

Studies on the role of oxidative phosphorylation for mitochondrial antiviral innate immunity

吉住, 拓馬

<https://doi.org/10.15017/1931736>

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 吉住 拓馬

論 文 名 : Studies on the role of oxidative phosphorylation for mitochondrial antiviral innate immunity

(抗ウイルス自然免疫応答における酸化的リン酸化の役割に関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

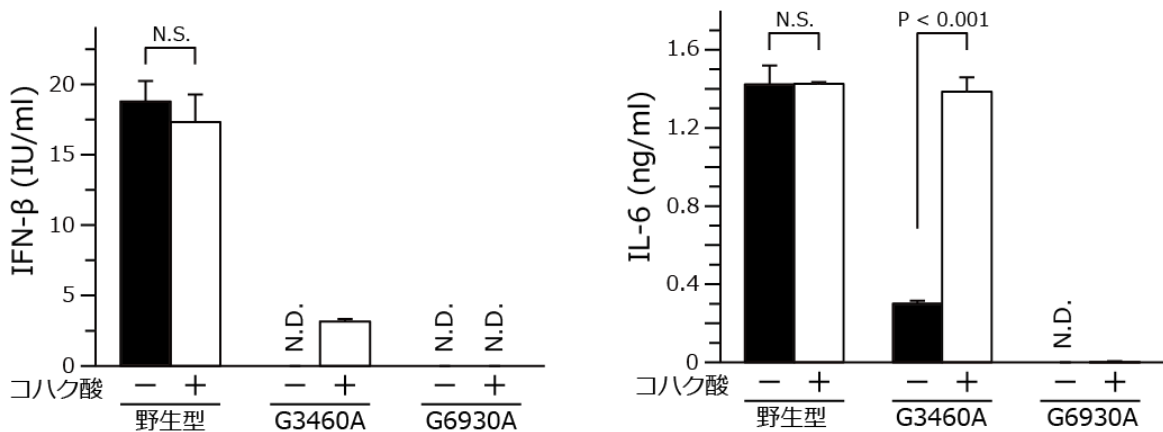
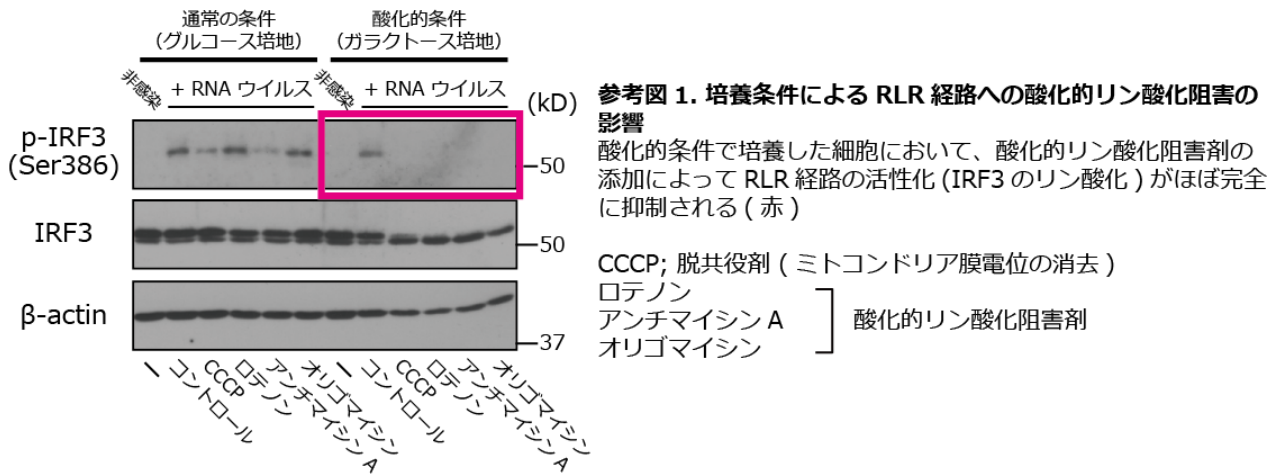
ミトコンドリアは真核細胞内に存在する外膜と内膜の二重膜から形成される細胞小器官であり、独自のゲノム (mtDNA) を有する、細胞内において融合と分裂を繰り返しながら絶えずその形態を変化させているなどユニークな特徴を持つ。ミトコンドリアの主な機能は酸化的リン酸化によるエネルギー (ATP) 産生や細胞死の制御など多岐にわたることが知られているが、近年、RNA ウイルス感染に対する自然免疫応答のプラットフォームとしての役割も明らかになってきている。

宿主の RNA ウイルス感染に対する自然免疫応答は、Toll 様受容体 (TLRs) を介する経路をはじめとしていくつかの経路が報告されている。一方、ミトコンドリアは RIG-I 様受容体 (RLRs) によるウイルス RNA の認識により開始される経路 (RLR 経路) に関与している。RLR 経路とミトコンドリアとの関わりは、細胞質中でウイルス由来 RNA を認識した RLRs がミトコンドリア外膜上におけるアダプタータンパク質である mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) と結合することが下流のシグナル伝達に必須であることに起因する。この RLRs と MAVS との結合をきっかけとして IRF3 や NF- κ B といった転写因子が活性化されることにより、抗ウイルス因子である I 型インターフェロンや炎症性サイトカインが産生される。この経路の活性化には MAVS の存在だけでなくミトコンドリアの構造機能も深く関与しており、その一つにミトコンドリア膜電位 ($\Delta\Psi_m$) の維持が挙げられる。 $\Delta\Psi_m$ は、ミトコンドリア内膜の呼吸鎖複合体の酸素消費を伴う活動 (呼吸活性) により形成される内膜を隔てたプロトン勾配を表し、ATP 合成酵素の酸化的リン酸化による ATP 合成の駆動力となる。一方で、脱共役処理により $\Delta\Psi_m$ を消失させると、ウイルス感染に対する RLR 経路の活性化も障害される。しかしながら、なぜ $\Delta\Psi_m$ を消失させることで RLR 経路の活性に影響が出るのかはこれまで明らかになっていない。そこで、本研究では酸化的リン酸化が亢進された条件 (酸化的条件) で培養された細胞を用いてウイルス感染に対する自然免疫応答への影響を調べ、酸化的リン酸化の RLR 経路における役割を明らかにすることを目的とした。

酸化的条件にて培養した細胞に RNA ウイルスを感染させ、その後に酸化的リン酸化の阻害剤を加えて RLR 経路の活性化を調べると、通常の状態においては部分的な抑制効果に限定されたのに対し、酸化的条件ではほぼ完全に RLR 経路の活性化が抑制されることが確認された (参考図 1)。しかしながら、対照実験の DNA ウイルス感染などに対する自然免疫応答では酸化的条件でも大きな違いは見られなかった。また、一部の呼吸鎖複合体サブユニットをコードする mtDNA の欠損により呼吸活性が低下した細胞も RNA ウイルスに対する免疫応答が著しく低下することが確認

された。mtDNAに呼吸活性の低下を伴う疾患（ミトコンドリア病）に由来する変異（G3460AおよびG6930A；それぞれ複合体I、複合体IVの機能低下を誘導する）をそれぞれ保持したmtDNAを持つ細胞（サイブリード）でも同様の結果が得られた。これらの結果は、mtDNAの有無がRLR経路の活性化に直接影響しているわけではないことも示している。一方で、複合体IIの基質であるコハク酸の添加によりG3460A変異体の呼吸活性を回復させると、免疫応答は回復した（参考図2）。さらに、ミトコンドリアの形態調節に関わる因子の一つであるOPA1の変異体細胞を用いた実験から、OPA1の機能がmtDNAのコピー数の調節や呼吸活性、さらにはRLR経路の活性化と関連することも本研究で明らかにした。

以上の結果から、申請者らは酸化的リン酸化（ミトコンドリア呼吸活性）がRLR経路の活性化に必要なことを証明した。



参考図 2. mtDNA 変異体細胞のコハク酸投与による呼吸活性と免疫応答の回復

各細胞の RNA ウイルス感染に対する I 型インターフェロンや炎症性サイトカインの分泌量を定量した。呼吸活性に異常が生じる二種の変異体は RNA ウイルス感染に対する応答が野生型に比べて低下するが、コハク酸 (複合体 II の基質) を加えて G3460A 変異体 (複合体 I に異常) の呼吸活性を回復させると免疫応答が回復する。一方、G6930A 変異体 (複合体 IV に異常) では回復が見られない。
 N.S., not significant N.D., not detected