

SARS のウイルス学

切 替 照 雄

要旨 SARSの原因は、新型のSARSコロナウイルス(SARS-CoV)であることが明らかにされた。SARS-CoVはこれまで知られているコロナウイルスと同様に特徴的なスパイクを持ち、エンベロープを有するRNAウイルスである。ゲノム構造解析から、これまで知られているコロナウイルスとは異なるグループのウイルスであることがわかった。SARS-CoVの受容体がアンギオテンシン変換酵素2(ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2)であることが明らかとなってきたが、いまだウイルスの起源やワクチン開発など大きな課題が残されている。

(**キーワード**: SARS-CoV, コロナウイルス, ゲノム, 自然宿主, ウイルス受容体, アンギオテンシン変換酵素2(ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2))

VIROLOGY OF SARS CORONAVIRUS

Teruo KIRIKAE

Abstract A novel corona virus, SARS-corona virus was discovered in association with cases of severe acute respiratory syndrome (SARS). SARS-CoV is an enveloped RNA virus with characteristic spikes like other corona viruses. Genome sequence analysis revealed that SARS-CoV belongs to a group different from previously known corona viruses. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) were found to be a functional receptor for SARS-CoV. The origin and natural reservoir of SARS-CoV should be identified and the development of vaccine and anti viral compounds against the virus will be required for successful control of the global SARS epidemic.

(**Key Words**: SARS-CoV, corona virus, genome, natural reservoir, a receptor for SARS-CoV, Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2))

2002年11月中国広東省広州市の隣の仏山(ふざん)市在住の男性が広州医学院第一附属医院に異型肺炎で入院した。この患者がSARSの第1症例とされている。以来、この新興感染症は院内感染を中心に広州市で拡大するとともに、香港、ベトナム、シンガポール、カナダ、台湾、北京などを中心に世界30ヵ国以上に伝播し、患者数8,000人と死亡約800人にのぼる大流行となった。WHOの多施設共同研究ネットワークの参加研究施設を中心とした世界規模の研究協力体制によって、SARSの原因ウイルスがこれまでに報告のない新しいタイプのコロナウイルス、すなわちSARSコロナウイルス(SARS-CoV)であることが明らかにされた。また、この発見後数週間

でSARSコロナウイルスの全ゲノムが解読されている。本稿では、ウイルス学的な側面から、SARS-CoVを概説する。

分 類

コロナウイルスは動物細胞を宿主としてその細胞質内で増殖するエンベロープウイルスに属する¹⁾。このウイルスを電子顕微鏡で観察すると、特徴的な突起(スパイク)が観察できる。このスパイクが太陽のコロナに似ていることから、コロナウイルスと命名された。コロナウイルス科(*Coronaviridae*)のウイルスは、コロナウイルス属(*Coronavirus*)とトロウイルス属(*Torovirus*)に

国立国際医療センター研究所 Research Institute, International Medical Center of Japan 感染・熱帯病研究部

Address for reprints: Teruo Kirikae, Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Research Institute, International Medical Center of Japan, 1-21-1, Shinjuku, Tokyo 162-8655 JAPAN
e-mail: tkirikae@ri.imcj.go.jp

Received December 18, 2003

Accepted December 19, 2003

表 1 コロナウイルス、自然宿主と疾患

分類	ウイルス略式名称	ウイルス名	宿主	疾患のタイプ
I	TGEV	伝染性胃腸炎ウイルス	ブタ	呼吸器感染, 胃腸炎, 全身性感染
	FECoV	ネコ消化器ウイルス	ネコ	軽い腸炎
	FIPV	ネコ伝染性腹膜炎ウイルス	ネコ	腹膜炎, 呼吸器感染, 脳炎, 全身性感染
	CCoV	イヌコロナウイルス	イヌ	下痢症
	HCoV-229E	ヒトコロナウイルス229E	ヒト	鼻風邪
	PECV	ブタ伝染性下痢症ウイルス	ブタ	下痢症
II	MHV	マウス肝炎ウイルス	マウス	呼吸器感染, 脳炎, 胃腸炎, 肝炎
	SDAV	ラットコロナウイルス	ラット	唾液腺, 涙腺, 扁桃腺炎
	BCoV	ウシコロナウイルス	ウシ	下痢
	HCoV-OC43	ヒトコロナウイルスOC43	ヒト	鼻風邪
	HEV	血球凝集性脳炎ウイルス	ブタ	脳炎, 腸炎, 呼吸器感染
III	IBV	伝染性気管支炎ウイルス	ニワトリ	気管支炎, 肝炎, 全身性感染
	TCov	七面鳥コロナウイルス	七面鳥	下痢症
IV(?)	HCoV-SARS	重症急性呼吸器症候群ウイルス	ヒト	重症肺炎

分類されて、SARS-CoV はコロナウイルス属に分類される。ゲノムは1本鎖(ss)RNA、レトロウイルスのような逆転写酵素(RT)を用いる複製過程がなく、ゲノムセンスがプラス(+)鎖(mRNAと同様の塩基配列)をもつ、すなわちss(+)RNAウイルスである。コロナウイルス属のウイルスは、抗原性、アミノ酸配列や塩基配列の相同性から、3つのグループに分けられている(表1)。SARS-CoVのポリメラーゼなどの遺伝子の保存領域の配列を比較すると、SARS-CoVはこれら3つのグループのウイルスとも相同性が低く、第4番目のグループに属すると考えられる。しかし、スパイク、Nsp1、マトリックスやカプシドといった比較的多様性のある領域のアミノ酸配列を比較すると、SARS-CoVはグループ2に相対的に近縁であることが示唆されている。グループ2に属するウイルスはトリ由来であり、グループ3は中国で食用として使用される動物で見出される。このことは、SARS-CoVの起源がこれらの動物であるという可能性を遺伝学的にも支持しているかもしれない。

ウイルス粒子の構造

一般的にウイルス粒子は、遺伝情報を担うウイルス核酸とそれを包んで保護するタンパク質の殻から成り立っている。このタンパク質の殻のことをカプシド、またゲノムとともにヌクレオカプシドとよぶ。ウイルスによっては、ヌクレオカプシドの外側にエンベロープとよばれる糖タンパクと脂質の膜が覆っている。コロナウイルス粒子の直径は120-160nmである。ゲノムの大きさは約30,000塩基(30kb)である。コロナウイルスのカプシ

ドは管状でらせん対称な構造である(図1)。その周りにエンベロープを持つが、コロナウイルス粒子は特徴的なスパイクを有する。SARS-CoVも同様なスパイクを持つエンベロープウイルスであることが電子顕微鏡で観察されている。ウイルス表面のスパイクを形成するのはSタンパク質である。この他、エンベロープには、膜(M)タンパク質、エンベロープ(E)タンパク質が存在する。エンベロープの内側にゲノムRNAがあり、それに核(N)タンパク質が結合し、らせん状のヌクレオカプシドを形成している。

ゲノム構造

SARS-CoVを含むコロナウイルスのゲノムは、約30kbの(+)鎖RNAからなる。これは、RNAとしてはもっとも大きく、レトロウイルスのその約3-4倍である。ゲノムの5'末端にはcap構造が、3'末端にはpoly(A)が存在する。5'末端にはコロナウイルス特異的な配列(5'-CUAAAC-3')のコアをもつleader sequenceがあり、その下流にRNAPolymerase(replicase 1a, replicase 1b)遺伝子がある。非構造タンパク質遺伝子はゲノム全体の約70%を占めている。ウイルス構造タンパク質は、これらの下流で、S, E, M,

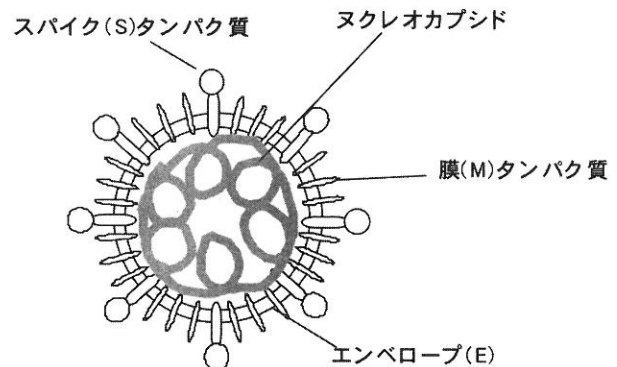


図 1 SARS-CoV 粒子の模式図

エンベロープには、ウイルス表面のスパイクを形成するSタンパク質、膜(M)タンパク質、エンベロープ(E)タンパク質が存在する。エンベロープの内側にゲノムRNAがあり、それに核(N)タンパク質が結合し、らせん状のヌクレオカプシドを形成している。

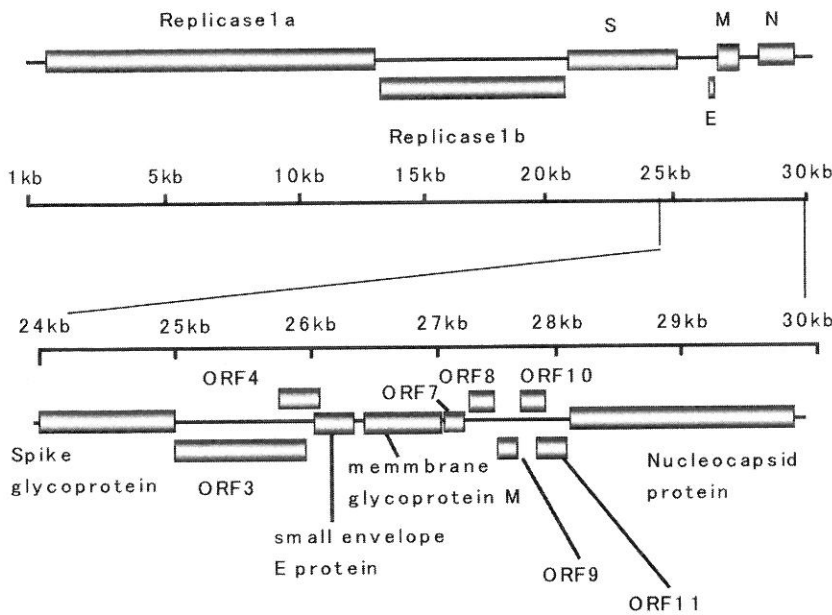


図 2 SARS-CoV のゲノム

SARS-CoV のゲノムは、約30kb の (+) 鎖 RNA からなる。ゲノムの 5' 末端は cap 構造を、3' 末端には poly (A) が存在する。5' 末端にはコロナウイルス特異的な配列 (5'-CUAAC-3') のコアをもつ leader sequence があり、その下流に RNAPolymerase (replicase 1a, replicase 1b) 遺伝子がある。ウイルス構造タンパク質は、これらの下流で、S, E, M, N 遺伝子の順で存在する

N 遺伝子の順で存在する (図 2)。グループ 2 に属するウイルスには、RNAPolymerase 遺伝子のすぐ下流に Hemagglutinin-esterase タンパク質をコードする HE 遺伝子が存在するが、他のグループと SARS-CoV には HE 遺伝子はない。

SARS-CoV の ORFs (open reading frame) は、既知のコロナウイルスタンパク質の相同性から決定している。その結果、主要なタンパク質、replicase 1a と 1b, S, E, M, N タンパク質が同定された。そのほかに 9 個の ORFs が推定されているが、生物学的関連性は不明である。

ウイルスタンパク質の構造と機能

replicase 1a と 1b は巨大タンパク質として翻訳され、内在するタンパク分解酵素によって分解され、RNA polymerase や helicase などの機能タンパク質が作られる。これらのタンパク質はウイルスの複製に関与する。

S タンパク質は、ウイルス粒子表面のスパイクを構成する分子量180–200 kDa, 1, 255アミノ酸残基のタイプ I の糖タンパク質で、3量体で1つのスパイクを形成する。S タンパク質は、外側、N 末端側の頭部に当たる SI 領域とその内側で C 末端で膜に貫通する S2 領域からな

る。S タンパク質は、コロナウイルスのもつ多くの生物活性に関与している。すなわち、受容体への結合活性、カプシドを宿主細胞内へ侵入させる働き、細胞融合活性などである。また、ウイルス抗原の主要エпитープとなり、宿主による中和抗体産生を引き起こす。

E タンパク質は、分子量約 8 kDa で、エンベロープ内に埋もれている。M タンパク質は、25 kDa の 3 回膜貫通型タンパク質で、細胞外に短い N 末端領域、細胞内に比較的長い末端 C 領域を持つ。この C 末端領域にウイルスのヌクレオカプシドが結合する。ウイルスタンパク質としては最も多く、ウイルス粒子の形態形成に関与し、粒子が組み立てられる過程で S タンパク質とゲノムを取り込む (図 3)。

ヌクレオカプシドタンパク質である N タンパク質は、約50 kDa の塩基性タンパク質で、一部 C 末端が酸性である。中心部の領域に RNA 結合部位を、C 末端領域に M タンパク結合領域を持ち、機能として mRNA の翻訳に関与しているようである。

ウイルス受容体

ごく最近、SARS-CoV の受容体がアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2) であることが明らかとなってきた²⁾。SARS-CoV は、アフリカミドリザルの腎臓細胞株である VeroE6 細胞に感染することができるが、ヒトの腎臓細胞株293T 細胞には感染できない。そこで SARS-CoV の S タンパク質の S1 タンパク質にヒト免疫グロブリンの Fc 部分を融合したタンパク質を作成した。フローサイトメトリーで解析すると、この融合タンパク質は、VeroE6 細胞には結合するが、293T 細胞には結合しない。免疫沈降で解析すると、このタンパク質と結合するタンパク質が同定でき、アミノ酸配列の検討から、ACE2 が受容体候補タンパク質として同定されてきた。可溶性の ACE2 は SARS-CoV が VeroE6 細胞に結合するのを抑制するが、ACE1 は抑制しない。ACE2 を発現していない293T 細胞に ACE2 遺伝子を導入して ACE2 を発現させると、

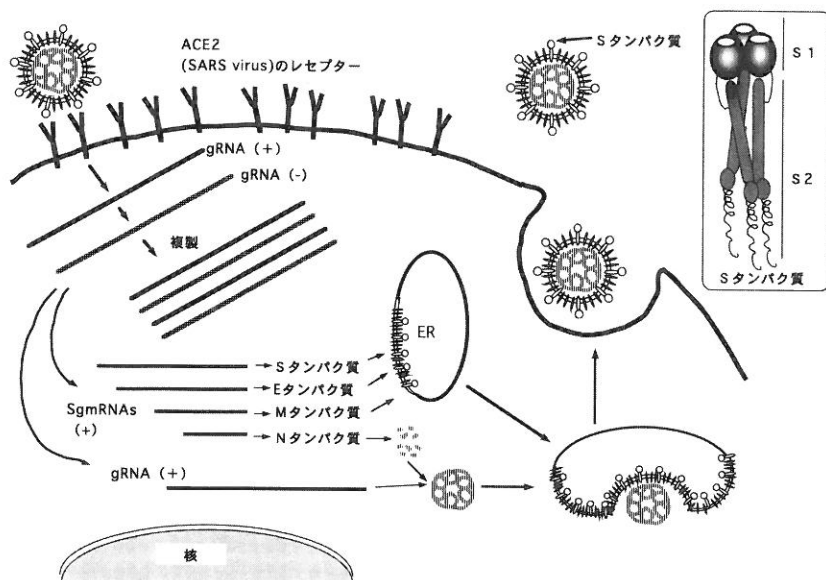


図 3 SARS-CoV の増殖環（模式図）とSARS-CoV Sタンパク質の構造
受容体に結合後、Sタンパク質の細胞融合活性を介して、細胞内に侵入したコロナウイルス（+）鎖ゲノムの5'末端にコードされているRNA polymerase が翻訳され、この酵素を利用して、ゲノムと相補的な（-）鎖RNAが合成される。さらに、この（-）鎖RNAから幾種類かの subgenomic (sg) mRNA が合成される。数種類の sg mRNA から、タンパク質が合成される。合成されたNタンパク質はゲノムRNAと結合しヌクレオカプシドを形成する。これがMタンパク質と internal compartments で会合して出芽し、その後 exocytosis によって細胞外に放出される。

がCD13でもでている。酵素活性と、ウイルス感染は直接は関連しないかもしれない。

ウイルスの宿主細胞内増殖

コロナウイルスは、受容体に結合後、Sタンパク質の細胞融合活性を介して、直接細胞膜から侵入すると考えられている。細胞内に侵入したコロナウイルス（+）鎖ゲノムの5'末端にコードされているRNA polymeraseが翻訳され、この酵素を利用して、ゲノムと相補的な（-）鎖RNAが合成される。さらに、この（-）鎖RNAから幾種類かの subgenomic (sg) mRNA が合成される。sg mRNAは、ゲノムの3'末端から異なる長さで5'方向に延びている。いずれの長さの sg mRNAもゲノムに存在する leader sequence がある。これらの mRNA セットは nested set とよばれ、これがコロナウイルスを含むニドウイルス目の特徴となっている¹⁾。

数種類の sg mRNA から、原則として5'末端のORFが翻訳されタンパク質が合成される。コロナウイルスのタンパク質の集合や出芽は、細胞膜から直接細胞外へ放出されるのではなく、ERからゴルジ装置を介して、internal compartments 内腔に出芽される。合成されたNタンパク質はゲノムRNAと結合しヌクレオカプシドを形成する。これが親和性の高いMタンパク質と internal compartments で会合して出芽し、その後 exocytosis によって細胞外に放出される。

病原性

ある病原体が疾患の原因であることを科学的に実証するための要件として、有名な「コッホの4原則」が知られている。この原則は、ウイルスが病原体の場合改変されて、6つの要件を満たすものとされている。SARS-CoVの場合、この6原則を満たす³⁾。すなわち、1) 患者からウイルスが分離される、2) 宿主細胞で培養できる、3) ろ過可能である、4) 宿主もしくはそれに近縁の動物で同様な疾患を引き起こすことができる、5) 再び同じウ

SARS-CoV が感染して、ウイルスが増殖するようになる。ACE2 に対する抗体は、SARS-CoV の VeroE6 細胞への感染を抑制するが、ACE1 に対する抗体は阻止しない。以上の実験から、ACE2 が SARS-CoV の機能的な受容体である可能性が強く示唆されている。

他のコロナウイルスに関する2つの型の受容体が同定されている。ひとつは、グループIIに属するMHVでCEACAM1 (carcinoembryonic antigen cell adhesion) と呼ばれる細胞接着分子である。これは標的細胞にも発現しているが、非標的細胞にも発現しており、機能的な受容体かどうか疑問が残っている。もうひとつは、グループIコロナウイルスで見られる受容体として亜鉛メタロペプチダーゼN (APN, CD13) が同定されている。これはウイルスが標的細胞に侵入するのに必須のタンパク質である。ACE2 が SARS-CoV の機能的な受容体である可能性が強いが、ACE2 も APN (CD13) と同様にメタロペプチダーゼ活性があり、この酵素活性がウイルスの細胞侵入に関与していることが考えられる。ACE2 の活性部位の2つのヒスチジンをアスパラギンに置換しても、ウイルス受容体活性が変化しない。同様の実験結果

ウイルスが再分離できる。6) ウイルスに対する特異的な免疫反応が惹起できる。後半の3つは、サルを用いた感染実験で証明されている。サルの感染では、感染後3日で嗜眠傾向と一過性の発疹を示し、感染後4日で呼吸困難を示すようになる。感染後2-6日で鼻腔や咽頭拭い液中のPCRが陽性となり、ウイルスが分離できるようになる。また、ウイルスは糞便中にも排出される。病理解剖では、重症の多巣性の肺炎が見られ、同時にウイルスが病巣からも分離できる。組織像では、肺胞広範な障害、しばしば多核細胞をともなった肺胞と気管支上皮の壊死など、ヒトSARSと同様な所見が見られる。

コロナウイルスはヒトや家畜などの動物に感染し、SARS以外にもさまざまな疾患を引き起こす(表1)。ヒトでは、2種類のコロナウイルス(229E株とOC43株)が知られていた。いずれも軽症のかぜを引き起こし、かぜの20-30%の原因と考えられていた。これらはしかしSARSのような重症の呼吸器疾患を引き起こすことはない。SARS-CoVを含めコロナウイルスの主要な標的組織は、消化器と呼吸器である。多くの場合、年齢の若い動物が重篤な症状を示す。また、一般的にコロナウイルスは、種特異性が高く、固有宿主を超えた動物に感染することは少ないと考えられてきた。SARS-CoVはヒト以外にもサル、ネコ、イタチ、マウスやラットなどにも感染する。SARS-CoVが有する高い病原性には、宿主の免疫の過剰反応が関与しているであろうことは推定できる。しかし、SARS重症化の分子機作は解明されていない。

起 源

SARS-CoVの起源や自然宿主を知ることは、この疾患の根本的な予防・撲滅につながる非常に重要な研究課題である。しかし、SARS-CoVの起源はまだ明らかになっていない。SARS-CoVの起源は、中国広東省を中心とした南部中国であろう。この地域では、多くの種類の野生動物が食用として市場にでまわり、ヒトと野生動物や野生動物間での接触がきわめて濃厚である。初期のSARS患者に野生動物を解体する料理人が含まれており、このような生活環境からSARS-CoVがヒトに伝播した可能性が高い。新型インフルエンザの出現も、中国南部地帯であり同様な背景の関与が考えられる⁴⁾。広東省ではハクビシンやタヌキなどの野生動物から、SARS-

CoVゲノムや抗体が検出される。これらの動物から分離されたSARS-CoV様ウイルスは、SARS-CoVと99%以上の相同性をもち、SARS-CoVであると考えられる。ハクビシンから分離されたSARS-CoVは、ヒト由来株と比べるとN遺伝子上流に29塩基が余分に存在する。動物由来のSARS-CoVは、ヒトには感染しないが、変異や組換えにより、ヒトに感染するようになった可能性が考えられる。しかし、広東省で初期の患者から分離されたウイルスは、ハクビシンのそれと同じ29塩基を持っている。また、ヒトと野生動物由来SARS-CoV間の違いは、S遺伝子領域でも存在することから、S遺伝子が宿主を決定する因子となっていることも考えられる。

お わ り に

SARS-CoVの研究が始まって、まだ1年もたっていない。その間にこれまで考えられなかったほどの速さでSARS-CoVのウイルス学が明らかにされてきた。これを可能にした要因のひとつとして、これまでのコロナウイルスでの地味な研究が基盤となっていることを強調したい。ウイルスの起源、ワクチン開発、重症化の機序の解明など解明すべき問題はまだまだ多い。

文 献

- 1) Lai MMC, Cavanagh D: The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* **48**: 1-100, 1997
- 2) Li W, Moore J, Vasilieva N et al: Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* **426**: 450-454, 2003
- 3) Fouchier RAM, Kuiken T, Schutten M et al: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature* **423**: 240, 2003
- 4) Guan y, Zheng BJ, He YQ et al: Isolation and characterization of viruses related the SARS coronavirus from animals in southern china. *Science* **302**: 276-278, 2003

(平成15年12月18日受付)

(平成15年12月19日受理)