

【目的】鉄は細胞生存に必須であるが、過剰量の鉄は有毒な活性酸素種 (ROS) の産生につながる。そのため、細胞内の鉄濃度は厳密に制御されている。鉄は ferritin と結合する形で貯蔵されているが、鉄欠乏時には nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4) がオートファジー経路を介して ferritin を分解することで鉄が細胞質に放出される。これを ferritinophagy と呼ぶ。予備実験により、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 型 (hPIV-2) の V 蛋白が、NCOA4 や ferritin のサブユニットの一つである ferritin heavy chain 1 (FTH1) と結合することが明らかになったため、hPIV-2 増殖に鉄代謝が関与していると考えた。そこで、本研究では鉄代謝と hPIV-2 の関係を分子レベルで明らかにすることを目的とした。

【方法】FTH1、NCOA4 のノックダウン (KD) 細胞株を作製し、プラークアッセイにより、上清中のウイルス量を定量した。FTH1 や NCOA4 とウイルス蛋白の結合の有無は、免疫沈降法により評価した。ferritin およびウイルス蛋白の細胞内局在の観察は、免疫染色法により行った。アポトーシスの検出は、DNA ラダー実験ならびに Caspase-Glo 3/7 assay により行った。

【結果】過剰量の鉄が存在すると ferritin はリソソームに顆粒状に存在するが、hPIV-2 感染細胞内では顆粒状ではなく細胞質全体に均一に広がっていた。FTH1 と NCOA4 の結合は ferritinophagy に必須であるが、V 蛋白存在下ではその結合が弱まることを見出した。FTH1 の KD 細胞株では、hPIV-2 増殖は抑制され、hPIV-2 によるアポトーシスが顕著に見られた。一方、NCOA4 の KD 細胞株では、hPIV-2 増殖が促進し、hPIV-2 によるアポトーシスは抑制された。これらの結果から、V 蛋白は FTH1 と NCOA4 の結合を阻害することで ferritinophagy を抑制することが示唆された。このように、V 蛋白は細胞内の鉄代謝機構を制御してアポトーシスを抑制することで、hPIV-2 増殖を促進することが考えられた。本研究により、鉄代謝の主役である FTH1 や NCOA4 に直接作用するウイルス蛋白が初めて同定された。

V 蛋白による ferritinophagy の阻害

