

27. Dicembre

## L'interazione Orf9b-TOM70: una possibile strategia terapeutica anti-Omicron

*Nell'elaborare una strategia  
è importante riuscire a vedere le cose che sono ancora distanti  
come se fossero vicine  
ed avere una visione distaccata delle cose che,  
invece, sono più prossime.*  
Miyamoto Musashi

### Facciamo il punto:

La diffusione esplosiva delle (VOC) SARS-CoV-2 e di **Omicron** in particolare ci dicono che il virus ha completato con successo un suo programma di adattamento attraverso un controllo radicale e minuzioso della nostra **immunità innata**.

Una possibile spiegazione è nelle mutazioni a carico delle regioni non-spike che codificano per **N**, **Orf9b** e **Orf6**, antagonisti immunitari innati capaci di neutralizzare i nostri meccanismi di difesa che risultano così enormemente depotenziati.

Utilizzando in maniera combinata proteomica, fosfoproteomica, l'RNAseq e diversi saggi di replicazione virale si è potuto dimostrare che gli isolati della variante **Alpha** (B.1.1.7) sopprimono in modo più efficace le risposte immunitarie innate nelle cellule epiteliali delle vie aeree, rispetto agli isolati della prima ondata dimostrando così che **Alpha** ha notevolmente aumentato l'RNA subgenomico e i livelli proteici di **N**, **Orf9b** e **Orf6**.

In particolare l'espressione di **Orf9b** da sola ha soppresso la **risposta immunitaria innata** attraverso l'interazione con **TOM70**, una proteina mitocondriale necessaria per l'attivazione di MAVS l'adattatore di rilevamento dell'RNA virale.

Inoltre, l'attività di Orf9b e la sua associazione con TOM70 è regolata dalla fosforilazione.

E' estremamente probabile che la neutralizzazione della soppressione immunitaria innata più efficace, mediata dalle proteine antagoniste virali, aumenti la probabilità di trasmissione di varianti **alpha** di successo e possa amplificare la replicazione *in vivo* e la durata dell'infezione.

Le mutazioni al di fuori di **Spike** nell'adattamento di SARS-CoV-2 all'uomo è sottolineata dall'osservazione che esistono mutazioni simili nelle regioni regolatorie **Delta** e **Omicron N/Orf9b**.

### Interazioni Orf9b e TOM

Il team dello *Shanghai Center for Systems Biomedicine, Key Laboratory of Systems Biomedicine Shanghai Jiao Tong University* ha localizzato **Orf9b** sulla membrana dei mitocondri da dove sopprime le risposte dell'interferone di tipo I (IFN-I) attraverso l'associazione con **TOM70** la cui sovraespressione **TOM70** potrebbe in gran parte neutralizzare questa inibizione (Liang et al 2020)

**Daniel Stetson** della *Howard Hughes Medical Institute della Yale University* ha dimostrato come l'induzione di IFN-I sia un evento centrale della difesa immunitaria contro l'infezione virale.

I recettori che attivano la produzione di IFN di tipo I coordinano la risposta immunitaria contro i patogeni intracellulari, inclusi virus, probabilmente batteri citosolici ed inoltre li rilevano e riconoscono i virus a RNA attraverso le vie di segnalazione **RIG-I** e **MDA5** avviando così la risposta immunitaria adattativa.(Stetson D et al 2006).

Inoltre i sensori citosolici intrinseci alla cellula potrebbero anche avere diverse funzioni oltre all'attivazione degli interferoni di tipo I, inclusa l'induzione dell'apoptosi e la modulazione dei ligandi che segnalano le cellule infette per l'eliminazione da parte delle cellule **NK** e dei **CTL**.

Dopo l'esposizione a virus a RNA, viene avviata una risposta antivirale intracellulare mediante l'attivazione dei recettori **RIG-I like**. In particolare, quando **RIG-I/MDA5** rileva l'RNA virale, attivano un complesso di segnalazione sulla membrana mitocondriale esterna, comprese le proteine adattatrici **MAVS/TRAF3/TRAF6/TOM70**, che alla fine porta alla produzione di IFN- $\beta$  e all'induzione di un antivirale dell'ospite. ( Liu XY 2010)

Pertanto è possibile che SARS-CoV-2 **Orf9b** possa svolgere un ruolo critico nelle interazioni coronavirus-ospite, in particolare attraverso una soppressione delle risposte IFN-I attraverso l'associazione con **TOM70** secondo due possibili spiegazioni:

Innanzitutto, poiché HSP90 interagisce fisicamente con **TOM70** e svolge un ruolo critico nella risposta dell'attivazione dell'IFN-I mediata da **TOM70**, **Orf9b** può competere con HSP90 per il legame a **TOM70**.

In secondo luogo, **TOM70** può essere essenziale per il metabolismo energetico mitocondriale.

In particolare, i pazienti con funzione anormale del **TOM70** soffrono di acidosi lattica. Interagendo con **TOM70**, **Orf9b** può indurre la produzione di acido lattico, che ha dimostrato di inibire le risposte IFN-I. (Zhang W 2019)

Considerando il ruolo critico dell'IFN-I nella risposta antivirale umana, il ripristino della produzione di IFN-I nei pazienti con COVID-19 potrebbe rivelarsi una strategia terapeutica

*La strategia è una qualsiasi forma del pensiero che ha per obiettivo la modifica della realtà.*  
(Luca Desiata)

## Riferimenti

-Liang HW et al **SARS-CoV-2 Orf9b suppresses type I interferon responses by targeting TOM70**. Cell Mol Immunol. 2020 Sep;17(9):998-1000.

-Stetson DB et al. **Type I interferons in host defense**. Immunity. 2006 Sep;25(3):373-81.

-Liu XY et al. **Tom70 mediates activation of interferon regulatory factor 3 on mitochondria**. Cell Res. 2010 Sep;20(9):994-1011.

-Zhang W et al. , **Lactate Is a Natural Suppressor of RLR Signaling by Targeting MAVS**. Cell. 2019 Jun 27;178(1):176-189.e15.

## # Finestra: Interferon ed immunità adattativa

I nostri tessuti possiedono la straordinaria capacità di inibire la replicazione virale , di impedirne la diffusione ad altre cellule e di “reclutare” le popolazioni cellulari preposte alla risposta immunitaria istruendole su come intervenire contro i virus. Questa capacità, che rappresenta una delle componenti immunità adattativa innata tessutale, è regolata da specifiche glicoproteine della famiglia delle citochine identificate nel 1957 da Isaacs e Lindenmann definite interferoni (IFN).

Dell'arsenale interferoni sono quattro quelli da valutare attentamente : **alfa, beta, lambda e gamma** capaci appunto di interferire direttamente sui meccanismi che i virus utilizzano per la loro riproduzione o indirettamente potenziando la risposta immunitaria attraverso l'azione dei **macrofagi** e degli **NK** .

La sintesi degli interferoni viene innescata dai **recettori PRR** esposti sulla superficie cellulare Una sorta di “bio-radar “ specializzati nella individuazione e nel riconoscimento di patogeni e di virus in particolare . Una volta intercettati e segnalata la loro presenza all'interno della cellula viene attivata una sequenza di “segnali” che innescano la sintesi degli interferoni alfa e beta.

Questi vengono trascritti dagli **IRF** specifici fattori di trascrizione e tradotti da **IF2**. In particolare l'interferon alfa attiva una batteria di geni IGS (gene stimolati dagli interferoni) capaci di bloccare l'internalizzazione virale in atto e di inibire la replicazione di quelli già penetrati attraverso la **produzione di PKR (Protein kinase-R)** che fosforila l'**IF2**, un fattore di traduzione disattivandolo. In questo modo viene bloccata la replicazione virale e attivata la degradazione di quelli già replicati.

In relazione alla carica virale gli interferoni possono diffondere in gran parte delle cellule dello stesso tessuto in cui il virus non è ancora penetrato allertando una serie di geni che mettono fuori uso le macchine molecolari che il virus potrebbe utilizzare per replicarsi.

Contemporaneamente **l'interferon beta** viene rilasciato nei linfonodi regionali e in circolo dove attiva le popolazioni cellulari della risposta immunitaria che iniziano la produzione di anticorpi specifici. La febbre e la spossatezza muscolare, segni prodromici di una affezione virale, sono in parte dovuti proprio alla sintesi iniziale di interferoni ci informano indirettamente che i virus sono all'interno delle nostre cellule e che stanno iniziando a riprodursi e che le nostre cellule sono pronte a neutralizzarli. La presenza dei virus è clinicamente accertata attraverso test molecolari "tamponi" e la sua attività attraverso test sierologici specifici (Gordon D 2020).

**Questo complesso sistema di sorveglianza e protezione cellulare può essere sabotato con una sorprendente rapidità dai coronavirus e dal sars-cov2 in particolare** (Vabret N 2020).

-Vabret N et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. Immunity (2020).

-Gordon DE et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug prepurposing. Nature (2020).

**Le ricadute cliniche e terapeutiche di questa "finestra" sono riportate in**

**5.Novembre** Possedere autoanticorpi anti interferon aumenta la vulnerabilità a COVID-19.

L'ennesima "trascuratezza diagnostica" di questa pandemia