

SARS-CoV-2 とスパイクタンパク質

東京理科大学 薬学部 薬学科 教授 ^{のぐち こうじ}野口 耕司

■ はじめに

2019 年末に中国の武漢市から報告され、あっという間に世界中に広がった新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus Disease 2019: COVID-19)。2020 年の感染拡大初期には有効な対処法が確立しておらず、世界中で社会的な危機感が共有されました。3 年経過した 2022 年 12 月時点、グローバルにみても、もう安全、収束したとは言えませんが徐々に COVID-19 以前の社会状態に戻る様子が出てきました。

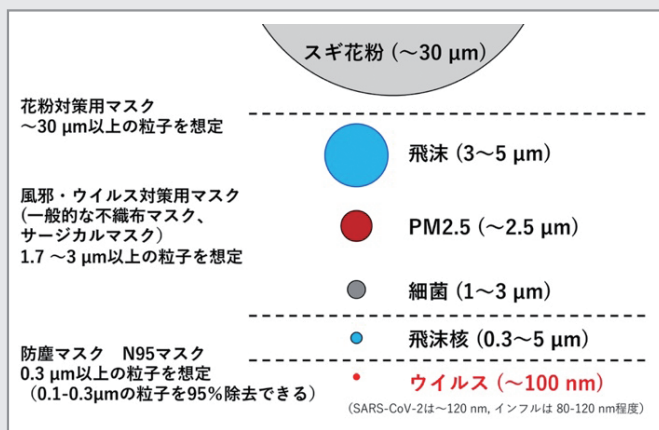
社会問題になった感染症の最近の前例としては、2009 年に新型インフルエンザ 2009 が世界中で感染拡大してパンデミック、という単語もニュースに出てきました。COVID-19 のように大変な騒動になったのですが、1 年でほぼ収束して以降、現在に至るまで普通の季節性インフルエンザと同じように扱われています (収束したといっても地球から消滅したわけでも無く、インフル流行期には普通に検出されています)。COVID-19 では重症度が高かったこと、感染流行のサイクルが長期に何度も繰り返したことから、みなさんの記憶に残る感染症となったかもしれません。何よりも患者さん、医療関係者のみならず、一般の皆さんにも、強烈な行動変容を求められたことから様々な思いが続いていることかと思えます。

さて、これだけ大騒ぎになった COVID-19、新型コロナウイルス感染症の原因はもうご存知でしょう

か？ SARS-CoV-2 (Sever Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 の略で、サーズコビツと発音されたりします。) という名前の病原性のウイルスです。ウイルス、というとなさんは例えばインフルエンザウイルス、などが馴染みがあるかもしれませんが、インフルと同じか？と思われるかもしれませんが、それなりに違います。高校生物でもウイルスについて詳しく勉強することはあまりないかもしれませんが、せっかくなので少し振り返ってみて、サイエンティフィックな観点から SARS-CoV-2 の特徴を紹介します。ちなみに私は高校生物はほとんど習っておりませんので、いま皆さんがウイルスについて知らなくても苦手な思うことはありません。今後の生活の知恵に役立てば幸いです。

■ ウイルスとは

ウイルスは Virus と書くので、ドイツ語読みではビールス、英語読みならヴァイラス、日本語読みでウイルスとなることが多いようです。高校教科書ではファージというものがウイルスの例としてよく記載されています。ファージというのは細菌や古細菌に感染するウイルスのことで人間の細胞には感染しません。正式にバクテリオファージと呼ぶと細菌 (バクテリア) を対象にするものとしてわかりやすいです。ウイルスは昔、素焼きの濾過器でろ過してもすり抜ける病原因子ということで濾過性病原体とも呼ばれたもので、とても小さな微生物です。結局、電子顕微鏡を使わないとはっきり形が見えませんが、いろいろな形があります。一般的には 100 ナノメートル前後 (1 mm の 1 万分の 1) のサイズで、SARS-CoV-2 は比較的丸い形をしています。普通は防塵マスクといった特殊な業務用マスクを使わないと侵入を抑制できないレベルのサイズとなります【図 1】。COVID-19 の対策としてマスク着用がありましたが、これはウイルス単体の通過をブロックするというより、ウイルスを含む唾液などの飛沫 (やや小さな飛沫核など) が、自分の鼻や口に入ること、あるいは感染者の周囲に飛び散ることを抑制



【図 1】一般的なウイルスの大きさのイメージ

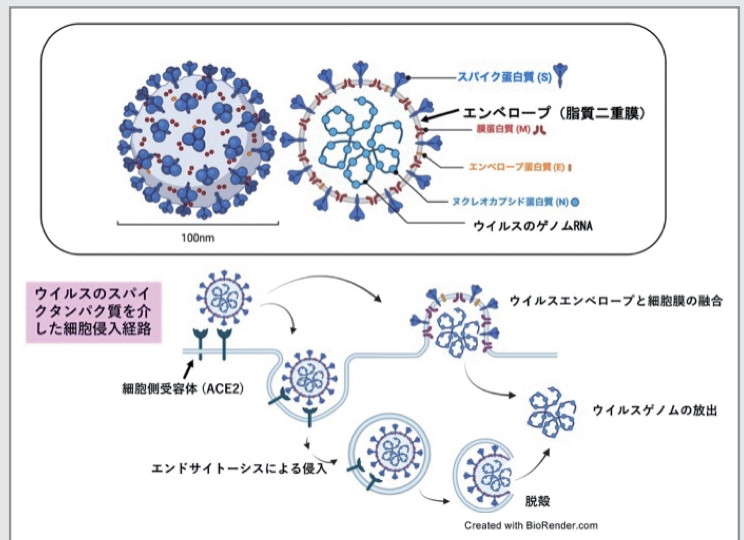
する効果が期待されているのかと思います。

また、ウイルスは細菌と違って自己増殖する能力がないので「生物ではない」などと教科書には書かれています。確かにその通りですが、ゲノムとしてDNAやRNAの核酸成分を持ち、感染細胞中で感染細胞内の様々な機能分子を利用して自分のゲノムや構造部品を産生して自分のコピー、子孫ウイルスを増やしていきます。ですから、ウイルスは細胞をハイジャックする、などと物騒な表現をされたりします。余談ですが、抗菌薬として使われる抗生物質（ペニシリンなど）は細菌特有の機能分子を薬理標的とするので、人の細胞内の機能分子を利用するウイルスの増殖を止めることはできません。ですから、いわゆるウイルス感染症に抗生物質を使うのは??であり、ウイルス増殖阻害以外の治療上の理由があるのでしょう。

■ SARS-CoV-2の構造とスパイクタンパク質

さて、ウイルスが感染細胞に吸着することで感染ステップが始まりますが、ウイルス構造が大きく関係するので、その概要を示します。SARS-CoV-2の場合、表面には主要なウイルス抗原として、スパイクタンパク質(S)、膜タンパク質(M)、エンベロープタンパク質(E)があります【図2上図】。これらはウイルスを包むエンベロープと呼ばれる脂質二重膜に刺さっています。ウイルスの中にはウイルスゲノムとしてRNAが入っていて、それはヌクレオカプシドタンパク質(N)と呼ばれるタンパク質に巻きついているような感じで格納されています。余談ですが、SARS-CoV-2が脂質二重膜、つまり油の膜に包まれていることから、例えば、COVID-19の手指消毒としてエタノール消毒が推奨されていましたがそれは理にかなったことだと分かります。70~80%程度の濃度のエタノール成分はSARS-CoV-2のエンベロープを効果的に破壊することができるからです。皆さんが普段使っているエタノール除菌剤の成分表を調べてください。きっとこれくらいの濃度のエタノールが含まれていると思います(エタノール濃度が低い場合は他の消毒成分が含まれているかもしれません)。

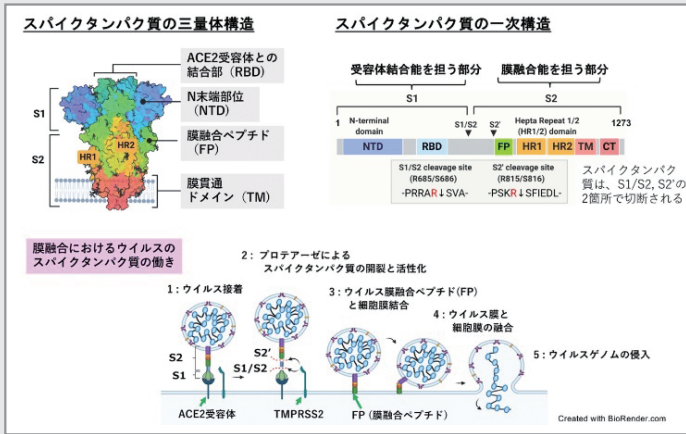
さて、このような構造を持つSARS-CoV-2ですが、感染標的細胞に吸着、結合するためには特別のメカニズムが必要になります。ウイルス表面側にはスパイクタンパク質があること、標的細胞表面にはスパイクタンパク質と結合する細胞側受容体(ACE2と呼ば



【図2】 SARS-CoV-2の構造と侵入経路

れる分子)が発現していることです。実際にウイルスが標的細胞に侵入するステップでは、ウイルス側のスパイクタンパク質と細胞側受容体ACE2という2つの分子が結合することでSARS-CoV-2は標的細胞に接着します。すると標的細胞のタイプに応じて2つの経路でウイルスが細胞と融合します【図2下図】。1つはエンドサイトーシスと呼ばれるメカニズムが動きます。詳細は省きますが、細胞膜に包まれるようにしてウイルスごと細胞内に移動し、そこでウイルスゲノムが細胞内に放出されます(脱殻と呼ばれるステップ)。もう1つはウイルスがそのまま細胞膜と融合してウイルスゲノムが細胞内に放出されます。SARS-CoV-2はこの2つの経路を巧みに利用して標的細胞に侵入するのです。このどちらの経路であってもウイルスを包む脂質二重膜であるエンベロープと細胞側に脂質二重膜である細胞膜が融合します。

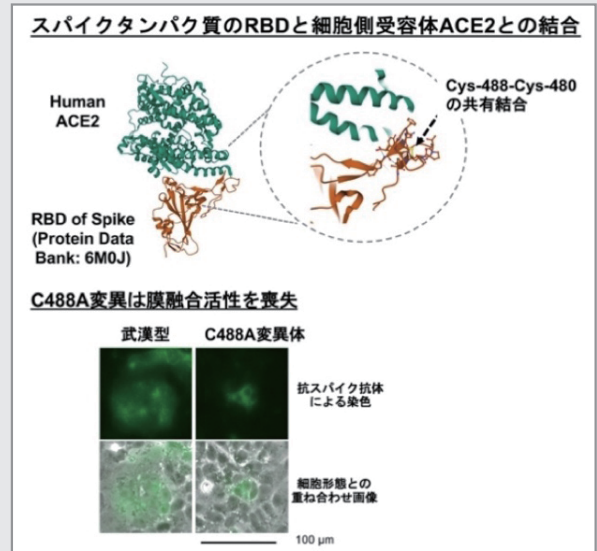
この感染初期のステップには、実はスパイクタンパク質のダイナミックな構造変換が働いていますので、スパイクタンパク質の構造の特徴を示します【図3】。他のコロナウイルス同様にSARS-CoV-2のスパイクタンパク質は、立体構造として3つ分がひと塊になった三量体を形成しています。細胞側受容体ACE2との結合に関わる外側の部分をS1部位と呼び、N末端部分(NTD: N-terminal domainの略)、細胞側受容体ACE2との結合部位(RBD: Receptor-binding domainの略)が含まれます。ウイルスのエンベロープと感染細胞の細胞膜との融合に働く部分をS2部位と呼び、細胞膜に突き刺さる膜融合ペプチド部位(FP: fusion peptideの略)、特徴的なアミノ酸配列を持つHR1/2(Hepta repeat 1/2の略)部位、膜貫通ドメイン(TM: Transmembraneの略)、カルボキシ末



【図3】 SARS-CoV-2のスパイクタンパク質と構造と膜融合メカニズム

端部位 (CT: C-terminal の略) が含まれます。スパイクタンパク質の一次構造からみると、スパイクタンパク質が機能する際には、S1とS2の境目、686番目のセリンの前とS2'と呼ばれる816番目のセリンの前の場所で特定の分解酵素(プロテアーゼと呼ばれるタンパク質)により切断される事が分かっています【図3上図】。ウイルス表面抗原が細胞側のプロテアーゼで切断されるという現象は他のウイルス、例えばインフルエンザウイルスでも見られる割とポピュラーなメカニズムですが、逆に言うと、S1/2やS2'部位で切断されない場合はスパイクタンパク質の機能が低下して、ウイルス感染が著しく低下することになります。プロテアーゼによるスパイクタンパク質の切断がどのように感染ステップに重要なかを【図3下図】に示します。まず、1: ウイルスのスパイクタンパク質とACE2と結合して接着します。2: 細胞表面のプロテアーゼ、例えばTMPRSS2 (Transmembrane protease serine 2の略) などによりスパイクタンパク質がS1/2あるいは2'部位で切断されます。3: 2'の場所で切断されるとスパイクタンパク質の膜融合ペプチド部分FPが露出し、それが細胞膜に結合します。4: するとスパイクタンパク質のS2部分が折れ曲がるような立体構造変化を起こして、ウイルスのエンベロープの膜と細胞膜が物理的に接近して融合します。5: 膜融合が起こった結果、ウイルスゲノムが細胞内に放出されます。このように、プロテアーゼによりスパイクタンパク質のFP部分が露出して、細胞膜に結合し、スパイクタンパク質のS2部位の立体構造変化がウイルスゲノムが細胞内に侵入することに必要であるということです。

ウイルス感染にプロテアーゼが重要だということですが、とにかく最初のステップではウイルスのスパイクタンパク質が細胞側受容体ACE2と結合すること



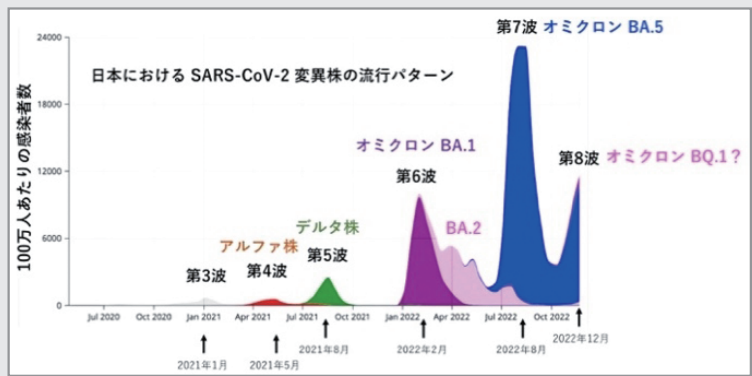
【図4】 SARS-CoV-2のスパイクタンパク質とACE2との結合 (Murae et al., *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 29; 597: 30-36より改変)

が必要であり、それぞれの分子の立体構造がとても重要です。例えば、S1部位のアミノ末端から480番目と488番目のシステインはお互いに共有結合(チオール結合)を形成してACE2との結合に大事な立体構造を維持しているのですが【図4上図】、我々の研究から、S1部位の488番目の位置にあるシステインを遺伝子工学的に改変してアラニンに変換した変異スパイクタンパク質では、ACE2との結合活性が低下して、スパイクタンパク質による膜融合活性が喪失することが明らかになりました【図4下写真】¹⁾。【図4】の下の写真では、緑色の細胞が大きくなっている(武漢型: 中国の武漢市で最初に分離されたタイプのSARS-CoV-2を武漢型などと呼びます)では細胞融合が起きていることを示しており、C488Aの変異型では緑色の細胞の大きさが小さいままで細胞融合が起きていることを表しています。これらの結果からも、細胞側受容体ACE2との結合を媒介するスパイクタンパク質のRBDの立体構造がいかに重要かがわかります。

■ 感染の流行とSARS-CoV-2変異株について

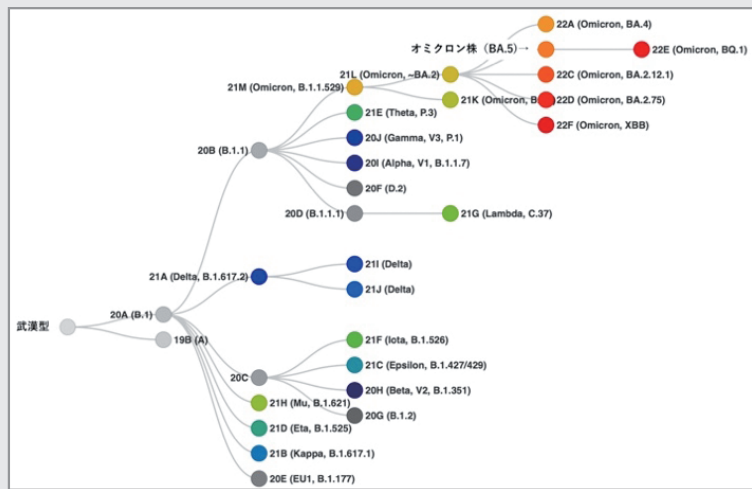
さて、新型コロナウイルス感染症(COVID-19: Coronavirus Diseases 2019の略)は2020年4月くらいから日本でも流行が顕在化しました。学校の卒業式や入学式が中止されたこともあるかと思いますが、皆さんご経験の通り、日本では2022年12月末に至るまでには7回、大流行の波がありました。どうして何度も流行が繰り返されるのでしょうか? 様々な

社会的な要因もあるでしょうが、その一つにウイルス側の変化が関わっていると考えられています。日本における COVID-19 流行の波を振り返ると、少なくとも第3波から第7波の各時期では原因ウイルスの遺伝子型が異なっていた事が分かっています。いわゆる変異株、とニュース等で説明されていた SARS-CoV-2 の遺伝子変異株がそれぞれの感染流行拡大の原因と思われる【図5】。



【図5】日本における SARS-CoV-2 変異株の流行
(<https://covariants.org/cases?country=Japan> より改変)

2021年1月頃の第4波の時はアルファ株が主流であり、2021年の8月頃の第5波の時はデルタ株、2022年に入ってから第6波ではオミクロン株が主ですがさらに細分化され、第7波ではオミクロン株の BA.5 という亜株が主流でした。それぞれの変異株は基本的には SARS-CoV-2 の遺伝子の特徴を持っていますが若干異なる遺伝子配列の場所があるので変異株と呼ばれます。デルタやオミクロンなどという分類は WHO が設定した呼称ですが、BA.5 というのは別の系統分類命名法 (PANGO 系統: <https://cov-sequences.org/>) から来ているものです。オミクロン株と定義したのから時間とともに更に少しずつ異なる遺伝子配列を持つものが多数発生してきたため、PANGO 系統の分類法を組み合わせで識別しているのです。変異株はそれぞれ全く独立して発生しているという訳ではなく、現在までの変異株の遺伝子配列の比較、進化系統樹を用いた解析ではそれぞれで連続的な変化が蓄積した結果のように見えます【図6】。中国の武漢市で分離された武漢型から始まって、現在のオミクロン株 BA.5 が繋がってさらにオミクロン株 BQ.1 へ変化が起きているようです。あるいは独立して発生しているのかもしれませんが、人の体の中で免疫を逃れるような能力をもたらす遺伝子変異を獲得した変異株が結果的に優位に残ってきたのかもしれませんが(淘汰?進化?)。実際の研究論文では、SARS-CoV-2 に感染した患者さんの体内から定期的に採取されたサンプル中を解析したところ、遺伝子変異が蓄積した変異株が生じている様子が報告されており、感染した人間が SARS-CoV-2 変異株発生のもととなっている可能性が示唆されます²⁾。



【図6】SARS-CoV-2 変異株の進化系統樹
(<https://ncov-clades-schema.vercel.app/> より改変)

ということですが、どのようにして変異が発生するのでしょうか？ 変異株はウイルスゲノムの遺伝子配列に変化が起きた結果ですので、それはウイルスゲノムの複製時に変異が起きているということです。SARS-CoV-2 はウイルスゲノムとして1本鎖 RNA を持ちますが、人のゲノムは2本鎖 DNA ですから実は様相が異なるのです。人のゲノム DNA の複製では、細胞内の DNA ポリメラーゼという酵素群が複合体を形成し、相補鎖 DNA を鋳型にして正確にコピーしていくというように教科書にも書かれていると思います。その場合でも誤って違う DNA 配列を合成することもあるのですが、人の細胞には修復酵素というものが機能して、2本鎖ゲノム DNA の片側、相補鎖の DNA 配列を正しい鋳型として参照しながら DNA 合成のエラーを直しているのです。変異の発生頻度自体は低く抑えられています(複製1回あたり10億塩基に1箇所程度の変異が生じる)。SARS-CoV-2 ではウイルスゲノム RNA を複製する酵素群は RNA ポリメラーゼ複合体というものですが、特別な修復酵素というものが別に存在するという事は無いようで RNA ポリメラーゼ

■ SARS-CoV-2 遺伝子変異

上述のような変異株では遺伝子配列が変わっている

複合体自体の修復能力は人の DNA ポリメラーゼ複合体よりも低いようです。さらに、ウイルスゲノム RNA が 1 本鎖ということですから、2 本鎖 DNA の場合のような正しい鋳型を参照して誤りを直すということが出来ませんので、どうしてもエラーが残りやすい状況となります（1 年あたり 1000 塩基に 1 箇所程度の変異が生じる。SARS-CoV-2 のゲノムは約 3 万塩基くらいの長さなので、年間 30 箇所くらい遺伝子変異が生じている計算になる）³⁾。従って、RNA ウイルスの場合、同じ名前であってもその集団の中では、既に一つ一つのウイルスゲノムの RNA 配列自体に多様性が生じていると考えます（viral quasi-species：ウイルスの多様性、クアジスピーシーズと呼ばれる）【図 7】³⁾。

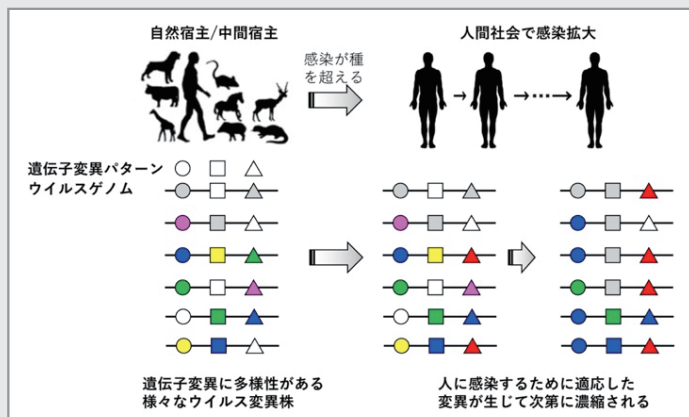
それが例えば、SARS-CoV-2 は元々キクガシラコウモリを自然宿主とすると考えられていますが、人間社会で感染拡大が進むと、人に感染するために有利な遺伝子変異を偶然持ったものがさらに優位に感染拡大する結果、特定の変異株が主流になるという現象が起こります。ですから、SARS-CoV-2 がグローバルに感染拡大が続いていけば、世界のどこかで新たな変異株が出現してさらなる感染拡大の波が継続的に発生するというのは十分に想像される話なのです。

■ スパイクタンパク質の遺伝子変異と流行

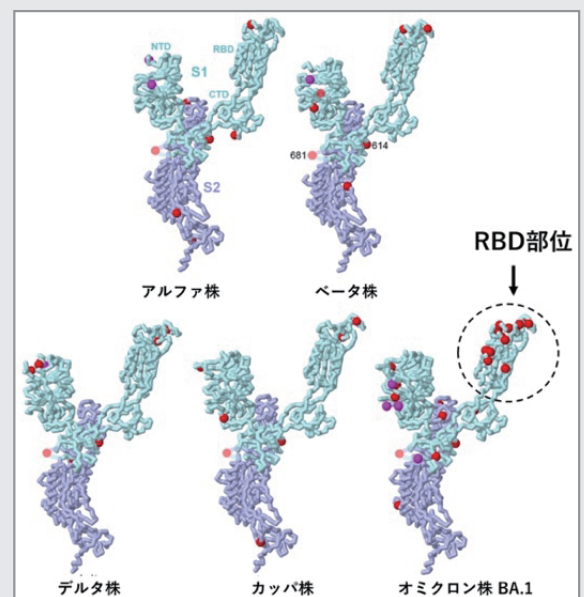
上述のウイルスゲノムの遺伝子変異の発生自体はある程度、ランダムに近い割合でゲノム上のあちこちに生じるかもしれませんが、しかし人の体内で感染しやすいように適応した変異パターンはある程度意味があるものが濃縮されると考えられ、それが変異株の特徴となっています。興味深いことに、このような変異株ではスパイクタンパク質に遺伝子変異が比較的高頻度で蓄積している事が分かっています。特に、細胞側受容

体 ACE2 と結合する S1 部位、さらに RBD 部位に多くの遺伝子変異、アミノ酸変異が集中しているように見えます【図 8】。

このようにアミノ酸変異が RBD 部分に集中するという事は、これらの変異がウイルスの増殖に有利な訳があるはずですが、通常、ウイルス増殖に有利に働くポイントとしては 3 つくらい考えられます。ウイルスの伝播性が上昇する、病毒性の変化（強くなる場合も弱くなる場合もある）、免疫逃避能の上昇、の 3 つです。伝播性というのは、ここでは人から人への感染の広がり易さのことで、広がり易い方がウイルスの生存戦略には有利です。病原性の変化というのは感染した患者さんがどれくらい重症になるかということですが、あまりに急性で毒性が強くなると感染宿主が犠牲になるので却って他に広がるチャンスが減ってしまいます。感染宿主が軽症や無症状でウイルス産生が維持できる、という状態の方がウイルスにとっては望ましいかもしれません。最後の免疫逃避能の上昇とは、普通の人々が感染してから回復すると病原体に対する特異性の高い免疫力を獲得します。この場合の免疫力とは、病原体と特異的に結合する抗体を産生する B 細胞（液性免疫）と感染細胞を除去するための特異的な T 細胞（細胞性免疫）です。詳細なメカニズムは大学で勉強していただければと思いますが、ウイルスが免疫逃避能を獲得するとは、獲得性の免疫系に捕まらないような姿に変化することです。スパイクタンパク質に変異が多く見られるというのは実はこの免疫逃避能の獲得に寄与しています。実際に感染から回復した患者さんの抗



【図 7】ウイルスの多様性（Viral Quasi-species）と遺伝子変異

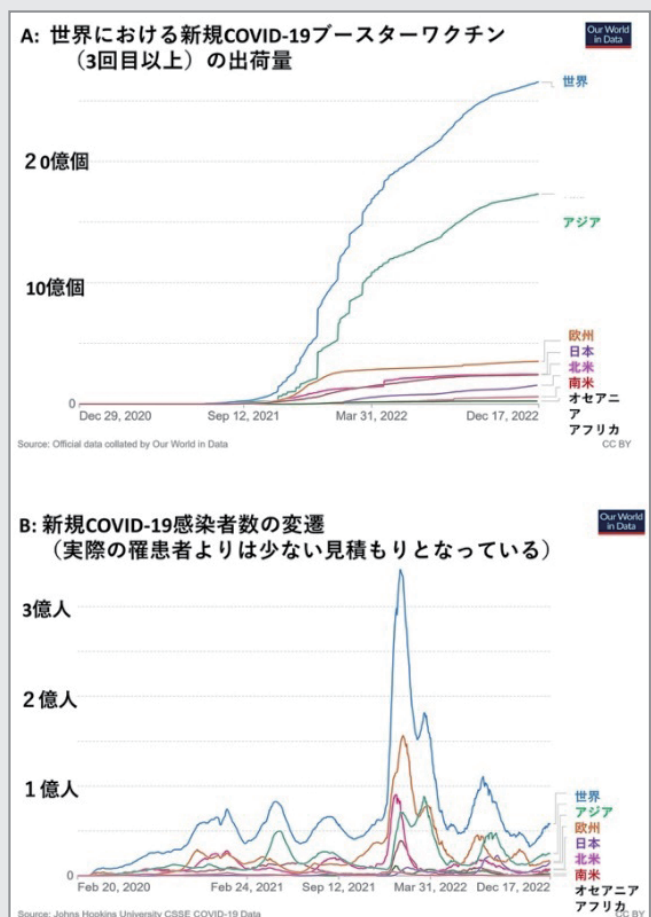


【図 8】変異株スパイクタンパク質 1 分子におけるアミノ酸変異部位（赤丸が武漢型と異なるアミノ酸配列）PDB-101 (<https://pdb101.rcsb.org/>) より参照

体で感染阻害活性を持つ抗体はスパイクタンパク質の RBD 部分に結合します。ところが、ウイルス側で RBD のアミノ酸配列を変えてしまうと患者さんの感染阻害活性を持つ抗体が結合できず、免疫力による感染阻害活性は低下します。その結果、変異ウイルスは再度感染することができるので、再び流行拡大が起これるということです。

ここで再度、世界における COVID-19 の感染者数を振りかえてみます。2022 年 12 月の時点では世界中で 6 億以上の人々が感染者として登録されていますが、2022 年の 3 月付近をピークとして落ち着いてきていることが分かります。世界では COVID-19 に対するワクチン開発と接種が進みましたが、何回か接種された方も多いと思います。我が国では最初 2 回接種とされていましたがそのうち 3, 4, 5 回目のブースター接種という単語が出てきました。ワクチンを打てば感染が収束するのになぜ流行が繰り返され、普通と異なり何度もワクチンを接種しないといけないのかと思ったかもしれません。この COVID-19 に対するワクチンは SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質を免疫原とするワクチンですが、残念ながら終生免疫（生涯続く免疫力）の効果はありません。先述のように免疫回避能を持つ変異株が流行したため効果が低下、そのため、変異株に対応した新規ワクチンが新たにブースターワクチンとして開発され、これを追加で接種しようということです。実際にブースターワクチンの出荷が進むのと交代するように感染者数は落ち着いてきたことが分かります【図 9】。

さて、免疫回避能を持った変異株は再度感染できると先ほど記載しましたので、いくらブースターワクチンを接種しても何度も変異株が出現して結局感染収束しないではないかと思った方もいるかと思えます。実際に変異株は感染阻害抗体（液性免疫）には抵抗性を示すのですが、実は細胞性の免疫力はまだまだ変異株にも対抗できると考えられています。ですから追加でワクチンを打つというのは細胞性免疫力を強化することにつながるのでは無駄ではないのです。ワクチンがない場合を想像すると、ある特定の病原体に何度もさらされるような環境では免疫力が刺激されて抵抗性を維持することができるので、ある程度の犠牲を伴うかもしれませんが、集団としては抵抗力を持つため感染が収まる方向になると期待されます。その時期が早いか遅いかは予測できませんが、変異株の出現による感染拡大の波は無限に続くのではなく、また消失することは難しいですが落ち着いてくると予想されます。いわ



【図 9】世界における新規 COVID-19 ブースターワクチン (3 回目以上) の出荷量 (A) と、新規 COVID-19 感染者数の変遷 (B) Our World in Data より改変 (<https://ourworldindata.org/>)

ゆる季節性のインフルエンザのように、新型コロナウイルスも変異株出現プロファイルをグローバルに監視し、流行株に対する追加ワクチンを順次開発していけば、落ち着いて対処できる時代が来ると期待されます。

今回、新型コロナウイルスの特徴の一部を科学的な観点から紹介しましたが、人間社会の活動維持のために病原体の正体と特性を科学的に分析し、感染症制圧のための戦いを挑む多くの研究者が、日夜研究を続けていることに気が付いていただければ幸いです。

参考文献

- 1) Murae M, 他. The function of SARS-CoV-2 spike protein is impaired by disulfide-bond disruption with mutation at cysteine-488 and by thiol-reactive N-acetyl-cysteine and glutathione. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 29; 597: 30-36.
- 2) Choi B, 他. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3; 383 (23): 2291-2293.
- 3) Domingo E, García-Crespo C, Perales C. Historical Perspective on the Discovery of the Quasispecies Concept. *Annu Rev Virol.* 2021 Sep 29; 8 (1): 51-72.