

## 【第59回 小島三郎記念文化賞】

## 新型コロナウイルス変異株の特性の解明

さとう けい  
佐藤 佳  
Kei SATO

## I. G2P-Japanとは

G2P-Japan とは、2021 年 1 月に筆者が発起人として主宰する、国内の若手研究者有志を中心とする研究コンソーシアムである (図 1)。ここではまず、G2P-Japan の活動内容と、役割分担について概説する。まず、「G2P」とは「Genotype to Phenotype」の略であり、直訳すると「遺伝型から表現型へ」を意味する。ここでの「Genotype (遺伝型)」とは、変異を獲得し、進化を続ける新型コロナウイルスの変異株のことである。ウイルス遺伝子の次世代シーケンス解析によって、変異株が持つ遺伝子変異を迅速につまびらかにすることは可能となっている。しかし、どのような変異をもっているウイルスであるかということがわかり、そのウイルスに名前が付されたとしても、その変異株がもつ変異がウイルスの「Phenotype (表現型)」にどのような影響を与えるのかについては、ウイルスの遺伝子配列からだけでは明らかにすることはできない。つまり、現在の

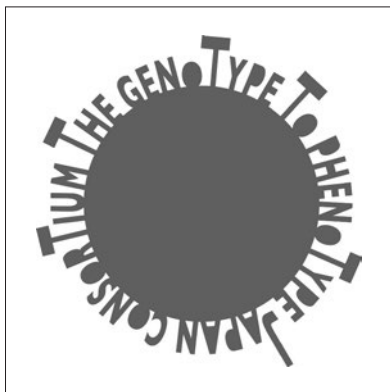


図 1 研究コンソーシアム「G2P-Japan」のロゴ

G2P-Japan の活動とは、新たに出現した新型コロナウイルス変異株の「Phenotype (表現型)」を迅速に解明することを目的とした研究活動である、と言い換えることができる。

それでは、ここでの「Phenotype (表現型)」とはなにか? 約 3 年間のコンソーシアム研究を通し、筆者は、迅速に解明すべき「Phenotype (表現型)」とは、新たな変異株の「伝播力 (どのくらい流行しやすいのか?)」、「免疫や薬剤からの逃避力 (ワクチン接種で獲得した中和抗体や治療薬は効くのか?)」、そして、「病原性 (重症化リスクは高いのか?)」の 3 点に集約されることに気づき、これらをリアルタイムに解明することに努めてきた。2021 年 1 月に開始した、G2P-Japan としてのコンソーシアム研究活動によって報告した学術論文の数は、2023 年 12 月半ばの時点で 30 を数える。出現が続く変異株の性状解明を主たる目的とした研究としては、これまで、イプシロン株<sup>1)</sup>、デルタ株<sup>2,3)</sup>、ラムダ株<sup>4)</sup>、ミュー株<sup>5,6)</sup>、オミクロン BA.1 株<sup>7,8)</sup>、オミクロン BA.2 株<sup>9)</sup>、オミクロン BA.5 株<sup>10,11)</sup>、そしてオミクロン BA.2.75 株<sup>12)</sup> などウイルス学的な性状を世界に先駆けて解明し、それらをリアルタイムに社会に発信してきた。

## II. G2P-Japanの論文ができるまで

2023 年 12 月現在の、G2P-Japan の活動の流れと主な役割分担について紹介する。まず、筆者の研究室に在籍する伊東潤平助教は、世界中から報告される新型コロナウイルスのゲノム情報を常時モニタリングしている (ちなみに、今夏以降、サーベイラン

ス体制が世界的に脆弱になりつつあり、データベースに登録されるウイルスの情報も疎くなりつつあることは、今後の課題のひとつである)。伊東は、このビッグデータを自動解析するシステムを開発した。これにより、現在主流の流行株(2022年11月現在でのオミクロン BA.5 株)よりも伝播力が高い(科学的には、「実行再生産数が相対的に大きい」が正しい)株を早期に捕捉することに努めている。伊東が開発したシステムの導入により、オミクロン BA.2 株<sup>9)</sup>、オミクロン BA.5 株<sup>10,11)</sup>、そして、次のリスクある株として、オミクロン BA.2.75 株<sup>12)</sup>の世界最速での捕捉に成功している。伊東が新たな変異株を捕捉したタイミングが、G2P-Japan の研究活動のトリガーとなる。これを号砲にまず、Slack でコンソーシアムメンバーに情報が共有される。近い日程で時間を調整し、Zoom で意志共有のためのミーティングがなされる。

コンソーシアムとして取り組む意志が共有された時点で、当研究室において、その変異株のウイルスゲノム配列にもとづいた人工ウイルスの作出が開始される。そのようにして作出された実験材料が、国内の研究チームに分配される。ある変異株の研究の時の分担について例示すると、当研究室と齊藤暁准教授の研究チーム(宮崎大学)などで、新たな変異株に対して、ワクチン接種者の血清や、過去の流行株に感染した人の血清に含まれる中和抗体が効果的であるかどうかの検証実験を行う(ワクチン接種者の血清は主に、京都大学の高折晃史教授、白川康太郎助教らの研究グループより、また、感染者の血清は主に、インターパーク倉持呼吸器内科の倉持仁院長より迅速に提供される)。池田輝政准教授の研究チーム(熊本大学)では、新たな変異株のスパイクタンパク質の融合活性を測定する(後述するが、G2P-Japan のこれまでの研究によって、スパイクタンパク質の融合活性は、ウイルスの病原性と密接な関わりがあることを見出している)。上記の研究チームに加え、入江崇准教授の研究チーム(広島大学)や、高山和雄講師の研究チーム(京都大学 iPS 細胞研究所)では、さまざまな培養細胞やオルガノイドを用いたウイルス増殖試験が並行して実施される。橋口隆生教授の研究チーム(京都大学医生物学研究所)では、新たな変異株のスパイクタンパク質の構造が解読される。これによって、新たな変異株がどのよ

うにして中和抗体に対する抵抗性を示すのか、どのようにして融合活性を変化させるのか、などについての考察が可能となる。そして、福原崇介教授(北海道大学)、田中伸哉教授(北海道大学)、松野啓太准教授(北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所)らの北大の研究チームで、ハムスターを用いた実験動物感染試験が実施され、新たな変異株の病原性が評価される。上記のすべての研究は、伊東による新たな変異株の捕捉から約1~2カ月で完了される。これらの新たな変異株の「Phenotype(表現型)」、すなわち、「伝播力」、「免疫や薬剤からの逃避力」、「病原性」などの情報をすべてひとつの論文に集約し、新たな変異株の「表現型」として、プレプリント(査読付き学術雑誌)に投稿する。プレプリントが公開されると、その内容の概説文と共に X(旧 Twitter) で公表し、新たな変異株の性質に関する科学的知見を社会に発信する。これが、私が主宰する G2P-Japan コンソーシアムが編み出した、リアルタイムなウイルス学研究の内実である。

### Ⅲ. 変異と病原性

本稿では特に、デルタ株<sup>3)</sup>とオミクロン BA.1 株<sup>8)</sup>の研究から明らかになってきた、新型コロナウイルスの病原性を規定する因子についての知見を紹介したい。これまでの筆者らの研究によって、ウイルスの「病原性」と「融合活性」、そして、「スパイクタンパク質の開裂効率」という3つのパラメーターに関連があることが明らかとなりつつある(図2)。図2に示す通り、従来株(中国・武漢で最初に発見されたウイルスが、スパイクタンパク質に D614G という変異を獲得して世界中に広がったもの。系統的には B.1 あるいは B.1.1 と表記される)に比して、デルタ株はすべてのパラメーターが大きく、オミクロン BA.1 株はすべてのパラメーターが小さい。

まず、スパイクタンパク質の開裂効率であるが、新型コロナウイルスのスパイクタンパク質は、ウイルス産生細胞において、furin という細胞由来のプロテアーゼによって切断され、S1 と S2 という2つのサブユニットに分割される。Furin によって切断を受けるアミノ酸配列は furin cleavage site と称されるが、きわめて興味深いことに、この配列は、新型コロナウイルスや SARS ウイルス、そして、近縁

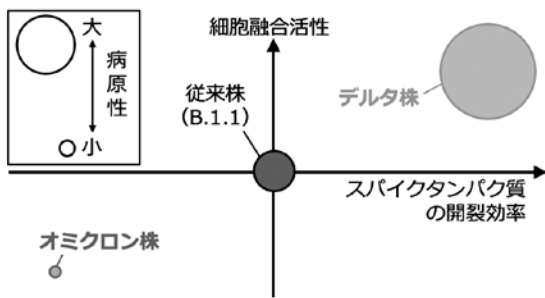


図2 従来株、デルタ株、オミクロン株のウイルス学的特徴のまとめ

スパイクタンパク質の開裂効率をx軸に、スパイクタンパク質の融合活性をy軸に、そして、ハムスターモデルにおけるウイルスの病原性を丸の大小で示した。これまでの筆者らの研究(ref)により、従来株に比して、デルタ株はこれら3つのパラメーターがすべて大きく、オミクロン株はすべて小さいことが明らかとなっている。

の動物由来のコロナウイルスの中で、新型コロナウイルスだけが持つ配列である(ちなみにこのことが、いまだに根強い「新型コロナウイルス人工説」の一因となっている)。従来株(parental)に比べ、デルタ株のスパイクタンパク質は開裂されやすく、S2サブユニットの割合が大きくなる。これは、*furin* cleavage siteに存在する、デルタ株が持つP681Rというたった1つの変異によって期待されていることが、筆者らの研究によって明らかにされている。他方、オミクロンBA.1株は、*furin*による開裂を受けづらい。これは、*furin* cleavage siteへの変異によるものではなく、スパイクタンパク質全体の構造変換によるものであると考えられている。オミクロン株のスパイクタンパク質は、従来株のそれに比べ、30近い変異を有している。そのため、スパイクタンパク質全体の構造が変換され、またそれによって、ワクチン2回接種によって獲得した中和抗体や、ロナプリーブなどの中和抗体製剤が無効化してしまった<sup>7)</sup>。

スパイクタンパク質に蓄積した変異は、中和抗体からの逃避だけではなく、スパイクタンパク質そのものの機能にも影響する。その1つが、スパイクタンパク質の融合活性である。ウイルス表面に突起するスパイクタンパク質は、受容体ACE2との「鍵と鍵穴」の関係によって、細胞へ侵入するための「鍵」としての役割を果たす。ウイルスに感染した細胞は、新たなウイルス粒子を産生させるために、細胞の中でさまざまなウイルスのタンパク質を合成する。そこで合成されたスパイクタンパク質の一部は、感染細胞の表面に運ばれ、それ自身が、感染細胞の表面

で「鍵」として機能する。それによって、近傍に存在する、まだウイルスに感染していない細胞のACE2を鍵穴として利用し、それぞれの細胞がくっついて1つの細胞になってしまう。このような、ウイルス感染細胞表面のスパイクタンパク質と感染していない細胞表面のACE2を介した反応のことを「融合」と呼ぶ。この融合活性は、感染細胞を模した、スパイクタンパク質を発現した細胞と、ACE2を発現した細胞それぞれに、*split luciferase*を発現させた細胞を共培養することで測定することが可能である<sup>13)</sup>。すなわち、それぞれの細胞が融合することにより、それぞれの*split luciferase*が結合し、ルシフェラーゼとしての活性を示す。この活性を測定することにより、スパイクタンパク質の融合活性を測定することができる。従来株(parental)のスパイクタンパク質に比べ、デルタ株のスパイクタンパク質の融合活性は顕著に高く、オミクロンBA.1株のそれは顕著に低い。この差異は、ウイルスに感染したVeroE6/TMPRSS2細胞の免疫染色でも確認することができる。

そして最後に、それぞれの変異株の病原性を、ハムスターを用いて評価した結果を図3に示す。従来株(B.1.1)、デルタ株、オミクロンBA.1株それぞれをハムスターに経鼻接種した後の、体重、2つの呼吸機能(PenhとRpef)<sup>注</sup>、血中酸素飽和濃度(SpO2)を測定した。その結果、従来株とデルタ株においては、顕著な体重減少と呼吸機能の異常、および、血中酸素飽和濃度の低下が認められた(図3)<sup>8)</sup>。その中でも特に、デルタ株と従来株を比較すると、体重減少はデルタ株の方が大きく、またPenh値の上昇はデルタ株の方が顕著であった(図3)。これらの結果は、従来株よりもデルタ株の方が病原性が高いことを示唆している。他方、オミクロンBA.1株の場合、体重減少はほとんど見られず、呼吸機能値や血中酸素飽和濃度にも変化は見られなかった(図3)。以上の結果は、変異株によって病原性に顕著な差異があること、そしてそれが、培養細胞実験におけるスパイクタンパク質の融合活性と開裂効率と関連があることを意味している(図2)。

注 Penh: Enhanced Pause  
気道抵抗の間接的指標  
Rpef: the ratio of time to peak expiratory flow relative to the total expiratory time  
総呼気時間に対する呼気流量ピークまでの時間の比



それでは、これら3つのパラメーターがなぜ関連するのか？筆者は、それが図4<sup>8)</sup>のデータによって説明がつくと考えている。図4は、感染後1,3日目のハムスターの肺門部の細気管支を輪切りにし、新型コロナウイルスのNタンパク質を免疫組織化学染色した結果である。感染後1日目においては、どの株に感染したハムスターであっても大きな差異はなく、どれも細気管支の上皮細胞に感染している。それが、感染後3日目の様相は、変異株ごとに劇的に異なる。デルタ株の場合、その高い融合活性によって、上皮細胞という「バリア」は破壊される。そして、上皮細胞の裏側にある肺の実質細胞との細胞融

合によって感染が山火事のように広がっている様子が確認できる。デルタ株の場合、山火事のように広がる感染が最終的には肺全体に広がることによって、肺が炎症を起こし、肺炎・重症化に至るものと考えられる。すなわち、肺におけるデルタ株の効率的な感染拡大、および、最初に感染する気管支の上皮細胞の破壊というステップに、高い融合活性が寄与していることが想定される。他方、オミクロンBA.1株の場合には、スパイクタンパク質の融合活性が顕著に低く、上皮細胞というバリアを物理的に破壊することができない。そのため、細胞融合によって肺実質への感染拡大を成し遂げることができず、

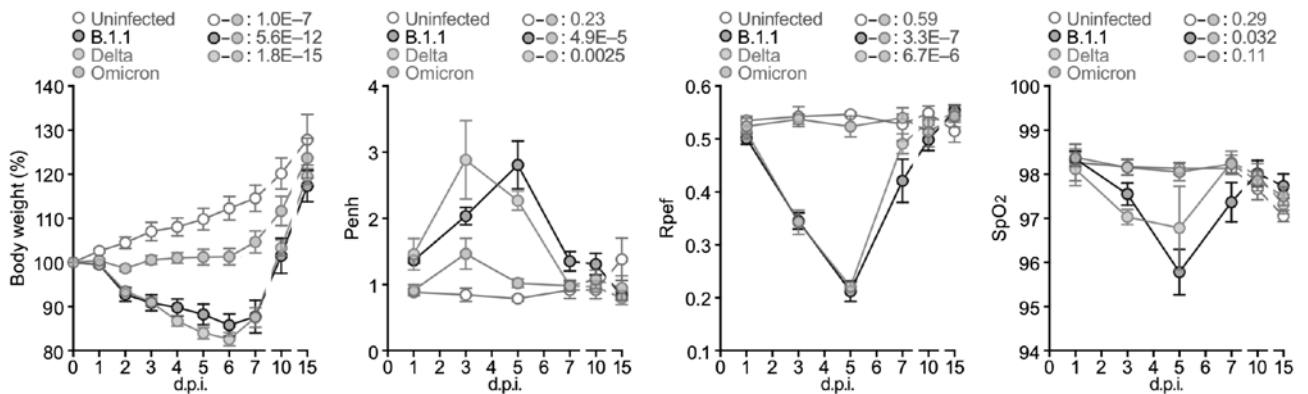


図3 従来株、デルタ株、オミクロン株の病原性

従来株(図中B.1.1)、デルタ株、オミクロンBA.1株(10,000 TCID<sub>50</sub>/ハムスター)をそれぞれ6匹のハムスターに経鼻接種し、感染後の体重、呼吸機能指標(PenhとRpef)、酸素飽和濃度(図中SpO<sub>2</sub>)を経時的に評価した。統計検定は、時系列データの重回帰解析により実施し、Holm法で算出したFamilywise Error Rate (FWER)を、図中赤字で示した。

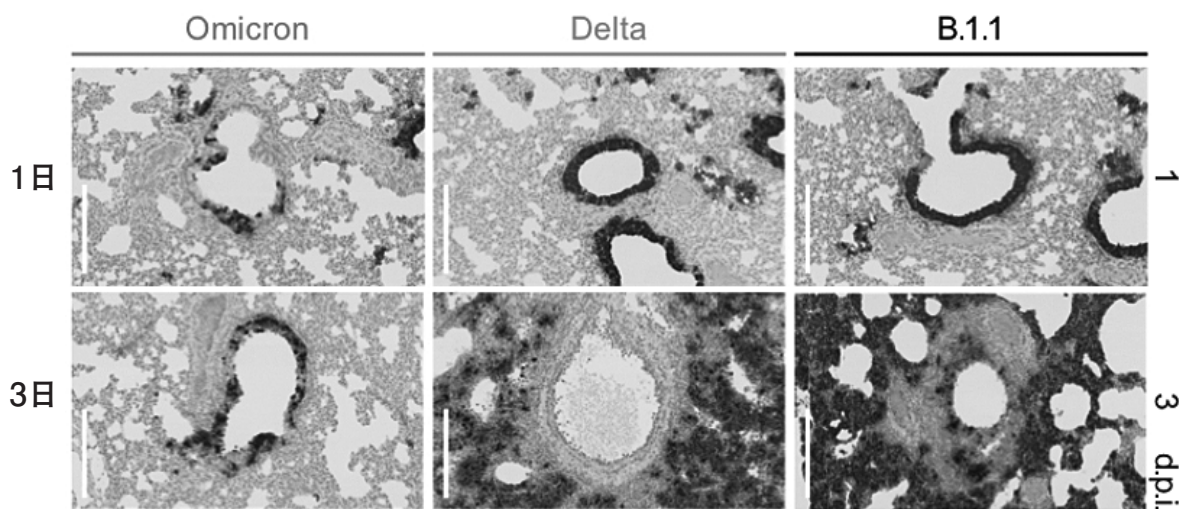


図4 従来株、デルタ株、オミクロン株に感染したハムスターの肺における感染細胞の分布

感染後1日(上図)、3日(下図)における感染細胞の分布を、新型コロナウイルスのヌクレオプロテインに対する抗体を用いた免疫組織化学染色により評価した。図中茶色の細胞が、新型コロナウイルスのヌクレオプロテイン陽性の細胞を意味する。肺門部の細気管支を輪切りにした組織像を示す。スケールバー、250  $\mu$ m。

(図3,4は巻末にカラーで掲載しています)

感染が上皮細胞で留まってしまうことから、オミクロン BA.1 株の感染は軽症で済むものと思われる。

それでは、オミクロン株はなぜ高い伝播力を示すことができたのか？それについても、図 4 の結果で一部説明することができると考えている。オミクロン BA.1 株は、他の株と同様に、気管支の上皮細胞に感染する。しかし、細胞融合力が弱いために、感染細胞は融合せず、そのままの状態に留まる。そうすると、ウイルスの感染は、感染後 3 日の時点においても、気管支の上皮細胞に留まり続けることとなる（図 4）。ここで重要なのは、図 4 右下のパネル中央の空白は、気管支の管腔である、という点である。すなわち、呼気が行き来する気管支そのものに、数日以上もの間、ウイルスに感染した細胞が留まり続けることを意味する。そうすると、行き来する呼気に直接ウイルス粒子が放出されるため、呼気に含まれる感染性のウイルス粒子の量が相対的に多くなる。このことにより、オミクロン BA.1 株は、高い伝播力を獲得することが可能となったのではないかと考えている。デルタ株は、高い細胞融合力を獲得することで、上皮細胞を破壊し、肺のより奥深くまで感染を広げる術を獲得することによって伝播力を向上させたのとは対照的に、オミクロン BA.1 株は、肺の内部に入り込まず、気道上皮細胞という表層に感染を留めることで、ヒトからヒトへ伝播するような能力に特化するよう進化した点が、ウイルス学的観点からは非常に興味深い。

#### IV. 今後の展望

続々と出現する新型コロナ変異株の病原性を評価するにあたり、現実世界においては、大多数の人がワクチン接種を完了しており、新型コロナに対する免疫を獲得している状況にある。他方、研究に使用するハムスターを含めた実験動物は新型コロナに対する免疫を持っていないため、現実世界の状況が十分にモデルできていない状況にある。現実世界の状況をモデルした病原性試験の実施のためには、実験動物であるハムスターにワクチンを接種し、新型コロナに対する免疫を賦与した実験動物を作出する必要がある。そして、次の新型コロナ変異株が出現した際に、現実世界の状況をモデルした実験動物を用いた病原性試験を実施するためには、新型コロナワ

クチン接種ハムスター作出し、即応できるようそれを維持する必要があると考えている。

WHO（世界保健機関）は、2023 年 5 月 5 日に、COVID-19 の「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」の宣言を終了した。時ほぼ同じくして、同年 5 月 8 日、日本政府は COVID-19 を感染症 5 類に移行した。つまり、新型コロナは世界から消えていないが、「コロナ禍」は終わりを迎つつある。そして、コロナ禍の終わりは、公的資金による研究支援の終わりの始まりとも言える。最近、国内外の研究者と会った際、通り一遍の挨拶が終わった後に、どちらからともなく決まって口をつく質問がある。「いつまで新型コロナの研究を続けるつもり？」というものだ。

これには、研究資金の打ち止めによって研究を止めざるを得ない、パンデミックの終わりで話題性もなくなったので撤退など、いろいろな事情がある。そして、自身が元々専門としているウイルスの研究に回帰する・したい、という意味合いもある。筆者はまだしばらく新型コロナに関わる研究領域に身を置き、これからも研究を進めていきたいと考えている。

すこし話は反れるが、その理由についてすこし述べる。「パンデミックへの備え」が世界的にもっとも充実しているウイルスは、（高病原性鳥）インフルエンザウイルスである。インフルエンザの場合、頑健な研究体制・手法、国際連携の基盤がすでに構築されている。他方、コロナウイルス研究にそれらが欠けていたことは、今回の新型コロナパンデミックからも明らかである。しかし、ここで留意すべきは、今回のパンデミックが、コロナウイルスによる初めての感染症有事ではなかった、という点にある。21 世紀に入り、SARS, MERS という国際的な感染症有事が 2 度も起きていたにも関わらず、これらの事態が、インフルエンザのような研究体制の整備に資さなかった、という事実には目を向けるべきであり、今後の教訓とすべきものであると考える。しかし、上述のように、パンデミックの中で新型コロナ研究に奔走していた研究者たちが、パンデミック収束に伴う予算縮小の煽りを受けて、その研究を終了しようとしている、そしてそのような動向は、国内外で共通である、という事実がある。すなわち、これだけの惨事をもたらしたにもかかわらず、過去の同じ轍を踏み、今回のパンデミックの教訓が次の

「パンデミックへの備え」に活かされないことはきわめて憂慮すべきであり、またきわめて懸念される事態であると言える。研究支援の終了に伴う研究者人口の減少は、それを助長するものである。

「パンデミックとたたかう」ために同じ方向を向いて奮闘した3年間の経験が無駄にしないためにも、これからは、ウイルス学の基礎研究に限ることなく、臨床研究や疫学、社会学、サイエンスコミュニケーションのあり方など、「新型コロナ」をキーワードとして、より広く深く、連携を発展させていく必要があると考えている。

最後に、次のパンデミックに備えるためには、今回の経験値が絶対に必要である。次のパンデミックまで、ウイルス研究が下火にならないように、ウイルス学、感染症学を盛り上げていくために。それが、これからの私のこれからの使命だと思っている。

## 謝 辞

このたびは、栄えある本賞にご推挙いただきました、東京大学医科学研究所の中西真所長、および、祝辞を述べていただきました、同研究所の川口寧副所長に、改めまして深く感謝申し上げます。

また、この度の受賞にかかわる研究に関係するすべてのみなさまに、この場をお借りして感謝申し上げます。特に、私の研究室に所属し、日々研究に勤しむ研究室員の皆様、そして、2021年1月の発足以来、一緒に走り続けてきた研究コンソーシアム「The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan)」の皆様には、これまでのご指導ご協力に心より深謝いたします。

## 文 献

- 1) Motozono C, Toyoda M, Zahradnik J, et al. SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host Microbe* 2021; **29**(7): 1124-1136.
- 2) Mlcochova P, Kemp SA, Dhar MS, et al. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature* 2021; **599**(7883): 114-119.
- 3) Saito A, Irie T, Suzuki R, et al. Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation. *Nature* 2022; **602**(7896): 300-306.
- 4) Kimura I, Kosugi Y, Wu J, et al. The SARS-CoV-2 Lambda variant exhibits enhanced infectivity and immune resistance. *Cell Rep* 2022; **38**(2): 110218.
- 5) Uriu K, Kimura I, Shirakawa K, et al. Neutralization of the SARS-CoV-2 Mu variant by convalescent and vaccine serum. *N Engl J Med* 2021; **385**(25): 2397-2399.
- 6) Uriu K, Cardenas P, Munoz E, et al. Characterization of the immune resistance of SARS-CoV-2 Mu variant and the robust immunity induced by Mu infection. *J Infect Dis* 2022.
- 7) Meng B, Abdullahi A, Ferreira IATM, et al. Altered TM-PRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts tropism and fusogenicity. *Nature* 2022.
- 8) Suzuki R, Yamasoba D, Kimura I, et al. Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant. *Nature* 2022.  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- 9) Yamasoba D, Kimura I, Nasser H, et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 spike. *Cell* 2022.
- 10) Yamasoba D, Kosugi Y, Kimura I, et al. Neutralisation sensitivity of SARS-CoV-2 omicron subvariants to therapeutic monoclonal antibodies. *Lancet Infect Dis* 2022; **22**(7): 942-943.
- 11) Kimura I, Yamasoba D, Tamura T, et al. Virological characteristics of the novel SARS-CoV-2 Omicron variants including BA.4 and BA.5. *Cell* 2022; in press: doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.018>.
- 12) Saito A, Tamura T, Zahradnik J, et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75 variant. *Cell Host Microbe* 2022; in press.
- 13) Nasser H, Shimizu R, Ito J, et al. Monitoring fusion kinetics of viral and target cell membranes in living cells using a SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion assay. *STAR Protocols* 2022; in press: doi: <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101773>.
- 1) Motozono C, Toyoda M, Zahradnik J, et al. SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and in-



【第59回 小島三郎記念文化賞】

「新型コロナウイルス変異株の特性の解明」

佐藤 佳

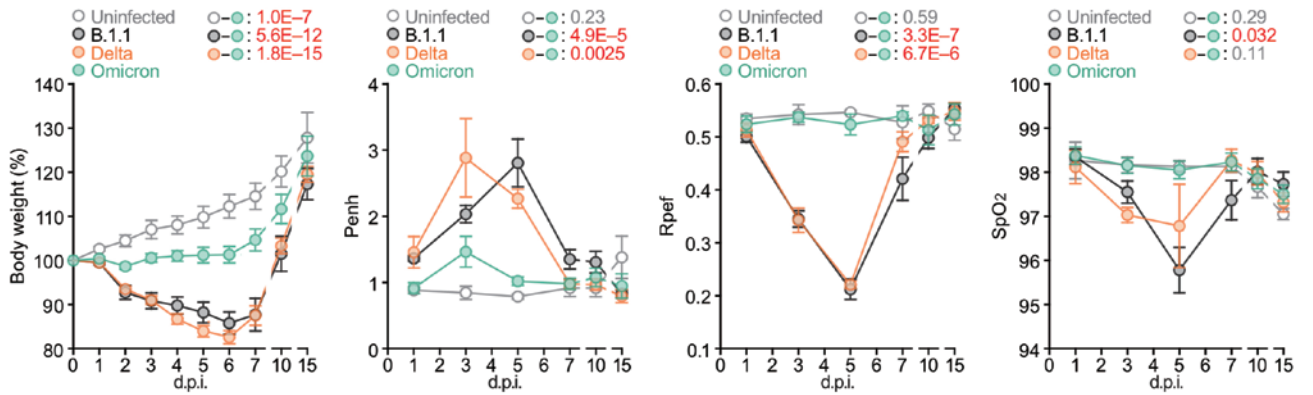


図3 従来株、デルタ株、オミクロン株の病原性

従来株 (図中B.1.1)、デルタ株、オミクロンBA.1株 (10,000 TCID50/hamster) をそれぞれ6匹のhamsterに経鼻接種し、感染後の体重、呼吸機能指標 (PenhとRpef)、酸素飽和濃度 (図中SpO2) を経時的に評価した。統計検定は、時系列データの重回帰解析により実施し、Holm法で算出したFamilywise Error Rate (FWER) を、図中赤字で示した。

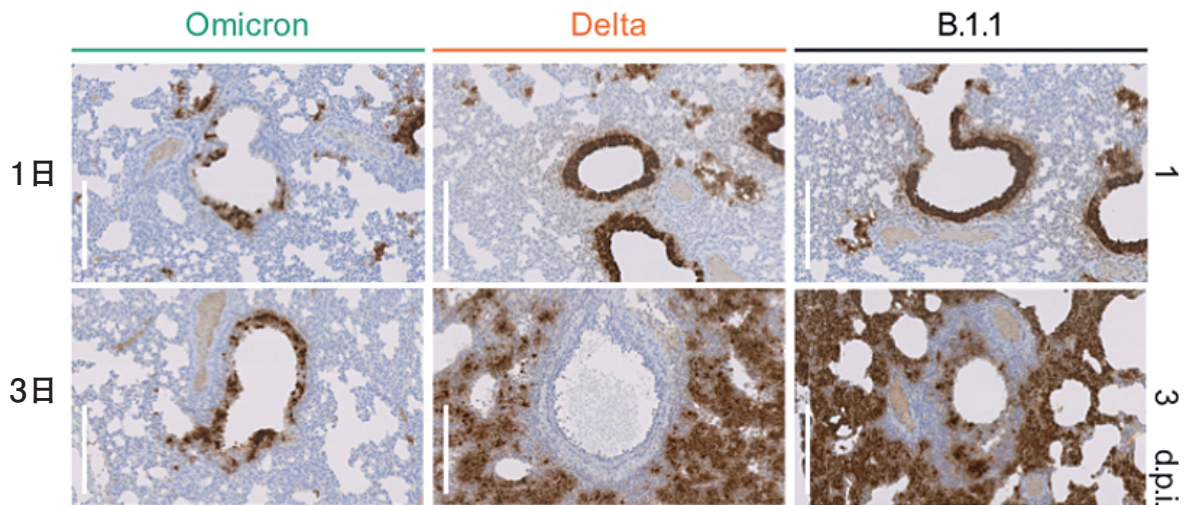


図4 従来株、デルタ株、オミクロン株に感染したhamsterの肺における感染細胞の分布

感染後1日 (上図)、3日 (下図) における感染細胞の分布を、新型コロナウイルスのヌクレオプロテインに対する抗体を用いた免疫組織化学染色により評価した。図中茶色の細胞が、新型コロナウイルスのヌクレオプロテイン陽性の細胞を意味する。肺門部の細気管支を輪切りにした組織像を示す。スケールバー、250  $\mu\text{m}$ 。