

課題番号 8

# 新型コロナウイルス変異における免疫的变化の研究

[1] 組織

代表者：小菅 将斗

(東北大学大学院薬学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

斉藤 芳郎 (東北大学大学院薬学研究科)

研究費：物件費 50 万円

[2] 研究経過

世界に蔓延している新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、世界の人々を不安に陥れている。現在、新型コロナウイルス感染の検出には、ウイルス遺伝子を検出するリアルタイム PCR 法がなされており、診断法として効果を挙げているものの、検出作業の煩雑さや判定までの時間がかかるなど問題点も少なくない。日本でも、再流行の可能性も否定できず、複数の診断法の確立が急がれている。抗原検査や抗体検査は、迅速に診断できるという利点があるが、現在精度にばらつきがあること、ウイルスが変異した場合偽陰性となることが問題である。今後、ワクチンの有効性や、感染歴のある患者の再感染の可能性を評価するシステムの構築が必要となると考えられる。すなわち、現在の抗原検査や抗体検査は改良が必要であり、変異に対応できる診断法の開発が求められている。そのためには、新型コロナウイルスの変異の頻度や特徴の研究、および、その変異が与える宿主側の変化についての研究が必要となる。

そこで、新型コロナウイルスのゲノム情報を抽出してその変異を調べ変異の特徴を明らかにして、変異によって引き起こされる免疫反応を解析することを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を示す。

本年度は、新型コロナウイルスによる研究自粛期間もあったことから、自粛期間は e-mail や電話、web ミーティングを活用して1週間に1度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。研究自粛の解除後は、加齢医学

研究所にて実験を遂行した。当初、研究の遅れも危惧されたが、自粛解除に伴い研究を効率的に行ったため当初計画どおり進めることが出来た。

図1 研究の概要1

## SARS-CoV-2ゲノム解析

GISAIDより世界のウイルスゲノム  
約7000遺伝子を収集



武漢型をもとに系統樹作成



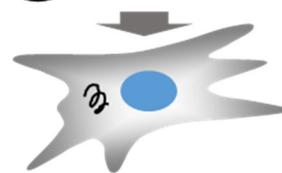
遺伝子変異の可視化

まず、世界のウイルスゲノム情報を収集し、系統樹を作成する。そして、ウイルス遺伝子変異を可視化しその特徴を解析する (図1)。

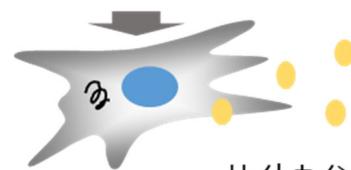
次に、変異の特徴を明らかにした場合、その特徴塩基配列について、RNA の人工合成を行い、疑似感染モデルを用いて、サイトカイン産生能を評価する (図2)。

図2 研究の概要2  
疑似感染モデルによる  
サイトカイン産生

② 人工合成ウイルスRNA



人工合成ウイルスRNAを細胞内に入れる



サイトカイン産生

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

##### 1) 新型コロナウイルスゲノムの変異の検出

病原体の進化を追跡する公共データベース GISAID より、世界の SARS-CoV-2 ゲノム情報を抽出した。ゲノム抽出の規模としては、約 8000 ゲノムを抽出して、これらゲノム情報から、武漢型をもとに系統樹を作成し変異を検出するプログラムも作成して、遺伝子変異を可視化した。

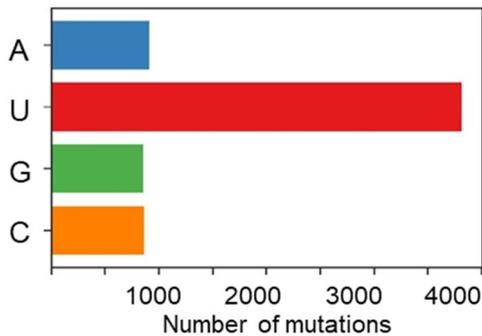


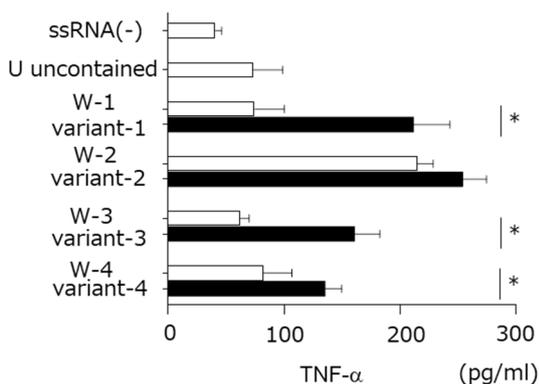
図3 点変異の種類と数

その結果、図3で示すように、新型コロナウイルスの変異は、点変異が多いこと、そして、その変異は、ウラシル (U) への変異が顕著であることが明らかになった。

##### 2) 変異ゲノムの免疫反応の及ぼす影響の解析

上記の研究によって、ウラシル (U) への点変異が特徴的なことから、ウイルスゲノム配列の一部を抽出して、RNA を人工合成した。ウイルスの変異株は、日本型、ジョージア型、フランス型、オーストラリア型の4種類を選び、対照となる武漢型と比較することにした。これらウイルス株について、特に、ウラシルへの変異部位を含む 20 塩基の RNA 部位を人工合成して実験に供した。図2で示すように疑似感染モデルを作成し、マクロファージに人工合成 RNA を疑似感染させて、産生されるサイトカインを測定した。その結

図4 マクロファージからのサイトカインの産生



果、炎症性サイトカインである  $\text{TNF}\alpha$  の産生が検出された。武漢型を対照として、武漢型に比べ、変異型である日本型、フランス型、オーストラリア型では、顕著に  $\text{TNF}\alpha$  の産生が増加していた。

この結果から、新型コロナウイルスの変異は、点変異が多いこと、ウラシルへの点変異が顕著であることが判明した。また、ウラシルへの点変異によって、炎症性サイトカインである  $\text{TNF}\alpha$  の産生が増強することが明らかになった。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学内研究者との交流が飛躍的に活性化した。本年度は、AMED などの公的研究費の共同申請も進めることができた。本共同研究での交流を通じ、今後も大型研究費への申請に結び付けていきたいと考えている。また、本共同研究で明らかとなったウイルス変異について、さらなる研究へ展開していく予定である。

### [4] 成果資料

1. Kosuge M, Furisawa N E, Ito K, Saito Y, Ogasawara K. Point mutation bias in SARS-CoV-2 variants results in increased ability to stimulate inflammatory responses. *Scientific Reports* 10. 17766 (2020).