

遺伝子から紐解くコロナウイルスの多様性

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 大阪市立大学大学院看護学研究科 公開日: 2021-03-15 キーワード (Ja): 風邪症候群の原因ウイルス, DNAウイルスとRNAウイルス, コロナウイルスの特徴とヒトに感染するコロナウイルス, コロナウイルスのゲノム構造と主要なタンパク質, ヒト・コロナウイルスの宿主細胞受容体, スパイク(S)タンパク質の遺伝子変異, コロナウイルス・ゲノムの変異, 新型コロナウイルスのパンデミック収束にむけて キーワード (En): 作成者: 藤田, 寿一 メールアドレス: 所属: 大阪市立大学
URL	https://doi.org/10.24544/ocu.20210315-003

遺伝子から紐解くコロナウイルスの多様性

藤田 寿一

Hisakazu Fujita

I. はじめに

2019年12月下旬に中国・武漢市のチャイナ・シーフードマーケットを訪れたグループの人々における異常な呼吸器症候群に端を発したコロナウイルス病2019 (Coronavirus disease 2019; COVID-19) は、ヒト・コロナウイルスに属する新規の重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2 (Severe acute respiratory syndrome: SARS (サーズ) コロナウイルス2; SARS-CoV-2) による感染症である (Na Zhu, et al., 2020)。この新興感染症は瞬く間に世界中に拡大し、いわゆるパンデミックを引き起こして、現在 (2021年1月) に至っても、依然として世界中で混乱が生じており、終息の見込みは立っていない状況である。

本講演では、風邪症候群の一因であるヒト・コロナウイルスとSARS-CoVやSARS-CoV-2あるいは中東呼吸器症候群コロナウイルス (Middle East respiratory syndrome: MERS (マーズ) コロナウイルス: MERS-CoV) におけるウイルスの遺伝情報の変化 (遺伝子変異) やSARS-CoV-2の多様性について、遺伝情報を担う核酸すなわち遺伝子の側面から概説したい。

II. 風邪症候群の原因ウイルス

風邪症候群は、鼻腔や咽頭などの上気道粘膜の炎症性疾患の総称で、鼻水や咳などの局所症状のほか、発熱や頭痛などの全身症状を伴いあらゆる年齢層での健康な人の大半が罹患し発症するごく普通の疾患である。原因となる微生物のうち80~90%がウイルスといわれており、それ以外では、一般細菌、肺炎マイコプラズマ、肺炎クラミドフィラなどの特殊な細菌も原因となる。主な原因ウイルスとしては、ライノウイルス、コロナウイルスが多く、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、RSウイルス、アデノウイルスなどが続く (日本呼吸器学会のホームページ: https://www.jrs.or.jp/modules/citizen/index.php?content_id=2)。

III. DNAウイルスとRNAウイルス

ウイルスは、自己増殖することなく宿主の細胞を利用して自己複製する極微小な感染性の構造体である。設計図であるウイルス・ゲノムの違いからDNAウイルスとRNAウイルスの2つに大別される。

前述のアデノウイルスに代表されるDNAウイルスは、多くの場合、相補的な2本鎖のDNAをウイルス・ゲノムとして持っているため、複製の際にエラーが少なく、遺伝情報は比較的安定に世代を超えて継承される。一方、コロナウイルスなど多くのRNAウイルスでは1本鎖構造のRNAが遺伝情報を担うため、複製時のエラーのバックアップがないことから、遺伝学的には複製の際に遺伝情報の変化が起きやすくなる (易変異性)。また、生化学的な視点から、一般にRNAはDNAと比較すると不安定である。RNAの構成成分であるリボースの2'位の水酸基には酸素に孤立電子対が2つあるため、例えば、塩基性の条件下において、隣接するリン酸は水酸基から求核攻撃を受け、ホスホジエステル結合が切断されて主鎖が開裂するなどDNAと比べて分解されやすい。したがって、SARS-CoV-2、いわゆる新型コロナウイルスでは1本鎖 (+) RNAがウイルス・ゲノムであるため後述のように変異型が出現しやすい。

IV. コロナウイルスの特徴とヒトに感染するコロナウイルス

コロナウイルスは、ネガティブ染色した感染性を有するウイルス粒子 (ビリオン) の電子顕微鏡によって観察される特徴的な突起 (スパイク) をもつ (図1A)。スパイクの形状は、長さ約20nmで先端部位が大きく膨らんだノブ状になっており、王冠、樹冠や花卉あるいは太陽コロナのような形態をしている。コロナウイルスの名称は、このスパイク状の形態によるもので、ラテン語の王冠を意味するコロナ (corona)、あるいはギリシャ語の王冠または花冠、光冠 (丸い光の輪) を意味するコロネ (koroónē) に由来する (田口文広, 2003)。

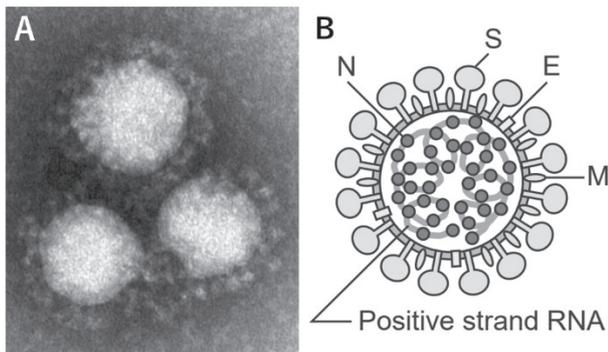


図1 コロナウイルスの構造と主要な構成成分

A：コロナウイルスの電子顕微鏡画像、B：脂質二重膜のエンベロープ中にN：Nucleo-capsidタンパク質に巻きついたPositive strand RNA：1本鎖 (+) RNAのウイルス・ゲノムが入っており、エンベロープの表面にはS:Spikeタンパク質、E：Envelopeタンパク質、M：Membraneタンパク質が配置されている。

出典：国立感染症研究所ホームページ
(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/9303-coronavirus.html>) を加工して作成

家畜や野生動物など我々の周りに棲息するあらゆる動物にコロナウイルスは感染し、様々な疾患を引き起こすことが知られている。ヒトに感染するコロナウイルスは、風邪症候群の4種類 (human coronavirus 229E：HCoV-229E、human coronavirus OC43：HCoV-OC43、human coronavirus NL63：HCoV-NL63、human coronavirus HKU1：HCoV-HKU1) と動物から感染する重症肺炎ウイルス2種類 (SARS-CoV, MERS-CoV) が知られており、さらにSARS-CoV-2を加えた計7種類 (表1) である (国立感染症

研究所のホームページ：<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/9303-coronavirus.html>)。

V. コロナウイルスのゲノム構造と主要なタンパク質

コロナウイルスの設計図である1本鎖 (+) RNAのサイズは約30キロベース (kb) で約30,000塩基からなり、ウイルス・ゲノムRNAの5'および3'末端にはmRNAとしての機能する際に重要なCap構造およびPoly (A) 構造がそれぞれ存在する。その間には5'側から、Leader配列、非構造タンパク質をコードする読み枠 (Open Reading Frame：ORF 1a, 1b) に続き、構造タンパク質をコードするS (Spike)・E (Envelope)・M (Membrane)・N (Nucleocapsid) 遺伝子が順に存在しており、さらにSとE、あるいはMとNの遺伝子間にもORFが存在する (田口文広、2003)。

主な非構造タンパク質としては、ウイルス・ゲノムの複製に関与するRNA依存性RNAポリメラーゼやヘリカーゼなどがある。一方、構造タンパク質では、ウイルス表面の特徴的な突起であるスパイクを構成するスパイク(S)タンパク質、ウイルス粒子の形成や宿主細胞からの出芽に関与するエンベロープ(E)タンパク質や膜(M)タンパク質といったウイルス性糖タンパク質、またゲノムRNAと結合してらせん状のリボヌクレオカプシド複合体を形成するヌクレオカプシド(N)タンパク質が主である (図1B)。一連の構造タンパク質の中でもスパイク(S)タンパク質は、宿主細胞膜上の受容体タンパク質に結合し、宿主細胞への付着、融合、侵入において最も重要な役割を果たしているこ

表1 ヒト・コロナウイルスの種類

ウイルス名	略称	属	疾患名	重症化	宿主受容体	発見年/年代
human coronavirus 229E	HCoV-229E	Alpha	風邪症候群	なし	APN ^{a)}	1960年代
human coronavirus OC43	HCoV-OC43	Beta, lineage A	風邪症候群	なし	Nec5Ac ^{b)}	1960年代
human coronavirus NL63	HCoV-NL63	Alpha	風邪症候群	なし	ACE2 ^{c)}	2000年代
human coronavirus HKU1	HCoV-HKU1	Beta, lineage A	風邪症候群	なし	Nec5Ac	2000年代
Severe acute respiratory syndrome coronavirus	SARS-CoV	Beta, lineage B	重症急性呼吸器症候群	あり	ACE2	2003
Middle East respiratory syndrome coronavirus	MERS-CoV	Beta, lineage C	中東呼吸器症候群	あり	DPP4 ^{d)}	2012
Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2	SARS-CoV-2	Beta, lineage B	重症急性呼吸器症候群	あり	ACE2	2019

a) Aminopeptidase-N：アミノペプチダーゼ-N
b) N-Acetylneuraminic acid：N-アセチルノイラミン酸 (アミノ糖)
c) Angiotensin-converting enzyme 2：アンジオテンシン変換酵素2
d) Dipeptidase4：ジペプチダーゼ4

とから、ワクチンや中和抗体あるいは侵入阻害剤の開発のターゲットになると考えられている。

VI. ヒト・コロナウイルスの宿主細胞受容体

表 1 に示すように、SARS 関連コロナウイルス (SARS-CoV および SARS-CoV-2) はアンジオテンシン変換酵素 2 : Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) 受容体を介して細胞に取り込まれるが、スパイク (S) タンパク質と結合する ACE2 は、呼吸器系の 2 型肺胞細胞、腸上皮細胞、内皮細胞、眼や腎臓の上皮細胞、肺胞単球細胞やマクロファージなど一部の免疫細胞、大脳皮質、脳幹などの神経系細胞などにも広く発現している (公益財団法人・東京都医学総合研究所ホームページ : <https://www.igakuken.or.jp/r-info/covid-19-info20.html>)。また、MERS コロナウイルスのスパイク (S) タンパク質はジペプチダーゼ 4 : Dipeptidase4 (DPP4) と結合することが明らかになっている (Ziad A Memish, et al., 2020)。一方、一般的な風邪の原因となる HCoV-NL63 のスパイク (S) タンパク質は、SARS 関連コロナウイルスと同様に ACE2 を宿主受容体とすることが報告されているが、その構造はアミノペプチダーゼ-N : Aminopeptidase-N (APN) 受容体を利用する風邪の原因ウイルス HCoV-229E のスパイク (S) タンパク質によく似ていることが明らかになっている (Krzysztof Pyrc, et al., 2006)。

VII. スパイク (S) タンパク質の遺伝子変異

今回、SARS-CoV-2 のパンデミックに際しては、ウイルス・ゲノムの情報が非常に早く解説・解析され、2020 年 1 月には Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) というデータベースサイトで公開されている。また、SARS-CoV-2 のスパイク (S) タンパク質についても、構造解析から SARS-CoV と同様にホモ 3 量体として機能することが明らかになっている (Miao Gui, et al., 2017, Ching-Lin Hsieh, et al., 2020)。

昨年、8 月 20 日付のアメリカ科学誌「セル」に掲載された論文 (Bette Korber, et al., 2020) によると、武漢由来の初期型ウイルスのスパイク (S) タンパク質において 614 番目のアミノ酸はアスパラギン酸 (D614) であり、世界各地で検出されたウイルスのゲノム解析結果を集約したデータベースを調べたところ、2020 年

3 月 1 日以前では、登録ウイルス (n=997) のうち 90% でスパイク (S) タンパク質は D614 で、ウイルス・ゲノムの 23403A>G 変異によってアミノ酸残基がアスパラギン酸 (D) からグリシン (G) に置き換わったスパイク (S) タンパク質 (D614G) をもつウイルスは 10% だけだった。しかし、その後 2020 年 3 月 1 ~ 31 日の 1 カ月間に登録されたウイルス (n=14,951) においては、67% でスパイク (S) タンパク質は D614G に変化しており、さらに 2020 年 4 月 1 日 ~ 5 月 18 日には、その比率は 78% に増加していた。地理的にみると、D614G の変化は、まずヨーロッパで増え、その後、北米、太平洋地域、アジアへと広がっていったと考えられており、いわゆる欧州型ウイルスである。日本国内では、2020 年 3 月 ~ 4 月の第 1 波において主流であったウイルスである。

この D614G スパイク (S) タンパク質の構造解析から、アスパラギン酸 (D) からグリシン (G) へ置換している部位は ACE 2 受容体の結合部位から離れた位置にあるが、このアミノ酸置換によってスパイク (S) タンパク質は、宿主受容体と結合しやすい立体構造をとる傾向が強まるため、結果としてウイルスの宿主細胞への侵入が容易になると考えられている (Yurkovetskiy L, et al., 2020)。さらに、人工的に作った D614G 変異型ウイルスを様々な種類の細胞に感染させる実験を行った結果、D614G 変異は宿主細胞への侵入の効率を高め、ウイルスの感染力が増し、増殖適応を強めること、さらにハムスターを用いた飛沫感染伝播実験の結果、D614G 変異型ウイルスで、武漢由来の D614 初期型ウイルスより感染伝播が起こっており D614G 変異がより高い飛沫感染効率に寄与していることが示唆されている。

一方で、D614G 変異は病原性には大きく影響しないこと、また D614G 変異型ウイルスは、D614 初期型ウイルスと類似した抗原性を示すことが示唆されており、野生型ウイルスに対して開発が進められてきたワクチンであっても、D614G ウイルスに対して野生型ウイルスと同様の効果が期待されると考えられる (Yixuan J Hou, et al., 2020)。

VIII. コロナウイルス・ゲノムの変異

新型コロナウイルスの場合、その変異速度は 25.9 塩基/ウイルス・ゲノム/年と推定されている (新型コロナウイルス SARS-CoV-2 のゲノム分子疫学調査、2020) が、感染と増殖が活発なウイルス株では世代サ

イクルが速く回るために、他のウイルス株よりも進化速度の推定値が高めになる可能性がある。

ウイルス・ゲノムの変異によって単に変化するほどウイルスの生存に有利という訳でなく、自己増殖能力を保持するためには、重要なタンパク質の基本的機能は維持される必要がある。RNAウイルスのように、精巧なエラー修復機構などが無い場合、ウイルス・ゲノム上ではランダムな変異により、自己増殖能力が損なわれるような突然変異の起こる頻度も多いと予想される。しかしながら、これらの変異ウイルスは淘汰される運命にあり、ほとんど検出されることはないと考えられる。一方、ウイルスの遺伝情報の変化の中には、ウイルス粒子の表面の構造をわずかに変化させる場合(前述のD614G変異など)もあり、このような場合には、ウイルスが宿主の免疫系による監視から逃れたり、宿主細胞との相互作用に変化が生じたりすることで、ウイルスの感染力や複製能が増加し、増殖適応を強めること、さらには感染対象の細胞の種類や生物種までも変化することにつながる場合があると考えられる。

2021年の現在において、イギリス型(VOC-202012/01)、南アフリカ型(501Y.V2)、ブラジル型(501Y.V3)といった変異株も出現しており、いずれも先のD614GにN501YやE484Kといった新たな変異が加わっている。E484K変異については、中和抗体からの回避に関連する変異であるとの推測もされており、さらにカリフォルニア型の出現も示唆されている。

IX. 新型コロナウイルスのパンデミック収束にむけて

先にも述べたように、新型コロナウイルスは宿主の細胞を利用して自己複製する感染性の病原体であり、決してウイルス単独で自己増殖することはない。しかし、我々が感染するという事は、新型コロナウイルスに自己ゲノムの複製や、その際の複製エラーなどによる遺伝子変異が生じる機会を提供していることになり、それが原因で生じるウイルスの多様性獲得につながる。つまり感染者が増加すればするほどウイルスの変異は起きやすくなる。したがって、先の高い増殖効率と感染伝播力を示すD614G変異スパイク(S)タンパク質をもつようなSARS-CoV-2が出現することを阻止するためには、やはり「感染予防」が重要となる。「手洗い」については、コロナウイルス・エンベロープの主成分が宿主細胞膜(リン脂質とタンパク質)に由来する脂質であり、アルコールや石鹼によって破壊できることから感染予防となる。「うがい」は、コ

ロナウイルスのスパイク(S)タンパク質とその受容体ACE2との結合を介した上気道粘膜の上皮細胞へのウイルス付着、融合、侵入を阻止することで感染予防となる。また、「マスク着用」や「密の回避」については、コロナウイルスの飛沫感染リスクを低下させ感染予防となる。従来から推奨されている基本的な感染予防対策を個人個人が常に意識して行うことが、このパンデミック収束にむけて何よりも重要である。

X. おわりに

2021年に入り、イギリスやアメリカをはじめとする世界各国でスパイク(S)タンパク質をターゲットに開発されたmRNA型ワクチン(ファイザー・ビオンテック社、アメリカ国立アレルギー感染症研究所・モデルナ社)やアデノウイルス・ベクターを使ったワクチン(オックスフォード大学・アストラゼネカ社)の大規模な接種が始まっている。いずれのワクチンも有効率が非常に高く、現在のところ、ワクチン接種による副反応については、インフルエンザ・ワクチンなど従来のワクチンと同程度であり、重篤な有害事象(アナフィラキシー反応)の発生について報告はあるが、その対処法は確立されており大きな問題とはならないと考えられている。今後、ワクチン接種者の長期的なフォローアップは重要な課題であるが、全世界的な集団免疫の獲得によって新型コロナウイルスのパンデミックが収束し、すべての人々が以前のような日常生活に戻れる日が訪れることを願ってやまない。

文献

- Bette Korber, Will M Fischer, Sandrasegaram Gnanakaran, et al. (2020) : Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*; 182(4): 812-827.e19.
- Ching-Lin Hsieh, Jory A. Goldsmith, Jeffrey M. Schaub, et al. (2020) : Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science*; 369(6510): 1501-1505.
- 田口文広(2003) : SARS コロナウイルス, ウイルス, 53(2) : 201-209.
- Krzysztof Pyrc, Ronald Dijkman, Lea Deng, et al. (2006) : Mosaic Structure of Human Coronavirus NL63, One Thousand Years of Evolution. *Journal*

- of Molecular Biology; 364(5): 964-973.
- Leonid Yurkovetskiy, Xue Wang, Kristen E. Pascal, et al. (2020) : Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. *Cell*; 183(3): 739-751.e8.
- Manasi P Jogalekar, Anurag Veerabathini and Prakash Gangadaran. (2020) : Novel 2019 coronavirus: Genome structure, clinical trials, and outstanding questions. *Experimental biology and medicine (Maywood)*; 245(11): 964-969.
- Miao Gui, Wenfei Song, Haixia Zhou, et al. (2017) : Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding. *Cell Research*; 27, 119-129.
- Na Zhu, Dingyu Zhang, Wenling Wang, et al. (2020) : A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*; 382(8): 727-733.
- Yixuan J Hou, Shiho Chiba, Peter Halfmann, et al. (2020) : SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science*; 70(6523): 1464-1468.
- Ziad A Memish, Stanley Perlman, Maria D Van Kerkhove, et al. (2020) : Middle East respiratory syndrome. *Lancet*; 395: 1063-1077.
- 国立感染症研究所のホームページ : <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/9303-coronavirus.html>
- 公益財団法人・東京都医学総合研究所ホームページ : <https://www.igakuken.or.jp/r-info/covid-19-info20.html>
- 日本呼吸器学会のホームページ : https://www.jrs.or.jp/modules/citizen/index.php?content_id=2
- 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 のゲノム分子疫学調査 : https://www.niid.go.jp/niid/images/research_info/genome-2020_SARS-CoV-MolecularEpidemiology.pdf