrane via a predicted basic amphipathic helix that disrupts mitochondrial function. *J. Virol.* 77 : 7214-7224, 2003.
 - 31) Varga ZT, Grant A, Manicassamy B and Palese P : Influenza virus protein PB1-F2 inhibits the induction of type I interferon by binding to MAVS and decreasing mitochondrial membrane potential. *J. Virol.* 86 : 8359-8366, 2012.

(特に重要な文献については、数字をゴシック体で表記している。)

Interaction between Viral Proteins and Mitochondria

Takuma YOSHIZUMI¹⁾, Kai YASUKAWA¹⁾ and Takumi KOSHIBA^{1)2)*}

¹⁾*The Graduate School of Systems Life Sciences, Kyushu University*

²⁾*Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University*

Abstract

Recent advances reveal that mitochondria are not limited to functioning only as the cellular powerhouse and in apoptosis, but that they act as central hubs for multiple signal transductions. Studies over the last decade indicate that mitochondria in vertebrates are involved in the front line of host defense, especially against RNA viruses. Mitochondrial-mediated antiviral innate immunity depends on activation of the retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors signal transduction pathway, and the mitochondrial surface acts as a platform for the assembly of signaling molecules, including mitochondrial antiviral signaling (MAVS) during the process. Some viral encoded proteins target to the mitochondria post-infection, however, thereby evading the cellular immune response. Here we review specific interactions between mitochondria and viral proteins and discuss their physiologic effects on the host cells.

Keywords : Mitochondria, innate immunity, viral protein, RLR pathway