

HCMV感染单核细胞对细胞能量代谢的影响

黄开照^{1,2,3} 方洋洋^{1,2,3} 徐熙^{1,2,3} 郭彬瀚^{1,2,3} 郑晓群^{1,2,3*}

(¹温州医科大学附属第二医院, 温州 325027; ²温州医科大学检验医学院 生命科学学院, 温州 325035;

³检验医学教育部重点实验室, 温州 325035)

摘要 该文旨在探讨人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)感染人单核白血病细胞(THP-1)后对其能量代谢的影响。采用流式细胞仪、海马生物能量测定仪分别检测HCMV感染THP-1后细胞的存活率、有氧呼吸率(oxygen consumption rate, OCR)和细胞外酸化率(extracellular acidification rate, ECAR); Western blot检测线粒体动力学相关蛋白; 采用RNA-seq和质谱技术检测细胞代谢相关基因及蛋白表达水平。结果显示, HCMV感染24 h、48 h及72 h后, 线粒体氧化磷酸化水平上升, 糖酵解水平下降($P<0.05$); 感染组线粒体融合相关蛋白MFN1、OPA1及OMA1表达量较对照组升高($P<0.05$); 感染组*ATP8A1*、*ATP6AP1L*及*ATP6VIC2*等氧化磷酸化相关基因表达显著上调($P<0.001$), *LDHA*、*ENO3*及*ENO1*等糖酵解相关基因表达显著下调($P<0.001$); 感染组ATP6V1A、ATP5O及PGP等细胞代谢相关蛋白表达显著上调($P<0.01$)。研究表明, HCMV感染THP-1细胞可能通过诱导线粒体融合及调控细胞能量代谢相关基因和蛋白的表达, 促进细胞氧化磷酸化并抑制糖酵解水平。

关键词 人巨细胞病毒; 细胞能量代谢; 转录组学和蛋白质组学

Effect of HCMV Infection on Energy Metabolism of Monocytes

HUANG Kaizhao^{1,2,3}, FANG Yangyang^{1,2,3}, XU Xi^{1,2,3}, GUO Binhao^{1,2,3}, ZHENG Xiaoqun^{1,2,3*}

(¹The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China;

²School of Laboratory Medical and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;

³The Key Laboratory of Laboratory Medicine, Ministry of Education of China, Wenzhou 325035, China)

Abstract The paper aims to investigate the effect of HCMV (human cytomegalovirus) infection on energy metabolism of human monocytic leukemia cell line THP-1. Flow cytometry and hippocampal bioenergy analyzer were used to detect the cell survival rate, OCR (oxygen consumption rate), and ECAR (extracellular acidification rate) after HCMV infection with THP-1. Mitochondrial kinetics-related proteins were identified by Western blot, and the expression levels of cell metabolism-related genes and proteins were detected by RNA-seq and mass spectrometry. The results showed that after HCMV infection for 24 h, 48 h and 72 h, the level of oxidative phosphorylation of mitochondria increased and the level of glycolysis decreased ($P<0.05$). The expression of mitochondrial fusion proteins MFN1, OPA1, and OMA1 in the infection group was considerably higher than that in the control group ($P<0.05$). The expression of oxidative phosphorylation-related genes such as *ATP8A1*, *ATP6AP1L*, and *ATP6VIC2* was significantly up-regulated ($P<0.001$), while the expression of glycolysis-related genes such as *LDHA*, *ENO3* and *ENO1* was significantly down-regulated ($P<0.001$). Mass spectrometry analysis showed that the expression of metabolism-related proteins such as ATP6V1A, ATP5O, and PGP in the infected

收稿日期: 2020-05-12 接受日期: 2020-06-15

浙江省自然科学基金(批准号: LY18H200006)和温州市科技计划项目(批准号: Y20180108)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0577-86699196, E-mail: jszhengxq@163.com

Received: May 12, 2020

Accepted: June 15, 2020

This work was supported by Zhejiang Natural Science Foundation of China (Grant No. LY18H200006) and Wenzhou Science and Technology Planning Project (Grant No. Y20180108)

*Corresponding author. Tel: +86-577-86699196, E-mail: jszhengxq@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5306>

group was significantly up-regulated ($P<0.01$). Our study demonstrate that HCMV infection may promote oxidative phosphorylation and inhibit glycolysis by inducing mitochondrial fusion and regulating the expression of genes and proteins related to energy metabolism in THP-1 cells.

Keywords HCMV; cell energy metabolism; transcriptome and proteomics

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是最常见的先天性感染病原体之一。在免疫功能正常的个体中, HCMV感染通常无明显临床症状, 但对新生儿、艾滋病及其他免疫缺陷患者会造成极大的损伤^[1]。HCMV自身无法合成能量, 其复制所需的能量及大分子物质皆来源于宿主细胞, 但迄今为止, 关于HCMV感染和宿主细胞代谢之间的相关性研究较少, 而明确其对宿主代谢状态的影响有利于寻求新的抗病毒治疗途径。

线粒体是真核细胞中重要的能量代谢细胞器, 主要通过氧化磷酸化反应供能。病毒的感染通常会影线粒体的状态^[2], 一部分病毒可增强线粒体的代谢, 利用其产生的能量和中间产物作为病毒复制的原料^[3]。但也有部分病毒侵染破坏细胞线粒体导致ATP合成减少, 并激活内源性线粒体凋亡途径, 促进病毒的增殖和释放^[4-5]。而在氧气充足的条件下, 除了线粒体氧化供能之外, 流感病毒(influenza virus, Flu)^[6]、登革热病毒(dengue virus, DENV)^[7]等也可通过增强糖酵解的方式获得能量。因而, 不同病毒感染对细胞能量代谢的影响不同, 而本文将通过对生物能量代谢的检测, 分析细胞代谢相关基因和蛋白的表达情况, 旨在探讨HCMV感染对THP-1细胞能量代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

HCMV Towne株为本实验室保存; HEL细胞(人胚肺成纤维细胞)购自中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞库; THP-1细胞(人急性单核白血病细胞)购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库; DMEM培养基及RPMI 1640培养基购自Gibco公司; 7-aad核染色液购自Invitrogen公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG购自上海碧云天生物技术有限公司; Anti-MFN1 antibody、Anti-OPA1 antibody、Anti-OMA1 antibody购自Abcam公司; Anti-GAPDH antibody购自Cell Signaling Technology公司; Trizol Reagent购自OMEGA公司; Seahorse XF96 cell culture Microplates购自Agilent Technologies公司; 寡霉素(oligomycins)、FCCP、鱼藤酮、抗霉

素A(antimycin A)、2-DG购自Sigma公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及感染模型建立 将HEL细胞培养至含10% FBS以及1%青-链霉素的DMEM培养基中, 将THP-1细胞培养至含10% FBS以及1%青-链霉素的RPMI 1640培养基中, 置于37 °C、含5% CO₂饱和湿度的恒温培养箱里培养, 每日观察细胞状态并隔天换液。取对数生长期细胞用于后续实验。使用HCMV Towne株感染THP-1细胞(细胞计数 1×10^6 个/mL, MOI=5), 于37 °C、5% CO₂恒温培养箱中分别培养24 h、48 h、72 h及96 h后, 建立感染模型。

1.2.2 HCMV Towne株的增殖 HCMV Towne病毒液于室温融化, 4 500 r/min离心5 min, 备用。待显微镜下观察到HEL细胞生长至60%~70%时, 弃上清, 加PBS缓冲液洗涤细胞。弃上清, 加HCMV Towne病毒液, 使其均匀覆盖细胞, 并置于37 °C、含5% CO₂饱和湿度的恒温培养箱中静置2 h。待孵育结束后, 向培养瓶内加入含2% FBS的DMEM完全培养基4 mL, 继续在培养箱内培养。每日观察细胞状态, 当细胞变大、肿胀、从培养瓶壁上脱落时, 可开始收集病毒: 首先将培养瓶放置于-80 °C条件下15 min, 然后转移至37 °C细胞培养箱内15 min, 按照此步骤反复冻融细胞2次, 将HEL细胞完全裂解, 进而释放其胞内病毒; 使用细胞刮刮下瓶壁细胞, 将上清液转移至经高压灭菌的1.5 mL EP管中, 标记、封口膜封好, 置于-80 °C保存。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞存活率 收集HCMV感染24 h、48 h、72 h及96 h后的THP-1细胞于流式进样管中, PBS洗涤2次后备用。7-aad染液经1:600稀释后加入至各管, 每管50 μ L, 充分混匀并置于冰上, 15 min后经流式细胞仪检测。

1.2.4 细胞能量代谢的检测 采用Seahorse生物能量测定仪对HCMV感染24 h、48 h、72 h及96 h后的感染组和对照组的THP-1细胞分别进行有氧呼吸率(oxygen consumption rate, OCR)和细胞外酸化率(extra-cellular acidification rate, ECAR)的检测。预先在海马XF96细胞培养微板按1~5 μ g/cm²的量加入细胞黏附剂, 室温条件下过夜。制备THP-1细胞悬液每孔80 μ L

接种于细胞培养微板中, 培养过夜。弃培养基, 各孔加入相应检测培养基。检测OCR: 细胞依次暴露于寡霉素(ATP合酶抑制剂, 8 $\mu\text{mol/L}$)、FCCP(线粒体解偶联剂, 9 $\mu\text{mol/L}$)、鱼藤酮(复合体I抑制剂, 10 $\mu\text{mol/L}$)、抗霉素A(复合体III抑制剂, 10 $\mu\text{mol/L}$), 并实时监测药物反应。检测ECAR: 通过检测加入葡萄糖(10 mmol/L)、寡霉素(1 $\mu\text{mol/L}$)、2-DG(100 mmol/L)后的反应, 测定不同时间点的产酸率, 确定细胞糖酵解速率的变化情况, 检测过程与检测OCR相似。

1.2.5 Western blot实验 细胞弃培养基后用PBS洗涤2次, 向细胞沉淀中加入80~100 μL 的添加过PMSF的RIPA裂解液, 置于冰上裂解15 min, 转移裂解产物至1.5 mL EP管中, 在4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 $\times g$ 条件下离心20 min。BCA法测浓度, 调节浓度至1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 后, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 min, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存待用。随后在12%浓度的聚丙烯酰胺凝胶中, 电泳(70 V) 30 min, 随后在110 V电压条件下再电泳60 min。将蛋白转移至PVDF膜。300 mA条件下转膜65 min。转膜结束后, 采用5%脱脂牛奶室温封闭1 h, 然后4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育抗体过夜, 次日孵育二抗, TBST洗膜后进行曝光。

1.2.6 转录组测序分析 用Trizol法分别提取HCMV感染96 h后的细胞及对照组细胞的总RNA, 每组3个生物学重复, 共计6个样本, 并委托北京安诺优达科技有限公司采用Illumina HiSeq 2000测序平台进行转录组测序, 经Base calling软件将测序所得原始数据转化为序列数据(raw reads), 之后通过去接头、去低质量、

去污染等过程完成数据处理得到clean reads。各样品的clean reads与参考基因组比对后, 经过StringTie序列拼接软件拼接得到Unigenes序列, 最后通过RPKM值(reads per kilobase per million mapped reads)进行标准化处理后作为后续的分析对象^[8]。设定FDR(false discovery rate)<0.001且 $|\log_2\text{Foldchange}|>1$ 作为显著差异表达基因的筛选条件。

1.2.7 蛋白质谱检测 分别收集HCMV感染96 h后的细胞及对照组细胞, 每组3个生物学重复, 共计6个样本, 用PBS洗涤3次后进行蛋白质谱分析: 蛋白酶解, 并置于反相高效液相层析柱上洗脱蛋白, 然后以LTQ Orbitrap Velos Pro轨道阱质谱仪进行蛋白质谱分析。

1.2.8 数据统计 采用SPSS 21进行统计学分析, 实验数据以“平均值 $\pm$ 标准误”($\bar{x}\pm s$)的形式表示, 采取Student's *t*检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

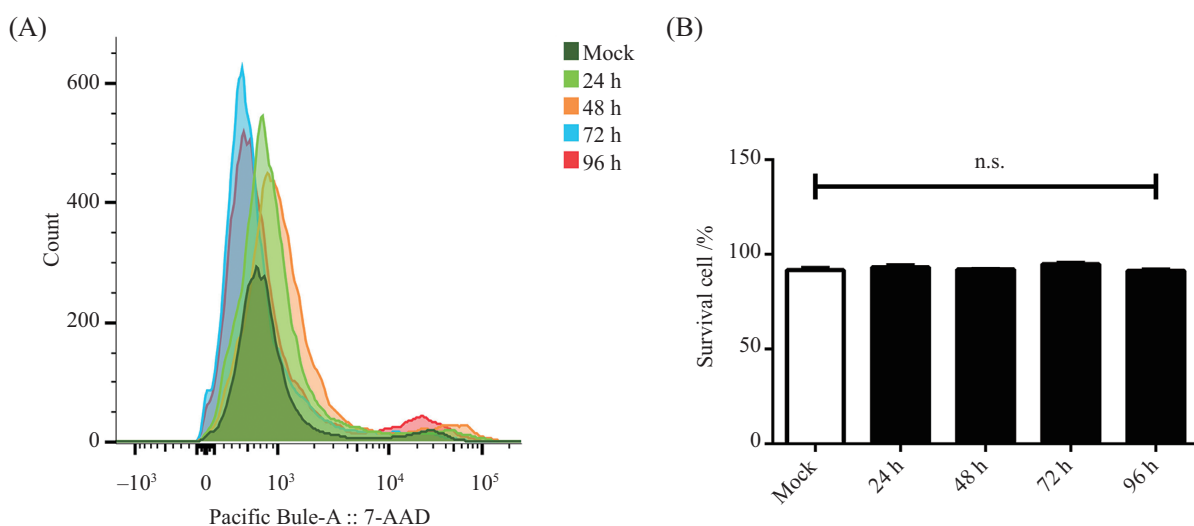
2 结果

2.1 HCMV感染对THP-1细胞生存的影响

显微镜下观察到HCMV感染组THP-1细胞与对照组THP-1细胞形态类似, 呈类圆形, 悬浮生长。HCMV分别感染THP-1细胞24 h、48 h、72 h及96 h后, 采用流式细胞仪检测分析细胞存活率, 与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)(图1)。

2.2 HCMV感染对THP-1细胞OCR与ECAR的影响

HCMV感染THP-1细胞48 h、72 h后, 在52 min、



A: 流式细胞仪测定的细胞生存率峰图结果; B: 统计学分析细胞生存率。Mock: 对照组; $n=3$; “n.s.”表示无统计学意义。

A: the results of cell survival peak determined by flow cytometry; B: statistical analysis of cell survival rate; Mock: control group; $n=3$; “n.s.” means no statistical significance.

图1 HCMV感染THP-1细胞后的细胞生存率
Fig.1 Cell survival rate of THP-1 cells infected with HCMV

60 min及68 min 3个测量时间点, 感染组与对照组相比, FCCP诱导的极限呼吸速率明显上升, 差异有统计学意义($P<0.05$)(图2)。而HCMV感染THP-1细胞48 h、72 h及96 h后, 在52 min、60 min及68 min 3个测量时间点, 感染组与对照组相比, Oligo诱导的最大糖酵解能力明显下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)(图3)。

2.3 HCMV感染对THP-1细胞线粒体动力学蛋白的影响

HCMV感染THP-1细胞24 h、48 h、72 h及96 h后, Western blot结果显示, 与对照组相比, 感染组线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, MFN1)、视神经萎缩蛋白1(optic atrophy 1, OPA1)及金属蛋白酶(overlapping with the M-AAA protease 1 homolog, OMA1)表达水平明显升高, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(图4)。

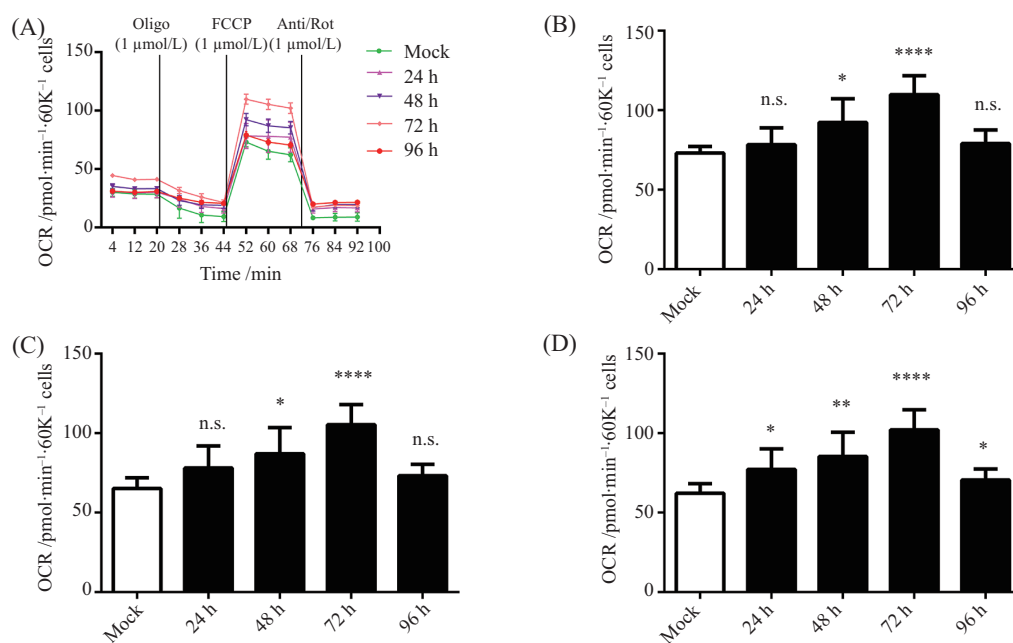
2.4 HCMV感染THP-1细胞后转录组学分析结果

前期通过KEGG数据库 (<https://www.genome.jp/kegg/seq/>) 比对及运用RPKM法计算mRNA的表达量, 筛选出差异表达的mRNA。我们发现, HCMV

感染组ATP酶基因 $ATP8A1$ 、 $ATP6AP1L$ 及 $ATP6VIC2$ 等氧化磷酸化相关基因表达明显上调($P<0.001$), 乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase, $LDHA$)、 α -烯醇化酶(alpha-enolase enzyme, $ENO1$)及 β -烯醇化酶(beta-enolase enzyme, $ENO3$)等糖酵解相关基因表达明显下调($P<0.001$)(图5)。

2.5 HCMV感染THP-1细胞后的蛋白质组学分析结果

应用质谱仪检测分析HCMV感染THP-1细胞组及对照组蛋白的表达差异, 将所得到的原始数据采用Proteome Discoverer 1.3、Trans-Proteomic Pipeline和APEX Quantitative Proteomics Tool等软件进行分析, 获得791个蛋白。我们以Fold change >1.5 , $P<0.05$ 为标准筛选出表达上调的蛋白29个, 表达下调的蛋白22个(图6)。应用KEGG数据库分析差异表达蛋白后发现, ATP酶氢离子转运蛋白 $ATP6V1A$ 、 $ATP5O$ 及磷酸乙醇酸磷酸酶(phosphoglycolate phosphatase, PGP)等细胞代谢相关蛋白表达显著上调($P<0.01$)(表1)。

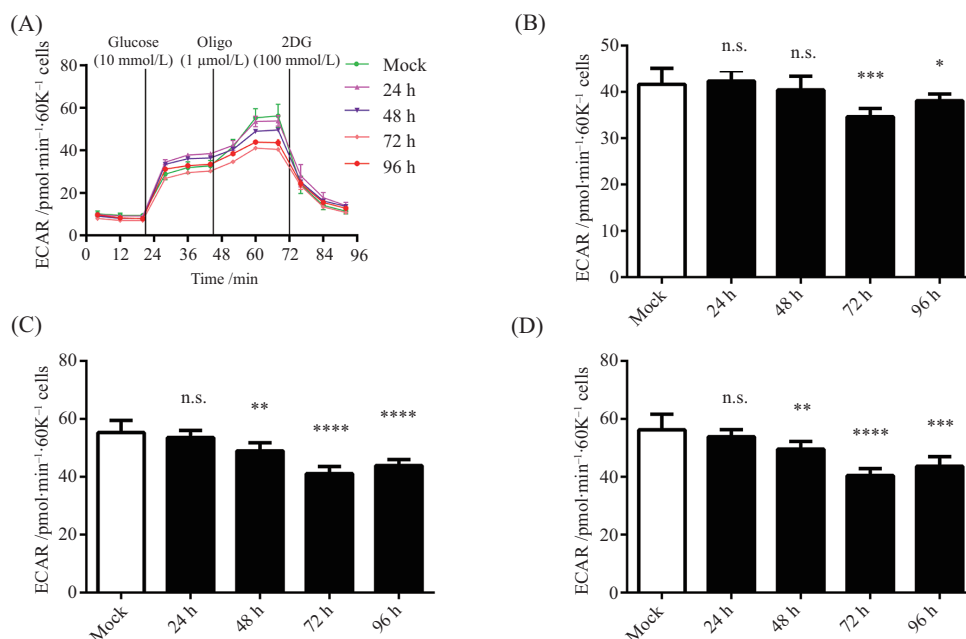


A: XF96海马生物能量测定仪检测有氧呼吸率(OCR); B: 统计分析FCCP诱导期间52 min处各组的OCR值; C: 统计分析FCCP诱导期间60 min处各组的OCR值; D: 统计分析FCCP诱导期间68 min处各组的OCR值。Mock: 对照组; $n=3$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$, “n.s.”表示无统计学意义, HCMV各感染组分别与对照组比较。

A: detection of the oxygen consumption rates (OCR) by XF96 Extracellular Flux Analyzer; B: the OCR values of each group at 52 min during FCCP induction were statistically analyzed; C: the OCR values of each group at 60 min during FCCP induction were statistically analyzed; D: the OCR values of each group at 68 min during FCCP induction were statistically analyzed. Mock: control group; $n=3$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$, “n.s.” means no statistical significance. HCMV infection groups were compared with the control group.

图2 HCMV感染对THP-1细胞OCR水平的影响

Fig.2 Effect of HCMV infection on OCR level in THP-1 cells

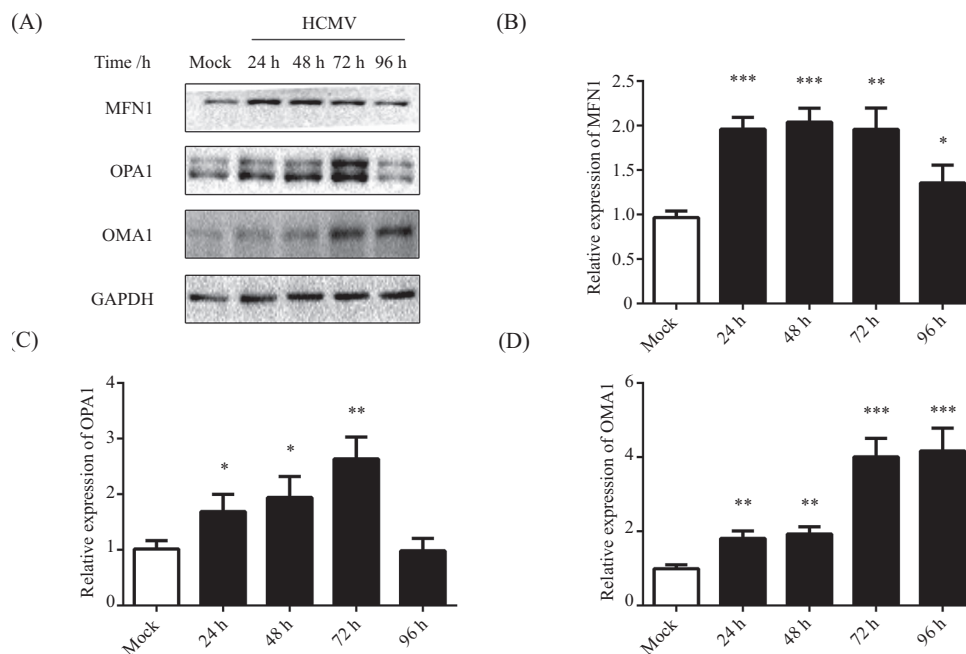


A: XF96海马生物能量测定仪检测细胞外酸化率(ECAR); B: 统计分析Oligo诱导期间52 min处各组的ECAR值; C: 统计分析Oligo诱导期间60 min处各组的ECAR值; D: 统计分析Oligo诱导期间68 min处各组的ECAR值。Mock: 对照组; $n=3$; $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, $****P<0.0001$, “n.s.”表示无统计学意义, HCMV各感染组分别与对照组比较。

A: detection of the extracellular acidification rate (ECAR) by XF96 Extracellular Flux Analyzer; B: the ECAR values of each group at 52 min during Oligo induction were statistically analyzed; C: the ECAR values of each group at 60 min during Oligo induction were statistically analyzed; D: the ECAR values of each group at 68 min during Oligo induction were statistically analyzed. Mock: control group; $n=3$; $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, $****P<0.0001$, “n.s.” means no statistical significance. HCMV infection groups were compared with the control group.

图3 HCMV感染对THP-1细胞ECAR水平的影响

Fig.3 Effect of HCMV infection on ECAR level in THP-1 cells



A: MFN1、OPA1及OMA1蛋白的表达水平; B~D: MFN1、OPA1及OMA1蛋白相对表达量的统计分析。Mock: 对照组; $n=3$; $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, HCMV各感染组分别与对照组比较。

A: the expression of MFN1, OPA1 and OMA1 at protein level; B-D: the statistical analysis of relative expression of MFN1, OPA1 and OMA1. Mock: control group; $n=3$; $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$. HCMV infection groups were compared with the control group.

图4 HCMV感染THP-1细胞后MFN1、OPA1及OMA1的表达

Fig.4 The expression of MFN1, OPA1 and OMA1 in HCMV infected THP-1 cells

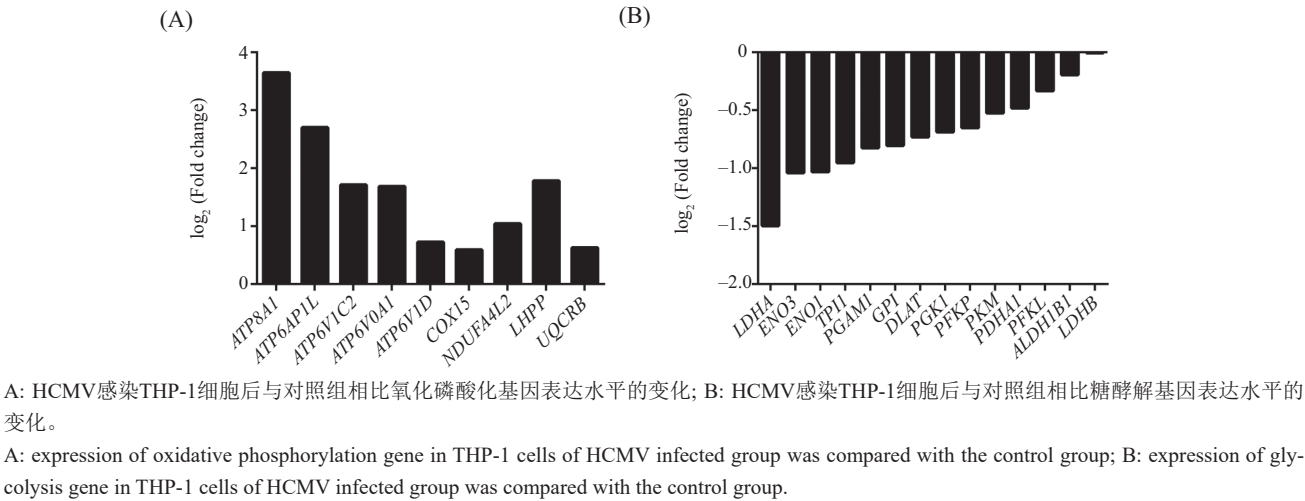
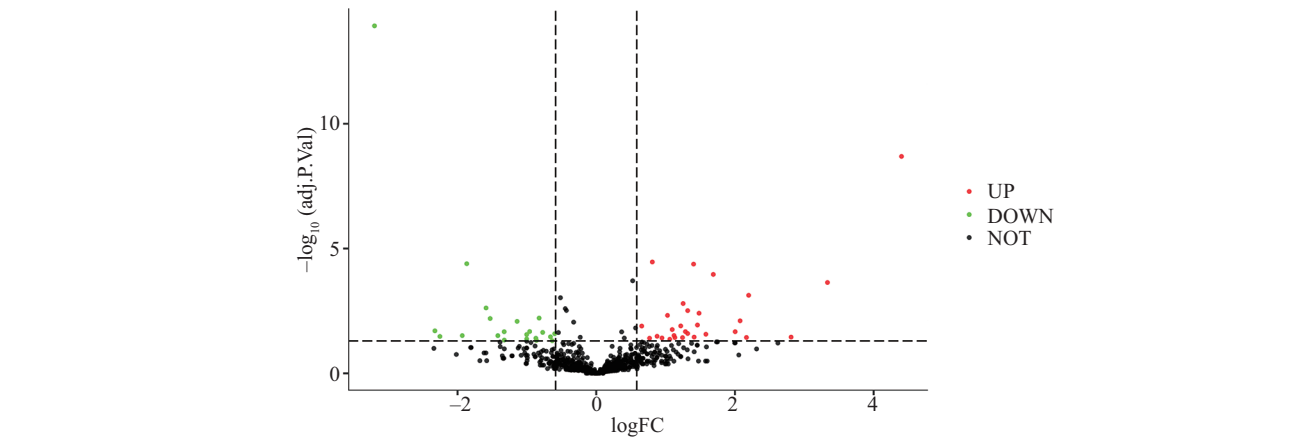


图5 HCMV感染THP-1细胞后细胞代谢相关基因的表达

Fig.5 Expression of metabolism related genes in HCMV infected THP-1 cells



设定以Fold change>1.5且P<0.05为标准, 筛选出表达上调的蛋白29个, 表达下调的蛋白22个。

Fold change>1.5 and P<0.05 were used as criteria to screen out 29 proteins with up-regulated expression and 22 proteins with down-regulated expression.

图6 HCMV感染THP-1细胞差异表达蛋白的火山图

Fig.6 Volcano plot of differentially expressed proteins in HCMV infected THP-1 cells

表1 HCMV感染THP-1细胞代谢相关蛋白的表达

蛋白质序列号	基因名称	差异倍数	P值
Uniprot_accession	Gene name	Fold change	P value
P38606	ATPase H ⁺ transporting V1 subunit A (<i>ATP6V1A</i>)	10.09	2.30E-04
P06737	Phosphorylase, glycogen, liver (<i>PYGL</i>)	3.22	1.09E-04
A6NDG6	Phosphoglycolate phosphatase (<i>PGP</i>)	2.79	3.91E-02
P48047	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, O subunit (<i>ATP5O</i>)	2.65	4.20E-05
P34897	Serine hydroxymethyltransferase 2 (<i>SHMT2</i>)	2.04	4.78E-03
P28838	Leucine aminopeptidase 3 (<i>LAP3</i>)	1.70	3.91E-02
P52209	Phosphogluconate dehydrogenase (<i>PGD</i>)	1.58	1.28E-02
P06744	Glucose-6-phosphate isomerase (<i>GPI</i>)	0.57	6.12E-03
Q9BWD1	Acetyl-CoA acetyltransferase 2 (<i>ACAT2</i>)	0.40	4.65E-02
Q9UBQ7	Glyoxylate and hydroxypyruvate reductase (<i>GRHPR</i>)	0.26	3.07E-02

3 讨论

病毒感染宿主细胞后, 宿主可产生一系列的免疫反应以对抗病毒的入侵, 而病毒为维持自身的复制及持续感染能力, 需利用宿主细胞的能量逃逸抗病毒反应阻截。HCMV是最常见的先天性感染病原体之一, 在免疫低下患者中可造成严重后果, 但目前尚未出现有效的预防和治疗措施。而随着代谢组学与代谢流分析技术的发展, 代谢干预治疗病毒感染逐渐成为人们的关注重点。本研究结果显示, HCMV感染THP-1细胞后OCR水平逐渐上升, 氧化磷酸化基因及代谢相关蛋白的表达上调, 这表明HCMV感染可促进THP-1细胞氧化磷酸化。但HCMV感染96 h后OCR水平未明显升高, 我们认为与HCMV在THP-1细胞的感染状态有关。我们前期研究发现, 在HCMV感染THP-1细胞96 h内, DNA拷贝数维持在低水平复制状态, 而在感染96 h后可能已处于稳定的低水平潜伏感染状态, 对能量的需求不高, 所以THP-1细胞OCR水平有所下降。

随着代谢领域研究的进展, 我们对病毒与细胞能量代谢的关系有了更深入的研究。研究发现, Flu^[6]、DENV^[7]及单纯疱疹病毒I型^[9]等病毒均可引起宿主细胞糖酵解水平的升高, 但也有部分病毒因感染状态及宿主细胞的不同, 所引起的糖酵解水平也有所差异, 如卡波氏肉瘤相关病毒(kaposi's sarcoma associated herpesvirus, KSHV)潜伏感染时糖酵解水平下降, 而在裂解感染时相反^[10]; HIV感染CD4⁺ T细胞时, 多种糖酵解代谢产物增加, 而在感染巨噬细胞时则有相反的结果^[11]。先前HONG^[12]对HCMV的研究发现, HCMV可在神经元细胞内表达pUL37x1蛋白, 并通过钙依赖途径活化磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK)上调糖酵解水平。本文的结果与其不同, 不同于神经元细胞, HCMV可在THP-1细胞中处于稳定的低水平潜伏感染状态, 病毒复制水平存在差异, 所以糖酵解的水平有不同的变化。多数病毒感染宿主细胞后糖酵解关键酶基因表达增强, ABRANTES等^[9]发现, 单纯疱疹病毒I型感染Vero细胞后PFK-1活性增强; LIU等^[13]发现, 磷酸丙糖异构酶(triose-phosphate isomerase, TPI)促进白斑综合症病毒(white spot syndrome virus, WSSV)在虾内的复制; WU等^[14]发现, 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS5B与丙酮酸激酶M2型(pyruvate kinase subtype M2, PKM2)结合参与病毒的致病过程。但本文的转录组

分析结果显示, 感染组PFKL、PKFP、TPI及PKM的表达水平明显下调, 这从转录水平上表明, HCMV的感染可抑制糖酵解, 这与生物能量测定仪的结果一致。

线粒体是细胞内的能量代谢中心, 病毒为维持自身复制通常会影线粒体的状态。近年来, 病毒感染所引起的线粒体动力学的变化日益受到关注, 如DENV感染Huh7细胞可抑制动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, DRP1)诱导线粒体分裂的能力, 达到促进病毒复制的目的^[15]; HBV、HCV感染Huh7细胞可刺激Drp1的表达促使线粒体分裂增加^[16-17]; HIV-1感染HPNs细胞后诱导线粒体的核周聚集和DRP1的线粒体移位, 导致神经元线粒体断裂^[18]。本文通过Western blot实验发现, HCMV感染可引起线粒体融合相关蛋白MFN1、OPA1、OMA1表达水平明显升高。而OPA1可介导线粒体内膜的融合以及维持线粒体嵴的正常形态, OPA1在导入线粒体膜间隙时可被OMA1及Yme1L裂解形成长片段的OPA1蛋白(L-OPA1)和短片段的OPA1蛋白(S-OPA1)。L-OPA1具有膜锚定作用, 而S-OPA1可以维持促进氧化磷酸化功能^[19]。因而, HCMV可通过诱导线粒体融合来调控细胞的能量代谢。

本研究结果证实, HCMV的感染可引起THP-1细胞能量代谢的改变, 导致氧化磷酸化水平的提高和糖酵解水平的下降, 为明确HCMV感染的分子机制提供实验依据。但由于HCMV的感染是一个复杂的过程, 本文得到的仅是初步探索的结果, 后续应做进一步的研究, 如HCMV感染THP-1细胞导致糖酵解水平下降是否与其诱发的线粒体凋亡有关, 以及宿主抗病毒免疫是否影响宿主细胞糖酵解水平等, 这些问题的解决将有利于寻求新的抗病毒治疗途径。

参考文献 (References)

- [1] GRIFFITHS P, BARANIAK I, REEVES M. The pathogenesis of human cytomegalovirus [J]. J Pathol, 2015, 235(2): 288-97.
- [2] KIM S J, AHN D G, SYED G H, et al. The essential role of mitochondrial dynamics in antiviral immunity [J]. Mitochondrion, 2018, 41: 21-7.
- [3] TIKU V, TAN M W, DIKIC I. Mitochondrial functions in infection and immunity [J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(4): 263-75.
- [4] YEGANEH B, GHAVAMI S, RAHIM M N, et al. Autophagy activation is required for influenza a virus-induced apoptosis and replication [J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2018,

- 1865(2): 364-78.
- [5] ZHU L, MOU C, YANG X, et al. Mitophagy in TGEV infection counteracts oxidative stress and apoptosis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 27122-41.
- [6] RITTER J B, WAHL A S, FREUND S, et al. Metabolic effects of influenza virus infection in cultured animal cells: intra- and extracellular metabolite profiling [J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 4: 61.
- [7] FONTAINE K A, SANCHEZ E L, CAMARDA R, et al. Dengue virus induces and requires glycolysis for optimal replication [J]. *J Virol*, 2015, 89(4): 2358-66.
- [8] MORTAZAVI A, WILLIAMS B A, MCCUE K, et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq [J]. *Nat Methods*, 2008, 5(7): 621-8.
- [9] ABRANTES J L, ALVES C M, COSTA J, et al. Herpes simplex type 1 activates glycolysis through engagement of the enzyme 6-phosphofructo-1-kinase (PFK-1) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(8): 1198-206.
- [10] ZHU Y, RAMOS DA SILVA S, HE M, et al. An oncogenic virus promotes cell survival and cellular transformation by suppressing glycolysis [J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(5): e1005648.
- [11] HOLLENBAUGH J A, MUNGER J, KIM B. Metabolite profiles of human immunodeficiency virus infected CD4⁺ T cells and macrophages using LC-MS/MS analysis [J]. *Virology*, 2011, 415(2): 153-9.
- [12] HONG C T, CHAU K Y, SCHAPIRA A H. The cytomegalovirus protein pul37 $\times$ 1 targets mitochondria to mediate neuroprotection [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31373.
- [13] LIU F, LI S, LIU G, et al. Triosephosphate isomerase (TPI) facilitates the replication of WSSV in *exopalaemon carinicauda* [J]. *Dev Comp Immunol*, 2017, 71: 28-36.
- [14] WU X, ZHOU Y, ZHANG K, et al. Isoform-specific interaction of pyruvate kinase with hepatitis C virus NS5B [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(15): 2155-60.
- [15] BARBIER V, LANG D, VALOIS S, et al. Dengue virus induces mitochondrial elongation through impairment of Drp1-triggered mitochondrial fission [J]. *Virology*, 2017, 500: 149-60.
- [16] KIM S J, KHAN M, QUAN J, et al. Hepatitis B virus disrupts mitochondrial dynamics: induces fission and mitophagy to attenuate apoptosis [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003722.
- [17] KIM S J, SYED G H, KHAN M, et al. Hepatitis C virus triggers mitochondrial fission and attenuates apoptosis to promote viral persistence [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(17): 6413-8.
- [18] TEODOROF-DIEDRICH C, SPECTOR S A. Human immunodeficiency virus type 1 gp120 and tat induce mitochondrial fragmentation and incomplete mitophagy in human neurons [J]. *J Virol*, 2018, 92(22): e00993-18.
- [19] LEE H, SMITH S B, YOON Y. The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(17): 7115-30.