

課題番号 49

新型コロナウイルス変異による免疫変化の解析

[1] 組織

代表者：荒屋 潤
(東京慈恵会医科大学・医学部)

対応者：小笠原 康悦
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：
伊藤 三郎 (東京慈恵会医科大学・医学部)
川本 浩徳 (東京慈恵会医科大学・医学部)
藤本 祥太 (東京慈恵会医科大学・医学部)
松林 沙知 (東京慈恵会医科大学・医学部)

研究費：物件費 20 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

新型コロナウイルスは、変異を繰り返すたびに蔓延している。ワクチンが開発され効果が認められているものの、今後発生する変異株へのワクチンの効果も未知数であり、変異株への対応が求められている。共同研究者の小笠原らは、病原体の進化を追跡する公共データベース GISAID に登録された SARS-CoV-2 ゲノムについて網羅的解析を行ってきた。結果変異には、大きな欠失や挿入などの変異ではなく、点変異がほとんどであった。そしてその点変異も、ウラシルへの変異が多数を占めることが明らかとなった。特にウラシルへの変異が顕著で、この変異は RNA 編集酵素によるものである可能性を報告した (Kosuge et al. Sci Rep 2020)。実際、E484K 変異 (ベータ株、ガンマ株、シータ株)、F490S 変異 (デルタ株) などの重要な変異も RNA 編集酵素による変異と考えられている。また、抗体療法において、変異株に感染した患者では、抗体療法の効果が減弱しているとの報告もある。このように、武漢株を基本とした現在の抗原検査や抗体検査や、治療法では、変異に対応できているとはいえない。すなわち、変異に対応した診断法や治療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、その変異株が与える宿主側の変化についての研究が必要となる。申請者らは、東京慈恵会医科大学病院において、新型コロナウイルス患者の治療にあたってきた。また、共同研究者の小笠原らと、新型コロナウイルス感染症研究のため患者検体の収集を進めてきた。

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すること、患者検体をもちいて免疫機構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記す。

本年度は、新型コロナウイルスの蔓延により、東北大学への来学による共同研究打ち合わせはできなかった。そこで、e-mail や電話、web ミーティングを活用して3か月に1度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。また、新型コロナウイルスの蔓延のため、研究の進捗状況は当初計画どおりにはなっていない。

これまで、東京慈恵会医科大学病院で採取した患者の血液検体から、血清、RNA サンプル、DNA サンプルを採取し、匿名化したうえで、患者臨床情報とともに東北大学に送付した。また東北大学での解析結果と、臨床情報と合わせた検討に関しては、ZOOM を用いた meeting により定期的に行ってきた。

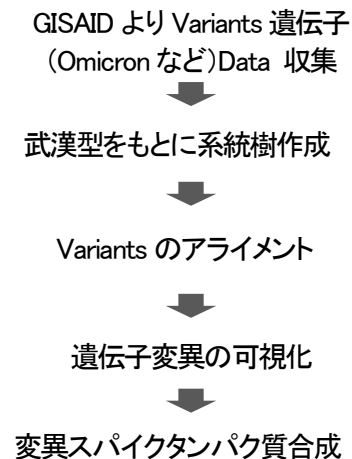


図 研究の概要

[3] 成果

(3-1) 研究成果

- 1) 新型コロナウイルス変異のゲノム情報を用いた抗原作成
オミクロン株ウイルスゲノム情報を収集し、そ

の系統樹を作成した。そして、ウイルス遺伝子変異を可視化しその特徴を解析した。このオミクロン株のスパイクタンパク質部分について遺伝子クローニングを行い、変異型スパイクタンパク質を人工合成する。スパイクタンパク質にイムノグロブリンFc部分(Ig-Fc)を結合させた融合タンパク質とする。Fc部分を利用して、スパイクタンパク質を精製して、ウイルス抗原とした。オミクロン株スパイクタンパク質は、武漢株と同様に人工合成が可能であり、タンパク質の収量も同程度であった。変異株によっては、人工合成が困難な場合があるが、武漢株と比較してオミクロン株スパイクタンパク質の変異とタンパク質の合成効率には、特に相関はないことが示された。

2) 患者検体を用いたB細胞受容体解析

加齢医学研究所生体防御学分野において、RNAサンプルから、B細胞受容体解析を行った。共同研究者の小笠原らは、非バイアス遺伝子増幅法を開発し、世界最高水準の精度でB細胞受容体レパートリー解析が可能である。この技術を用いて解析したところ、ウイルス抗原に対する抗体と思われるB細胞受容体の検出に成功した。今後、このB細胞受容体の塩基配列をクローニングして、その特徴を解析する予定である。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、他大学研究者との交流が飛躍的に活性化した。2年前には、AMEDなどの公的研究費の共同申請も進めることができ、継続して本共同研究につながっている。これまでの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

なし。