

生物化学的測定研究会
Biochemical Assay
Society of Japan

生物化学的測定研究会年報
2021年 第25号 別冊

山本 敬司 : 新型コロナウイルス検査技術とワクチン開発の課題

Curriculum Vitae

Takashi Yamamoto, Ph.D.

Bacillus Tech LLC, Dublin, CA 94568
1-925-556-3423 (landline), 1-510-468-6797 (mobile)



Owner of Bacillus Tech LLC, a biotechnology consulting company. Experienced in managing research projects at Shell, Sandoz, Maxygen and DuPont that require extensive knowledge of virology, microbiology, protein chemistry and molecular biology especially in gene discovery, cloning, expression in *E. coli* and *Bacillus* hosts, protein isolation and characterization, protein engineering (design and construction of mutants), and molecular modeling. Internationally recognized as an expert of *Bacillus thuringiensis* (Bt) insecticidal proteins (Cry). Also highly experienced in laboratory automation and high throughput screening. Other experiences include university-industry research collaborations, co-founding an international science conference, book editing and reviewer for scientific journals.

Job History

DuPont Pioneer (now called Corteva Agrosciences), Research Fellow
engineering insecticidal proteins, lab automation, 2011- 2019

DuPont Pioneer, Senior Scientist
discovery and engineering insecticidal proteins, 2004-2011

Maxygen (purchased by DuPont Pioneer), Senior Scientist
DNA shuffling of insecticidal proteins, 1998-2004

Sandoz Crop Protection (now a part of Syngenta), Research Manager
Development of sprayable biological insecticides, 1988-1998

Education, Academic Research

Sabbatical Leave (one year), Visiting Scientist
Department of Biochemistry, University of Cambridge, (Molecular Biology)

Academic Position (4 years), Research Scientist
USDA Cotton Insect Laboratory, Brownsville, Texas, (Insecticidal Protein Discovery and Characterization)

Post-doctoral training
Department of Entomological Sciences, University of California, Berkeley
(Virology, Insect Pathology, Entomology)

Ph.D. (Biochemistry)
Division of Biochemistry, Osaka University,
(Protein Chemistry, Structure and Function of Cytochrome Oxidase)

B.S. (Biology)
Department of Biology, Osaka University

新型コロナウイルス検査技術とワクチン開発の課題

山本敬司
Bacillus Tech LLC
Dublin, California, USA

はじめに

世界中で新型コロナウイルスが猛威をふるっています。私の専門はタンパク質工学で **Epidemiology (疫学)** は専門外ですが、アメリカで **40 年以上** ウイルスを含む微生物を使った研究をしており、この新型コロナウイルスの報道や論文を興味深く見ております。この度、神戸大学大川秀郎名誉教授および生物化学的測定研究会上田宏会長からこの新型コロナウイルスについての考察を当研究会年報に書くようお招きをいただき、僭越ながらお役に立てばと思いお引き受けいたしました。大川名誉教授から基本的な技術背景を非専門家にも理解できるようにとのご指摘があり、出来る限りの解説を **2021 年 2 月 15 日** までの情報に基づいて試みます。おそらく研究会の諸賢には不必要な解説が多くあると思いますが、いずれかの項目で参考になることがあれば幸いです。

ウイルスの構造、感染および増殖

この新型ウイルスは WHO (世界保健機構) によって **SARS-CoV-2** と名付けられました。2003 年の SARS-CoV によく似ており同じような症状を示しますが、SARS-CoV-2 は SARS-CoV より遥かに感染率が高いようです。これらのウイルスは王冠 (コロナ) のように突起がウイルス膜の表面に突き出ているコロナウイルスの仲間です (図 1)。

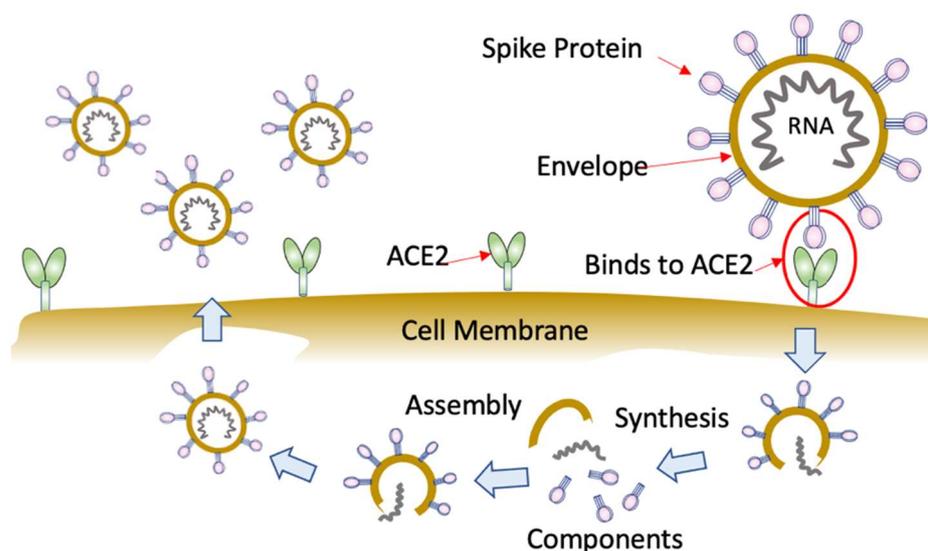


図 1. コロナウイルス感染と増殖

このウイルスの遺伝情報は RNA でその長さは約 **30 kb (30,000 塩基)** です。この RNA にどのような遺伝子がコードされているか興味のある方には **The New York Times** の **2020 年 4 月 3 日** 付記事 **Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome** をお薦めします。科学論文のように全遺伝子の塩基配列と役割を解説しており大変役立つ記事です。このウイルスは RNA が Envelope (エンベロープ) とよばれるリン脂質膜に包まれており、その膜の表面には Spike Protein (スパイクタンパク質) があります。この Spike Protein は感染する標的細胞の表面にある ACE2 (Angiotensin Converting

Enzyme 2) を Receptor (受容体) として認識、鍵と鍵穴のように結合しウイルスが細胞内に侵入します (図 1、赤丸)。ACE2 は血圧に関するペプチドホルモン Angiotensin (アンジオテンシン) を代謝する酵素でコロナウイルスに感染する呼吸器の細胞膜 (Cell Membrane) 表面に多くあります。Spike Protein でこの ACE2 に結合して細胞内に侵入したウイルスは RNA を放出し、細胞内のタンパク質合成の仕組みを利用して、ウイルスの構造タンパク質や必要な酵素など (Components) を大量に生産します (Synthesis)。それらのタンパク質は複製されたウイルス RNA と共に細胞中の脂質膜を利用してウイルス粒子を組み立て (Assembly) 細胞外に放出されます。このコロナウイルス RNA は末端に真核生物の messenger RNA (mRNA) のように Poly A (反復アデニン) 鎖を持っています。ACE2 は Angiotensin を II 型から 1-7 型に変換する酵素で、II 型は血管収縮・血圧上昇、1-7 型は血管拡張・血圧降下をもたらします。ACE2 がコロナウイルスによって阻害されると II 型が多量に蓄積して過剰な血管収縮や血圧上昇が起こり、さらに肺機能を阻害します。

ウイルスは宿主の細胞中でしか増殖しません。食材など宿主外の物質では増えません。宿主を離れるとウイルスは時間と共に減少して死滅します。一方、細菌は栄養分 (培地) があると自己増殖します。ウイルスが増殖するためには、感染率を高めてより多くの宿主個体に感染し、宿主内の細胞を広範囲に利用し、同時にできるだけ宿主を殺さず長生きさせることがウイルスにとって好条件です。感染者が死亡するとウイルスは増殖できません。宿主を殺さず盛んに増殖すると変異の頻度が上がります。ある種のウイルスは感染下で宿主を長生きさせる遺伝子を持っています。新型コロナウイルスは RNA を複製するときに間違ったヌクレオチドを取り込む、すなわち変異を起こすとそれを修復する仕組み (NSP14 exoribonuclease) がありますが、それでも変異が起こります。生物はウイルスに限らず変異で環境により適応したものが生き残り増殖することによって進化しています。後の項目でウイルスの変異を考察します。

感染を理解するためにウイルス摂取量が感染率にどのように影響するか見てみます。この関係を Dose-Response (用量反応) と言います。このような実験は人間ではできませんので動物や培養細胞を使います。私の経験した別のウイルスの動物実験で Sigmoid Curve (S 字状曲線) になりました (図 2 左)。このような S 字状曲線は PLOS に発表された数値モデルの論文で見られます (文献 1)。

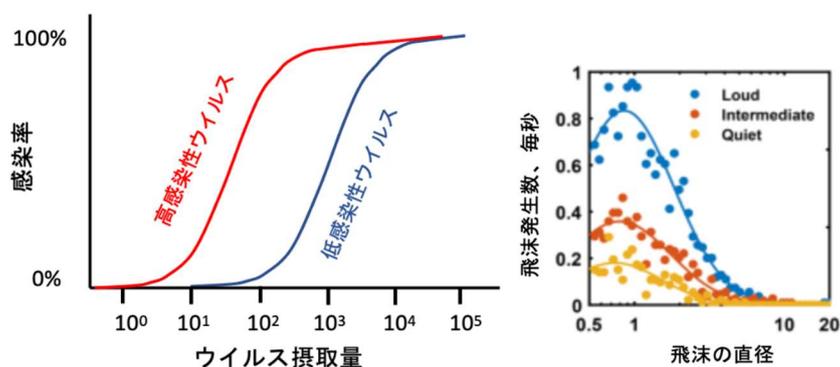


図 2. ウイルス摂取量と感染率モデル (左)、会話中の飛沫の発生頻度 (右)、右の図は文献 2 より転載。

この S 字状曲線の反応は同じウイルスの培養細胞を使った実験でも観察されました。低摂取領域では摂取量が増加しても感染率はあまり増加しません。中程度の摂取領

域では急に感染率が増加して、さらに高領域で感染が 100%近くになると増加率が低下します。図 2 左は高感染性ウイルス (赤線) と低感染性ウイルス (青線) の違いを示しています。ここで高感染性とは低摂取量で感染しやすい能力です。この図表では横軸が対数目盛になっていますので低感染率と高感染率を比較すると摂取量に 10 倍またはそれ以上の違いがある可能性があります。このような Dose-Response がコロナウイルスでもヒトに対して見られるとすれば、少量のウイルス摂取、すなわちごく短時間会話の飛沫中のウイルスでは比較的感染しにくく (しかし感染の可能性はあるので注意)、ある一定以上の飛沫を吸引すると、特に大声で長時間の会話で急に感染率が上昇するはずで、会話中の飛沫に関する論文に (文献 2) 飛沫の発生頻度とサイズを、大声 (青)、中ぐらいの声 (赤)、小声 (オレンジ) で測定して示した図がありこれを図 2 右に転載しています。この図は大声で会話していると明らかに飛沫数が 2 倍から 4 倍になることを示しています。

マスクとアルコールによる感染予防

この項目はもっともらしい説にも注意が必要な例です。例えばパンデミック初期にマスクのウイルス感染抑制効果が疑問視されていました。工業用マスク防塵規格 N95 は 0.3 マイクロメートル (ミクロン) の粒子を 95%遮断する能力です。コロナウイルスのサイズは約 0.1 ミクロンで普通のガーゼ、不織布などの手術用マスクはもちろん、N95 マスクでもウイルスを防ぐ事は理論上不可能に思えます。多分ウイルス単体のサイズからマスクはそれを阻止しないと考えたのでしょう。しかし、ウイルス粒子は空気中に単体で浮遊している可能性もありますが、多くはクラスターで、また、0.5 から 2 ミクロンの唾液飛沫に含まれていると思われま。従って、マスク、特に N95 規格のマスクは有効だと思います。また、アメリカの 3M (日本では住友 3M) は N95 規格のフィルターにさらに静電気加工でウイルスなど荷電粒子を吸着するものがあり、これを使ったマスクは特に有用でしょう。このようなマスク規格については日本のフィットテスト研究会から詳細な解説書が出ています (文献 3)。上述のように、病原体に対する宿主反応はその摂取量に対し S 字状曲線で起こり、ある程度までの小量では統計的に見て感染し難いはずで、従って、飛沫吸引量をゼロに出来なくても極力マスクで抑制するのが大切です。日本ではマスクは広範囲に受け入れられていますが、欧米では文化、習慣の違いでマスクを拒否する人が多くいます。アメリカの保守的な地域ではマスク忌避が政治問題になっています。そこで図 3 のアメリカの地図を見てください。

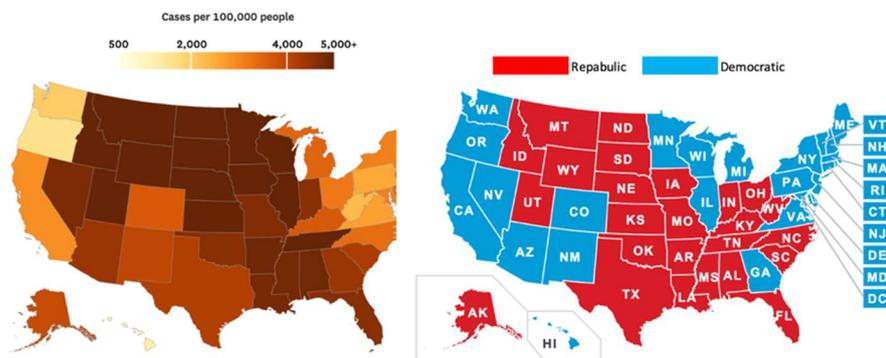


図 3. 米国各州の感染者数 (図左) と大統領選結果 (図右)、青は民主党、赤は共和党です。(米国新聞報道サイト、SF Gate などより転載)

図 3 左は各州の人口 10 万人あたりの感染者数、右は 2020 年の大統領選の結果です。大雑把に言って青い州は進歩的でマスクに対する反発が赤い州より少ないと言えま

す。この図 3 では高感染率とマスク嫌いがよく一致していることが分かります。保守的な州はマスク以外にもコロナウイルスを軽視する傾向がありますが、いずれにせよ、地域住民のコロナウイルスに対する心構えがいかに大事かを示しています。日本で欧米のような感染爆発がないのも国民の意識が高く、ほぼ全てがマスクをするからだと思います。欧米に比べ日本でコロナ感染者数が低いのは BCG とか、先天的な免疫とかの説がありますが、アメリカで民主党と共和党で BCG 接種率や先天性免疫が違うとは考えられません。私は少なくとも流行初期の感染者数の差異は欧米と日本のマスク着用率の違いが大きく関与していると思います。

コロナウイルスの膜 (エンベロープ) はアルコールに弱く、よく言われているように 70% のアルコールで不活化されるはずですが、また、Dose-Response の S 字状曲線ですが、低摂取量域では、手などの消毒だけで摂取量をわずかに下げてどれほど統計的に有意な感染予防効果があるのか疑問です。ここで消毒は不必要としているのではなく、それだけで安心してマスク無しで会食するのは考えものと言いたい訳です。

流行の制圧

最初に述べましたように私は疫学の専門家ではありませんが、流行制圧の基本は感染者の早期発見、隔離、治癒だと思います。そこで私の簡単な数値モデルでどの程度の割合で感染者を捕捉・隔離すると感染者数が減少するか見てみました (図 4)。

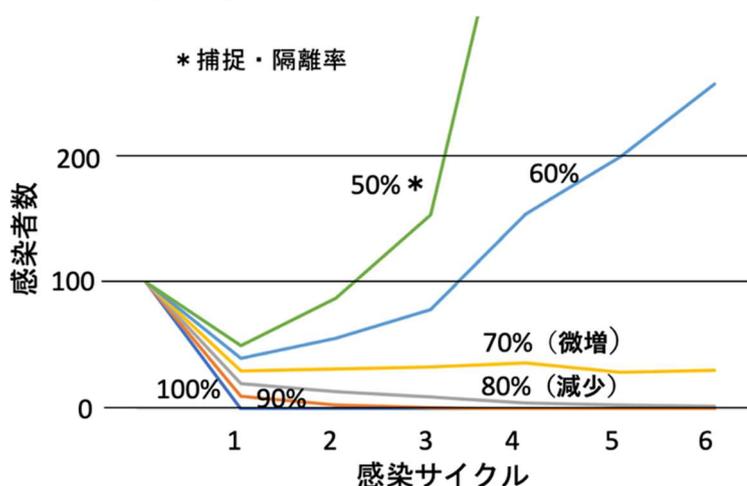


図 4. 感染者の捕捉・隔離と感染者数増減の数値モデル

図 4 は初期感染者数を 100 人として、その内何%を捕捉・隔離すると感染者数がどのように変化するかをグラフに示したものです。仮定として隔離されていない感染者は一サイクル当たり平均 2.5 人の新たな感染者をもたらすとしています。このモデルでは一サイクルの時間を仮に 1 週間とします。ここで『隔離されていない感染者』とは複数の可能性を含みます。例えば、検査もれ、偽陰性、検査結果の報告遅延、陽性でも隔離されていない等です。図 4 に示すように 70% の捕捉・隔離でも流行は終息しません。50% では 3 週間で 2 倍になります。即ち、今世界で起きている第 3 波は捕捉・隔離が半分程度になっているのでしょう。一方、80% では感染者数が明確に減少に転じます。この計算は 10% 間隔なので、分岐点は 70% と 80% の間になります。読者はおそらく元北海道大学 (現京都大学) の西浦博教授の 8 割説を覚えていると思いますが、私の簡易モデルでもこの数値になりました。この新型コロナウイルスは厄介なことに無症状でも他人を感染させるのですから広範囲で迅速・正確な検査と隔離が不可欠でしょう。そこで、次にウイルス検査技術を考察します。

抗原検査

まず、コロナウイルス抗原の検出、即ち、感染を判定する抗原検査です。ここでは Lateral Flow Immunoassay について述べます。この方法は Immunochemistry Assay または Strip Test と呼ばれ、妊娠検査に 1980 年代から使われており、現在、医学・農学・食品・環境などの分野に広く応用されています。図 5 に示すようにテストストリップは樹脂基板 (図左上のグレー) の上に Sample Pad (検体パッド)、Conjugate Pad (反応パッド、ピンク)、Capture Zone (捕捉ゾーン、ピンク) を含む Chromatography Membrane (クロマトグラフィー膜) と Wicking Pad (吸着パッド) が装着されています。

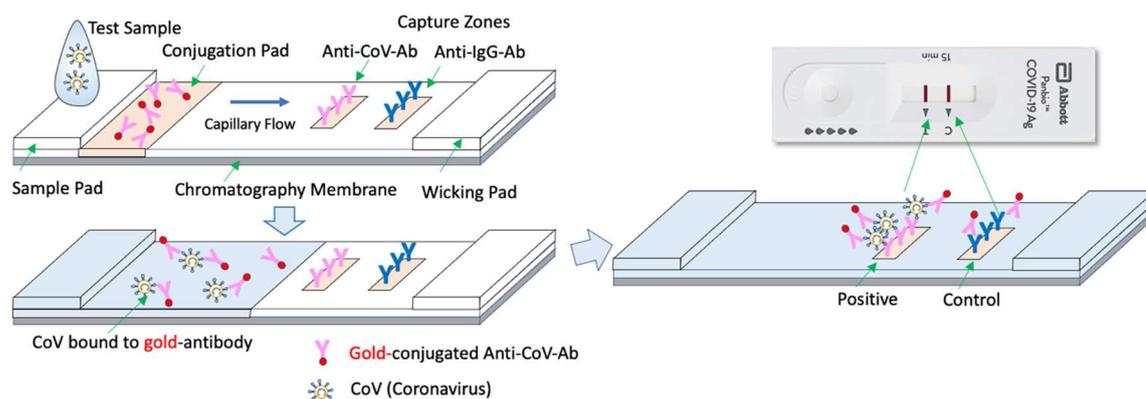


図 5. Lateral Flow Immunoassay による抗原検査

図 5 の抗原試験の場合、Conjugate Pad はコロナウイルス (CoV) 抗原に反応する、金微粒子 (Gold Nanoparticle、図の赤丸) で標識・着色された抗体 (Gold-conjugated Anti-CoV-Ab、ピンク Y) を含んでいます。この抗体は実験動物で生産、精製された免疫グロブリン (IgG) です。図の Ab は Antibody、CoV はコロナウイルスの略です。1 番目の Capture Zone は Anti-CoV-Ab を固定しており、2 番目の Capture Zone は IgG に反応する抗体 (Anti-IgG-Ab) を固定しています。試験対象から採集した検体に含まれるウイルス抗原は緩衝液に懸濁され Sample Pad に滴下されます。そこから抗原 (CoV) は毛細管現象で Conjugate Pad に移動して、そこで CoV 抗原に反応する金微粒子標識の付いた抗体 (赤丸付きピンク Y) と結合します。さらに CoV 抗原・金標識抗体複合体は Chromatography Membrane に入り、1 番目の Capture Zone に固定されている抗体が抗原・抗体複合体の CoV 抗原を抗体と共に捕捉・蓄積して抗体の金標識で発色し陽性を示します。もしこの Zone が発色しなければ陰性です。Conjugate Pad で抗原に結合しなかった過剰金標識抗体は 2 番目の Capture Zone が捕捉して発色し、検査の有効性を示します。この 2 番目の Zone が発色しなければ検査は無効です。この試験に要する時間は 20 分以内で、自宅でも可能です。

PCR 検査に比べて抗原検査は感度が低く、米国 CDC (Center for Disease Control and Prevention、疾病管理予防センター) の報告によれば PCR 陽性者中、有症者の 80%、無症状者では 41% しか検出されませんでした (文献 4)。この数字は無症状の感染者を見逃す可能性 (偽陰性) が 59% もあることを示しています。アメリカのホワイトハウスではこれを多用してトランプ前大統領一族の感染を防げませんでした。マスクと共に科学を軽視した政策の悪例です。しかし、この抗原検査の特異性は非常に高く、この CDC の報告では抗原検査陽性の 98% は PCR 陽性と一致しています。言い換えれば、この抗原検査の偽陽性の可能性はわずか 2% です。

抗体検査

次は、被験者のコロナウイルスに対する抗体 (免疫グロブリン IgM・IgG) の検出、即ち、感染状況を調べる抗体検査です。図 6 に示すようにテストストリップは抗原検査と同じ構造ですが、Conjugate Pad は金微粒子標識ウイルス抗原 (Gold-conjugated CoV-Antigen) とウサギの金微粒子標識免疫グロブリン (Gold-Rabbit-IgG、図の黒色 Y) を含んでいます。

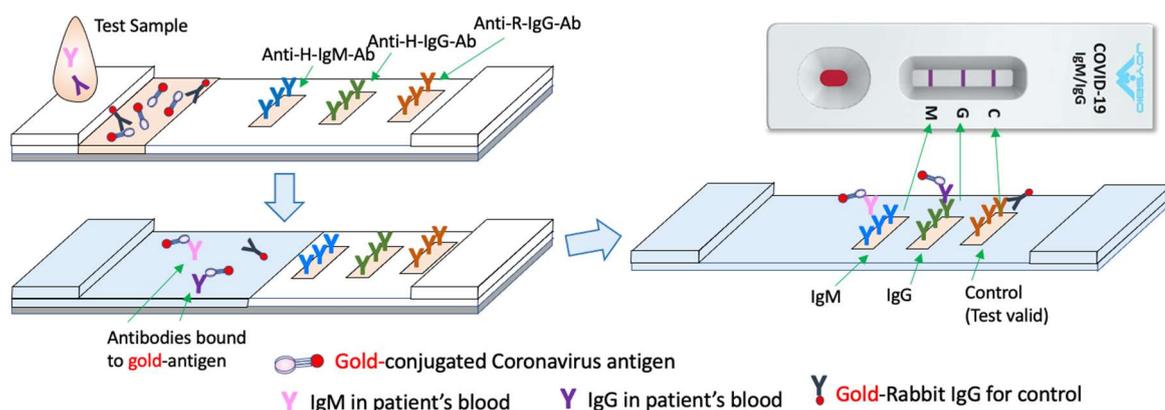


図 6. Lateral Flow Immunoassay による抗体検査

抗体検査の場合、Chromatography Membrane には 3 本の Capture Zone (ピンク) があり、1 番目から順に Anti-H-IgM-Ab、Anti-H-IgG-Ab、および、Anti-R-IgG-Ab の抗体が固定されており、検体中の IgM と IgG が捕捉・検出されます。3 番目の Capture Zone は検査の有効性確認です。ここで R は Rabbit (ウサギ)、H は Human (ヒト) を意味します。検体は被験者の血漿ですが、これに含まれる抗ウイルス IgM・IgG は Conjugate Pad で金微粒子標識 CoV 抗原と特異的に結合し金微粒子で着色されます。その後、Gold-Rabbit-IgG と共に Capture Zone に進み、Anti-H-IgM-Ab と Anti-H-IgG-Ab が金微粒子標識抗原と結合した IgM と IgG を捕捉・蓄積してそれぞれの Zone が発色します。フリーの Gold-Rabbit-IgG は第 3 Capture Zone で Anti-R-IgG-Ab に捕捉されてこの Zone を発色しテストの有効性を確認します。ヒトがウイルスに感染するとまず IgM、その後 IgG が遅れて生産され、そのうち IgM は減少しますが IgG の量は持続します。そこで IgM と IgG を調べることによって感染の時間経過がおおよそ判定できます。

抗原検査と後述の遺伝子検査のいずれの方法でもサンプル採集方法が重要です。PCR 検査で偽陰性が問題だとする意見がありますが、サンプル採集が不適切ではいかに高感度 PCR でもウイルスの検出に問題が出ると思います。それと感染後ウイルスの量が時間とともに変化しますので採集のタイミングも大切です。特に、無症状感染者が家庭用簡易抗原検査の陰性で安心するのは考えものです。

ウイルス遺伝子検査 (RT-PCR, LAMP, CRISPR-Cas)

RT-PCR は Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction です。コロナウイルスはその遺伝情報を RNA で持っており、まずウイルスの RNA を DNA に Reverse Transcriptase (逆転写酵素) で変換する必要があります。図 7 に示すように、この酵素は一本鎖 RNA の鋳型を相補するもう一本の DNA 鎖を合成します。相補とは核酸構成塩基 (ヌクレ

オチド) の A と T (U) また G と C が互いに水素結合でペアを組むことです。相補鎖の合成を開始するのに RNA の図右端 (3' end) に結合する短いオリゴヌクレオチド (短鎖塩基、Primer) が必要です。

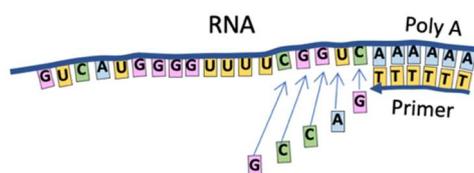


図 7. 逆転写酵素による RNA を鋳型にした相補 DNA 鎖合成

この図では例として mRNA にある Poly A を示しています。コロナウイルス RNA では Poly A もありますが、代わりに次の段階の PCR 標的になる RNA 上の特定塩基配列も利用出来ます。この塩基鎖は合成を Prime (開始する) するので Primer と言います。酵素はこの Primer の 3' end、すなわち二本鎖の終わり (矢印先端) を見つけてそこから合成を始めます。

二本鎖 DNA が完成すると次は PCR です。PCR (Polymerase Chain Reaction) は Cetus Corporation の Kary Mullis が確立して 1993 にノーベル賞を受賞した、微量の DNA を短時間に大量に増幅する技術です。その簡便さ、高い有用性により、広く分子生物学の分野で使われています。図 8 は基本的な PCR の第 1 サイクルを示しています。

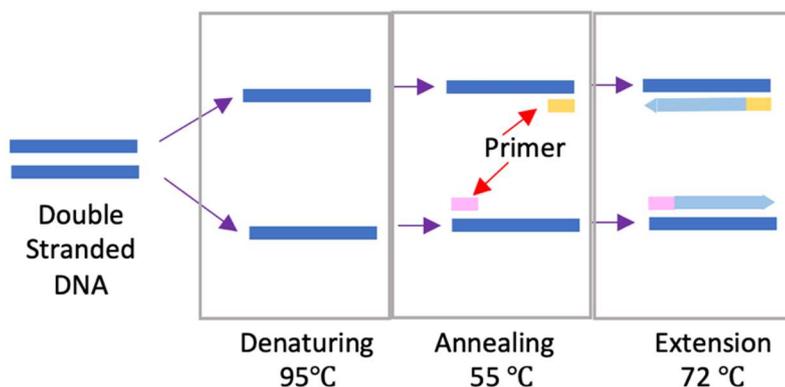


図 8. PCR 第 1 サイクルによる DNA 複製

まず二本鎖 DNA を 95°C で鎖間の水素結合を切断・分離します。これを Denaturing (変性) と言います。反応溶液には DNA (遺伝子) の特定塩基配列に結合する二種類の Primer を大量に入れておきます。すると、図 8 のように、これらの Primer は増幅を目的とする遺伝子上に決まった間隔、すなわち二点確保で特異的に結合します。この二点確保により PCR は CRISPR-Cas (後述) より特異性が高いはずですが、PCR Primer の塩基配列はコロナウイルスの塩基配列の相補配列です。この Primer の結合は約 60°C でなされ、このステップを Annealing (再生) と呼びます。次のステップは Extension (伸展) で DNA Polymerase (DNA 合成酵素) で相補鎖を合成します。PCR で使われる DNA Polymerase は RNA Reverse Transcriptase と同じように Primer との二本鎖が終わる点から相補鎖の合成を開始します。Extension はこの酵素の適温 72°C でなされますが、それは DNA Polymerase が高温の温泉源で見つかった耐熱細菌から分離した酵素で、95°C の Denaturing ステップに耐えることができます。この耐熱 DNA Polymerase の使用で PCR が分子生物学研究で飛躍的に進みました。コロナウイルスのパンデミック

中に、残念なことに PCR 検査を否定する意見が散見されましたが、経験のある科学者が注意深く手順を設定すれば技術的には問題は無いはずで、特に Primer Design が大事で Primer の target DNA に高い特異性で結合するよう設計すれば信頼性は大変高いです。非特異的結合の可能性は BLAST search で予見出来ます。私は PCR を 30 年研究に使っていましたが失望した経験はあまり思い出せません。また、信頼性を高めるには複数 Primer セットを使う Multiplex PCR などの方法があります。

図 8 に示した三つのステップは第 1 サイクル (Cycle One) でこの Cycle を 30 回、40 回と繰り返し、DNA を 2 の 30 乗、40 乗増幅し、電気泳動などで同定する方法です。また、蛍光標識を使って増幅された DNA を Real Time で同定する方法もあります。2 の 30 乗は約 10 億倍でごく少量のウイルスでも検出できます。なんと 1 個のウイルス粒子でも 40 サイクルで検出可能になるとのことです。PCR の問題はこれに必要な時間です。例えば、反応液の温度変化や DNA 合成酵素反応に時間がかかります。通常 1 サイクルに数分で 30 サイクルでは 2~3 時間かけますが、コロナウイルス PCR では 1 時間程度にできるよう工夫されています。例えば Annealing と Extension を一定温度でワンステップにすることなどです (文献 5)。しかし、抗原検査のように分単位にはなりません。それに PCR は Thermal Cycler と呼ばれる機器が必要で手軽に実施出来ません。しかし、PCR 検査能力強化のため、検体前処理、PCR、データ分析などをロボットで自動化すれば一度に何千の検体を処理できます。理想的には制圧可能な流行初期に感染地域の全員を検査して潜在感染者を 100% 捕捉・隔離、少なくとも 70% すれば都市の封鎖や飲食店の閉鎖や自粛などは理論的には必要ないはずで、しかし、このようなことは欧米や日本などの自由・民主主義国では無理な注文でしょう。アメリカでも流行初期には PCR に抵抗があり、その重要性が為政者に理解されて広範囲に実施されるようになった時、例えば、現在カリフォルニアでは一日 30 万件 (2021 年 1 月) の検査を実施していますがウイルス制圧には手遅れの様です。

PCR 以外の遺伝子検査に LAMP、CRISPR-Cas を使う方法があります。LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) は、日本の栄研化学株式会社が 1998 年に開発した核酸増幅技術で、PCR に匹敵する感度と特異性を持っておりながら抗原検査のように短時間で出来るので非常に有用です。その上、PCR で必要な高価な機器は必要ありません。詳しくは栄研の LAMP サイトを見てください (文献 6)。最近、CRISPR-Cas のゲノム編集技術を使った PCR や LAMP に比較できる高感度で 20 分ほどで結果が判明する方法が開発されています。これも PCR のような高価な機器は必要ありませんので、治療の現場 (Point of Care) で有効です。この技術の実用化が待たれます。本技術の解説は Nature の論文を参照してください (文献 7)。

ワクチン開発

コロナウイルスのワクチン開発について The Washington Post, November 9, 2020 にとても参考になる記事 [These are top coronavirus vaccines to watch](#) がありましたのでそれを基にしてこの項目を書いています (文献 8)。従ってこの項目のワクチン開発の記述は、2020 年 11 月の状況が含まれています。ワクチン開発の話題に入る前に複雑なヒト免疫系を単純化してこの本題に必要な点のみを図 9 に示し、それによって解説いたします。ウイルスが体内に入ると白血球の一種である APC (Antigen Presenting Cell、抗原提示細胞) に取り込まれ、ウイルスタンパク質が分解され、その断片 (Viral Peptides) が APC 細胞表面に提示されて、T-Helper Cell (ヘルパー T 細胞、図上の青色) の抗原認識を誘導します。

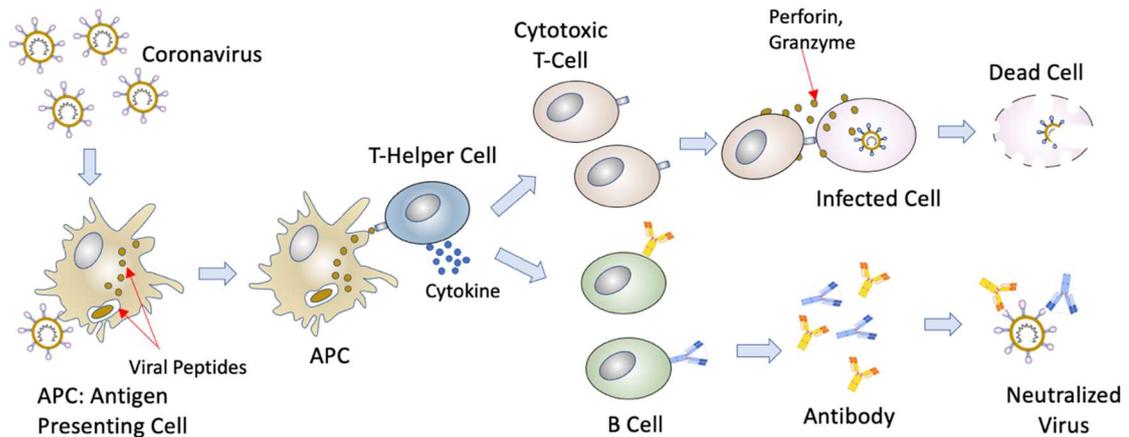


図 9. 高等動物免疫系による抗コロナウイルス反応

この T-Helper Cell は細胞間信号物質である **small peptide** (短ペプチド) でできた **Cytokine** (サイトカイン) を分泌し、免疫系細胞群に異物に対する免疫反応を起こさせます。コロナウイルスの感染で重症化する原因の一つがサイトカインストームで、感染により大過剰の **Cytokine** が放出され細胞が損傷を受けるからとされています。**Cytokine** はリンパ球の一種である T-Cell (茶色) を活性化します。活性化した **Cytotoxic T-Cell** (細胞障害性 T 細胞またはキラー T 細胞) は細胞膜に穴を穿つ作用がある **Perforin** やタンパク質分解酵素 **Granzyme** を放出して病原体に感染した細胞 (ピンク色) を殺す働きがあります。また、免疫系には別に T-Helper Cell に活性化される B-Cell (緑色) がありこれは抗体生産の役割があります。ここで重要な点は APC と T-Helper Cell が T-Cell や B-Cell を活性化するとその出来事は比較的長時間記憶されて、次に病原体が侵入すると直ちに病原体を攻撃してより多くの抗体を作ることです (ワクチンブースター参照)。

今までウイルスのワクチンは主に弱毒化 (生ワクチン) あるいは不活化された病原ウイルス (不活化ワクチン) でした。例えば、インフルエンザのワクチンは鶏の受精卵の中でウイルスを増殖して使っていました。近年バイオテクノロジーの進化によって製造可能になったウイルス遺伝子やタンパク質の利用が可能になりました。現在ではゲノムの塩基配列を驚異的な速さで解読することができますので、ウイルスの RNA、さらにはそれにコードされているタンパク質の人工合成が可能です。ワクチンや医薬の開発は **Phase System** でなされます。**Phase System** では最初に **Pre-Clinical** (動物、細胞試験)、次に **Phase 1** (第一相) を少人数の健康な若者で実施して主に安全性と接種量を検討します。続いて **Phase 2** (第二相) ではより多くの基礎疾患のある被験者を含む試験になり、それで問題がなくさらに効果 (抗体生成など) が認められれば、**Phase 3** (第三相) で何千人 (または何万人) の被験者に対する安全性と効果の試験を実施します。**Phase 3** で効果が認められ安全性が認識されれば最終認可に向かいます。**WHO** では 50%以上を効果基準と言っていますがもっと高い数値が必要だと思います (後述)。**Phase 3** では試験対象を均等に二分し、その 50%はワクチンを、残りの 50%は **Placebo** (偽薬、例えば食塩水) を接種します。**Pfizer** ワクチンの **Phase 3** は約 43,000 人の被検者で実施され、米国 **FDA** (**Food and Drug Administration**、食品医薬品局) に提出された最終結果では 170 人の感染者が見つかり、そのうち 162 人 (0.753%) が偽薬、残り 8 人 (0.0372%) がワクチン接種者でした (文献 9)。これは 95.3%の有効

率で素晴らしい結果です。特にこの文献 9 の Figure 3 は一見の価値があり、一回目接種の後 12 日目からはワクチンの顕著な免疫効果を示しています。少し遅れて Moderna の RNA ワクチンも Phase 3 の結果発表があり、Pfizer とほとんど同じ有効率でした。これらの結果で Pfizer と Moderna の RNA ワクチンはアメリカ、EU などで緊急使用認可が出て実際の投与が 12 月に始まりました。Pfizer ワクチンの接種が最も進んでいる国はイスラエルで、その保健省の 2021 年 1 月 25 日付発表では 428,000 人が既に二回接種を終え、そのうちわずか 63 人が感染したそうです。これは 0.0147% で上記の Phase 3 の結果 0.0372% に比べるとより勇気づけられる結果です。ちなみに同国、同期間の新規感染者数は国民総人口の 0.483% でした。

ワクチンの種類

この項目では表 1 にあるワクチンの種類とそれらに属する代表例を述べます。

種類	開発者	国	認可	効果*
核酸 (RNA)	Pfizer (BioNTech)	米国	済	95%
	Moderna	米国	済	95%
核酸 (DNA)	AnGes (大阪大学)	日本		
ウイルスベクター	AstraZeneca (Oxford U)	英国	済	70%
	Gamaleya	ロシア	済	91%
	Johnson & Johnson	米国		66%
	Merck	米国	開発中止	
サブユニット	Novavax	米国		89%
	大阪大学微生物病研究所	日本		
不活化ウイルス	Sinopharm	中国	済	79%
	Sinovac	中国	済	50%

表 1. ワクチンの種類と実例。効果*で複数の異なった発表数値があれば代表値を比較のため示しています。詳細は本文参照。

核酸 (DNA, RNA) ワクチン

これはコロナウイルスの Spike Protein をコードする DNA や RNA を注射してヒトの体内細胞で抗原になる Spike Protein だけを作らせる方法です。この分野ではアメリカの Moderna と Pfizer (ドイツの BioNTech と共同) があり、アメリカなどで緊急使用認可済みです。日本では AnGes (大阪大学・タカラバイオ) の DNA ワクチンが開発中です。RNA は単体では不安定で、注射後、血流から細胞に取り込まれ難いので、Pfizer のワクチンでは RNA が脂質膜の微粒子に封入されています。脂質膜は細胞膜に付着・融合して細胞内に RNA が取り込まれます。この脂質微粒子ワクチンの欠点は常温では不安定で -70°C 以下の冷凍保存が必須な点です。このような極低温は特別な冷凍庫が必要で、小規模医院で扱うのは難しいでしょう。Moderna のワクチンは幾つかのリン脂質を組み合わせた膜の微粒子を使用しており比較的安定で -20°C の保存が可能です。これは一企業研究者の見方ですが、一般に大企業のワクチン開発は治療薬に比べてリスクが多く投資を躊躇しがちです。多額の開発費を何年も続けて投資し、いざ認可を受けた時に流行が終息してしまえば投資の回収はできなくなります。しかし Moderna や BioNTech はベンチャー企業です。ベンチャー企業は一般に高リスク、高リターンのビジネスモデルでそれに投資するベンチャー基金が多くあります。Moderna はアメリカ国防省の DARPA (Defense Advanced Research Project Agency) の資金を得ており、このワクチンの開発は政府支援の軍事 (安全保障) 研究の一環と言えます。Pfizer のコロナワクチンの開発は自己資金だそうです。多分 BioNTech の成果

があったからでしょう。それに政府がワクチンの買い取りを保証しているのも企業の後押しになったはずです。

ウイルスベクターワクチン

これはコロナウイルスとは無関係のウイルスベクターにコロナウイルスの遺伝子を導入してヒトの体内(細胞内)でコロナウイルスの抗原を作る方法です。このベクターウイルスは病原性がないので比較的安全と考えられています。問題はこのベクターウイルスにヒトが免疫反応を起こす可能性です。この分野ではイギリスの AstraZeneca (Oxford University と共同)、アメリカの Johnson & Johnson、中国の CanSino 及びロシアの Gamaleya Research Institute (Sputnik V) があります。AstraZeneca の試験では健康問題が発生して一時的に試験が中断されましたが、その後また再開され(安全性は後述) Phase 3 が終了、結果が発表されました。また、ロシアの Sputnik V は Phase 3 の結果を待たずに使用され始めました。他に Merck も麻疹や口内炎のウイルスを使ったベクターワクチンを開発していましたが、効果不足で 2021 年 1 月に中止になりました。一般にベクターワクチンは Pfizer や Moderna の RNA ワクチンに比べ効果が低いようです。例えば、Johnson & Johnson のベクターワクチンは一回注射ですが、国際的な Phase 3 の結果で有効率は平均 66%と発表されました(2021 年 1 月 29 日)。AstraZeneca のベクターワクチンの Phase 3 での効果は平均 70%とされていますが、一回目の接種量が過誤で半分になった被験者 2741 人に対する有効率 90%と、8895 人の被験者でなされた全量接種の有効率 62%の平均で、本当の有効率は 62%とするのが正しいかもしれません。その上、この AstraZeneca ワクチンは南アフリカ変異種 (B.1.351、E484K) に対する有効率が 22%に低下して南アフリカでの使用が中止されました(2021 年 2 月 7 日)。しかしこれらのベクターワクチンは通常の冷蔵庫で数ヶ月保存可能でその点ではより実用的とされています。

サブユニットワクチン

これはウイルスの核酸のない殻か、遺伝子工学で作ったウイルスタンパク質(コロナウイルスの場合は Spike Protein)を抗原としてワクチンに使います。Spike Protein は糖タンパク質なので普通の遺伝子組み換え細菌では製造できません。糖タンパク質は培養細胞か酵母菌が必要で大量培養は、特に培養細胞では難しく高価になります。アメリカの Novavax の Spike Protein サブユニットワクチンは二度接種が必要ですが、Phase 3 で 89.3%の効果があり、イギリスや南アフリカの変異株にも有効であると発表されています(2021 年 1 月 29 日)。Novavax はアメリカ政府より 16 億ドルのワクチン開発資金援助を受け取ったそうです。大阪大学微生物病研究所は 2020 年 11 月時点で Pre-Clinical だそうです。また、どこかで塩野義製薬がやっていると聞きましたがこの Washington Post の記事にはありませんでした。私も細胞培養で Receptor Protein を作る仕事をやっていましたが、技術は確立されており、1 から 2 ヶ月もあれば実験システムの構築は可能です。この種類のワクチン例としては B 型肝炎ワクチンがあります。

弱毒化および不活化ウイルスワクチン

これはコロナウイルスを細胞培養で増殖して不活化する方法で、中国の Sinopharm や Sinovac のワクチンがあります。これら不活化ウイルスワクチンの効果は発表数値が RNA ワクチンのように一定ではなく、概してインフルエンザの不活化ウイルスワクチンのように 50~70%台です。この種類のワクチンは大阪大学微生物病研究所でもやっているそうです。コロナウイルスは重症化や死亡率が高いのでこの様なウイルスを大量培養するのは大変危険だと思います。確か中国で動物ワクチンの病原体

が工場から漏れて、何千人の住民が感染したニュースがあったと思います。それに弱毒化や不活化が不十分であればこれも危険です。

集団免疫によるパンデミック終息のためには高いワクチン接種率が重要です。人口の 70%が免疫獲得すれば終息に必要な集団免疫が達成されるとすれば、ワクチン効果が 90%でも住民の 77%にワクチン接種が必要になります。効率 70%のウイルスベクターワクチンでは 100%接種が必要です。これほど多くの住民がワクチンをたとえ無料でも受け入れるか疑問です。安全性 (後述) と効果を考え合わせると私は核酸ワクチンかサブユニットワクチンの方が良いのではと思います。特に **Pfizer** や **Moderna** の RNA ワクチン、**Novavax** のサブユニットワクチンは 90%以上かそれに近い有効率で希望はあります。ワクチンの効果の持続性は未知ですが、一度コロナウイルスに感染すると免疫が少なくとも 8 ヶ月持続することが 2021 年 1 月 6 日付の *Science* (文献 10) に発表され、患者の抗体 (B-Cell) のみならず T-Cell も調べていますので注目されています。

ワクチンの安全性

Pfizer や **Moderna** の RNA ワクチンは約 1 ヶ月を隔てて 2 度注射します。これは動物で抗体を作る経験ですが、一回目で免疫系を刺激して APC や T-Helper Cell で B-Cell による抗体の生成を促し (準備させる)、2 度目の注射で B-Cell を増殖させて大量の抗体を作らせます。この 2 度目の注射が **Booster Shot** (効能促進剤) です。また、動物で抗体を作る場合ですが、抗原を鉱物油と混ぜて筋肉に注射して抗原が長く体内にとどまるようにします。このような物資を **Adjuvant** (抗原性補強剤) と言います。さらに、**Adjuvant** に結核菌の細胞膜を加えるとさらに大量の抗体が出来ることがわかっています。結核菌の細胞膜は糖タンパク質を多く含んでおりそれが免疫系を刺激するのです。一般に病原性細菌の膜には糖タンパク質が含まれており、病原体が体内に侵入して免疫系が初めて出会うのが膜の糖タンパク質で、それで免疫系が刺激されるのは理解できます。ちなみにコロナウイルスの **Spike Protein** も糖タンパク質です。これで結核のワクチンである **BCG** (不活化結核菌) を過去に接種された集団はコロナウイルスに感染しにくいとされているのでしょう。この話は癌治療に提唱されている結核菌由来の丸山ワクチンと同じように更なる解明が必要です。ワクチンの添加物として昔は病原体そのものをワクチンに使っていましたがそれを不活化するのにホルムアルデヒドや水銀化合物など危険な化学薬品を使っていました。また、病原体ワクチンは必要な抗原 (例えば膜タンパク質など) のほかに病原体からくる多種の物質が混ざっており、それらのいずれかがアレルギー反応を起こす可能性は想像できます。よく知られている例はアメリカのインフルエンザウイルス不活化ワクチンで 1979 年に大規模にワクチンを接種した時、**Guillain-Barré Syndrome** (ギラン・バレー症候群) と言う全身麻痺の重大な副作用 (副反応) が発生して大問題になりました (文献 11)。同じような例が、ごく稀ですが **AstraZeneca** のアデノウイルスでコロナウイルスの **Spike Protein** を発現させるベクターワクチンでも臨床試験中にあったと報告されています (文献 12)。これは注意が必要だと思います。ちなみに今のインフルエンザワクチンはサブユニットワクチンもあるようです (文献 13)。**Novavax** のサブユニットワクチンはサポニンが **Adjuvant** として添加されていますが、懸念される重大な副反応の報告は今のところ見つかっていません。大規模な接種が始まると問題が出るかもしれません。

Pfizer や Moderna のコロナウイルスワクチンは核酸 (mRNA) ワクチンですが、それには polyethylene glycol (PEG) (安定剤か?) が入っており、稀ですが、それで anaphylaxis (アナフィラキシー) という危険なアレルギーショックを起こすのではとの見解が報告されています (文献 14)。この PEG は多くの医薬品や化粧品に配合されており、大多数の使用者は抗体を持っていると考えられます。この PEG が含まれる医薬や化粧品にアレルギーの人はこのワクチンを避けなければならないでしょう。女性に Pfizer ワクチンに対するアナフィラキシーが多いのは化粧品を使うからかも知れません。2021 年 1 月 12 日付 New York Times がフロリダの 56 歳の産婦人科医が Pfizer のワクチンを受けて 16 日後に血小板の減少 (消滅) によると考えられる脳出血で亡くなったと報道しました (文献 15)。Pfizer はワクチンとの関係は無いと言っていますが調査中で、米政府機関もこのケースを検証中とのこと。ワクチンの脂質膜に対する異常免疫反応が血小板を攻撃した可能性も考えられます。今後ワクチンの接種が進むとこのような例が起こる可能性は否定出来ないと思います。偶然か本当にワクチン副反応の結果か、科学的な調査が必要です。

ウイルス阻害薬

細胞がウイルスに感染するとウイルス RNA が細胞内に注入され、それからウイルスの RNA-dependent RNA polymerase (RNA 依存性 RNA 複製酵素、NSP12) で自身の RNA を複製します。これは DNA 合成の様に一本鎖 RNA を鋳型として、それに相補的なもう一方の RNA 鎖を合成する酵素です。この RNA 複製酵素はウイルス特有の酵素で、その活性を阻害すればウイルスは増殖しません。アビガン (Avigan、Favipiravir) やレムデシベル (Remdesivir、Veklury) はその RNA 複製酵素の阻害剤です。両方とも核酸の基本単位であるヌクレオチドによく似た構造を持っています。アビガンは経口投与できますが、トランプ前大統領に使われたとされるレムデシベルは注射で投与されます。レムデシベルは体内で急速に代謝され活性のある物質に変換されます。この活性化物質は比較的安定ですが、毎日の注射が 5 日間必要です。両方の薬とも昔の (現在も?) 抗がん剤のようなヌクレオチドの類似物質なのでそこから予想される副作用があるかもしれません。

注目のコロナウイルス阻害薬候補はスペインの薬品会社 PharmaMar が海産動物ホヤの一種、学名 *Aplidium albicans* から抽出した plitidepsin (商品名 Aplidin) です。Aplidin は抗がん、抗ウイルス作用があり、コロナウイルスに対してレムデシベルの 30 倍の効果があるとの論文が発表されました (文献 16)。作用機作は宿主のタンパク質合成に関わる eEF1A (Elongation Factor 1A) を阻害してコロナウイルスが増殖に eEF1A を利用するのを抑制する作用です。

他に効果のある、または、あると論理的に考えられる治療薬は RNAi (RNA interference) です。RNAi はウイルスの一本鎖 mRNA に相補的な塩基配列を持つ RNA でこれが mRNA に特異的に結合し二本鎖を構成し、ウイルスの RNA 複製を阻害します。この RNAi の原理は 2006 年にスタンフォード大学の Andrew Fire とマサチューセッツ大学の Craig Mello がノーベル賞を授与された仕事です。前項で述べたように、現在、迅速・安価なゲノム解析が可能で、ウイルス RNA の塩基配列が判明すればそれに相補的な RNA の合成は即座に可能です。現在 RNAi は色々の分野で応用されています。RNAi を使ったコロナウイルス阻害剤の研究について文献検索をすると多数の論文が見つかりますのでそのうちニュースで聞くかもしれません。今日の患者には間に合

いませんが、将来期待が持てそうです。ただ患者の感染細胞、例えば、肺細胞に効果のある Drug Delivery (薬物送達) が必要でしょう。

抗体治療薬

ここまでワクチンを接種して抗体を体内で作って病気を防ぐ方法を述べましたが、ワクチン接種前に感染すればこの方法は間に合いません。そこであらかじめ抗体を工場で作ってこれを患者に投与することができます (図 10)。

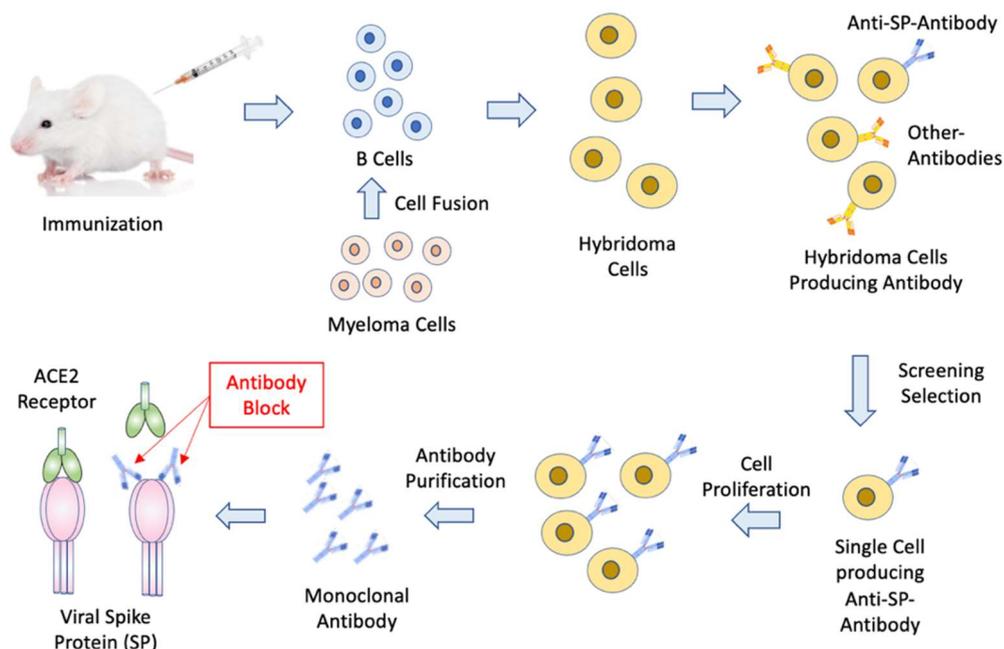


図 10. モノクローナル抗体の調製

体内に侵入した数々の病原体、タンパク質 (例えば小麦のタンパク質)、その他の化学物質等が抗原になる可能性があります。B-Cell はそれぞれの抗原に対応する抗体を作ります。そこでこの新型コロナウイルスに対する抗体を作る B-Cell を見つけ、それを単離し、単離された B-Cell が作る抗体がモノクローナル抗体です。クローン (Clone) とは単一個体を複製する (動詞)、または、その個体そのもの (名詞) の意味ですが、我々は特定の単一遺伝子が入った細胞を分離・培養する意味にも使います。B-Cell は実験室 (体外) での人工培地では増殖し難いので、それを分離・培養、即ち、クローン化するには図 10 のような特別な方法が必要です。マウスを抗原 (Spike Protein) で免疫し (Immunization)、B-Cell (図の青色) を集めて癌細胞 (Myeloma Cell 骨髄腫細胞、燈色) と融合細胞を作ります (Cell Fusion)。この融合細胞を Hybridoma (茶色) と呼びます。コロナウイルスに対する抗体を産出する Hybridoma 細胞の Screening と Selection (検索・選択) は蛍光標識された抗原を使って FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting) で出来ます。そこでこの Hybridoma をタンクで大量培養してそこから抗体を精製します。最初にマウスを免疫しますが、このマウスはヒトの抗体を作るように遺伝子組換えされておりその抗体を生産します。近年抗体医薬が急速に発展して 2019 年では 1,500 億ドルの売り上げで、2025 年には倍になると予測されています (文献 17)。これは有効性と安全性が確立しているからではないでしょうか？抗体は抗原に結合してその抗原を持つ病原体を中和しますが、抗原がコロナウイルスの Spike Protein であれば、それに抗体が結合すると Spike Protein と感染者の細胞の ACE2 との

結合が阻害され、ウイルスは細胞内に侵入できません (図 10 左下、赤字で示された Antibody Block)。Spike Protein のような巨大分子の場合その複数の部位に対する抗体が可能で、そこで Spike Protein の構造上 ACE2 に結合する箇所を特定して、その部位を特異的に遮断するモノクローナル抗体が望まれます。また、複数のモノクローナル抗体を組み合わせることによってより効果のある抗体治療薬を作るのです。

高等動物は病原体に攻撃されると、その抗原タンパク質を分解して、そのペプチド断片に対して抗体を複数作り血液に分泌します。それで病気から回復した人の血漿からこのポリクローナル抗体を分離して使う方法があります。ポリクローナル抗体のポリは複数の意味です。これは患者の血液の提供が必要であり効率の良い方法とは思えません。それにヒトは今まで経験した多くの抗原、即ち、病原体だけではなくその他のタンパク質、例えば小麦グルテンに対する抗体を持っている可能性があります。血漿からコロナウイルスに対する抗体のみを精製する技術はありますがポリクローナル抗体薬に使われているとは思えません。しかしポリクローナル抗体の利点もあります (図 11)。

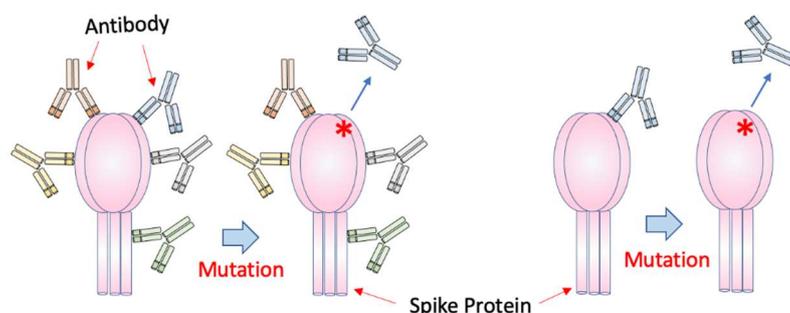


図 11. ポリクローナル抗体 (左) とモノクローナル抗体 (右)。要点提起のため抗体のサイズは Spike Protein より小さくなっています。

図 11 では抗原は Spike Protein (図のピンク色) で Antibody (Y 字型) は抗体です。この図に示すようにポリクローナル抗体は一つの抗原に複数抗体が結合し (図左)、抗原の一箇所にしか結合しないモノクローナル抗体 (図右) より効率が良いと言えます。もしモノクローナル抗体が結合する場所に変異 (Mutation) が起これば抗体は変異箇所 (図赤 * 印) に結合できない可能性があります。その点、ポリクローナル抗体は図左のように複数の抗体が結合しますので致命的な問題にはなりにくいのです。それで Regeneron のモノクローナル抗体は二種類の抗体を組み合わせています。しかし、ワクチンがあれば投与によって自身がポリクローナル抗体を作りますのでこのような他人から作った抗体薬の必要性はないと思います。

ウイルスの変異

ウイルスのみならずあらゆる生物種のゲノムには変異が常に起こっています。特にコロナウイルスは遺伝情報が一本鎖 RNA にコードされていますのでより安定な二本鎖 DNA を持つ高等生物に比べて変異の頻度は高くなります。変異は RNA の複製の時、無作為に起こり環境に適応しない変異は淘汰されますが、環境に適応する変異は増殖、拡散する可能性があります。そこで感染者のウイルスのゲノム解析で今この変異株が蔓延しているのかを調べるのが感染対策に重要です。このウイルスのゲノム塩基配列は中国で初めて決定されました。中国で患者の気管から分離されたウイルスを次世代シーケンサー (NGS、Next Generation Sequencer) を使って新型のコロナウイルスと判定したとのこと (文献 18)。次世代シーケンサーはバイオテクノ

ロジの革命児で、例えば、以前ヒトのゲノム全塩基配列を決めるのに 15 年と 30 億ドルが必要だったのが、次世代シーケンサーでは約 1000 ドルで、2~3 日で出来る優れものです。その後、世界中でコロナウイルスのゲノム解析がなされており多数の変異株が見つかっています。ゲノム解析の国際協力がコロナウイルスのデータをまとめているのでこのサイト (Nextstrain) で見る事ができます (文献 19)。このウイルスのパンデミックは中国・武漢の後、ヨーロッパで爆発的な流行が起こり、さらにニューヨークに移りました (図 12)。

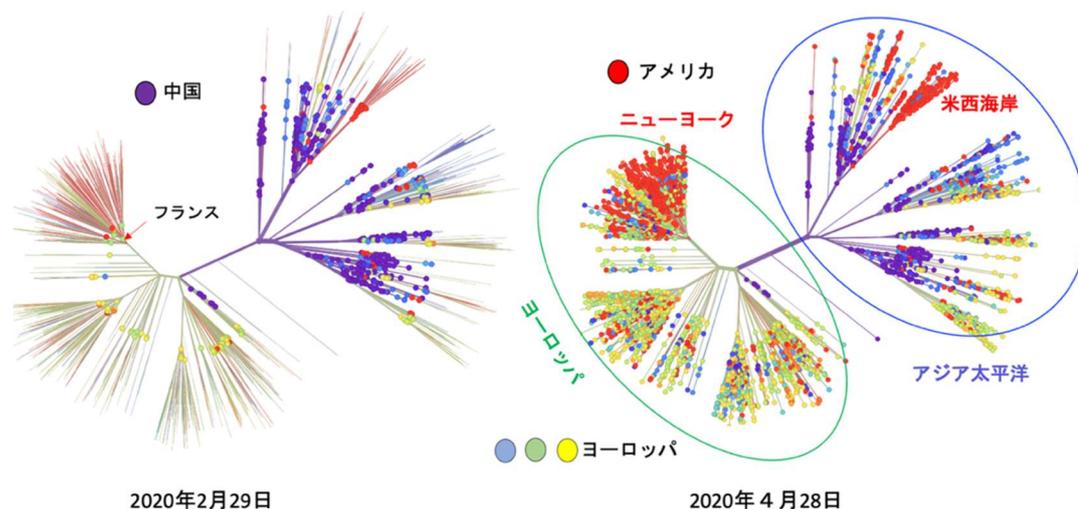


図 12. コロナウイルス変異株の系統樹 (系統樹は Nextstrain より引用)

これらの爆発的な流行は同一、または類似の高感染率変異株によって起こったと考えられています。そこで感染がヨーロッパに拡大する前の 2 月 29 日とそれからヨーロッパやニューヨークで感染が広がった 4 月 28 日を見てみますと、ヨーロッパで見つかった株と中国を中心としたアジア太平洋の株が異なっているのが分かります。また、この図 12 の系統樹は変異株クラスターの起源を示唆しています。中国からイタリアやフランスに入った変異株はそれぞれ進化して、そのうちフランス系がニューヨークで猛威をふるった感染率の高いクラスターになったようです。一方、中国でパンデミック初期に多く分離された株はおそらく感染率や死亡率がヨーロッパ株より低く、それがアジアで広がり、さらに、アメリカで中国との関係が特に深い西海岸に到達した可能性を示しています。このように少なくとも 2020 年初夏まではアジア太平洋とヨーロッパやニューヨークではっきり変異株の系統が異なっており、それが流行の違いに現れたと思います。私はこの系統の違いを Nextstrain サイトで 2020 年 5 月ごろ見つけた時、ニューヨークの爆発的な流行はヨーロッパ系変異株が原因と考えましたが、果たして、このヨーロッパ系変異株は Spike Protein に D614G (614 番アスパラギン酸 D がグリシン G) の変異があり、肺細胞を使った実験で感染性が高いことが判明しました (文献 20)。この D614G は Spike Protein の ACE2 に結合する部位から離れており、ACE2 結合親和性上昇より結合後に起こる Spike Protein の構造変化で細胞内侵入を促進する可能性があります (文献 21)。

次に、最近イギリスで見つかった『感染性の強い』とされている変異株 (B.1.1.7) について考察します。感染率の高い G614D 変異株がニューヨークで爆発的な感染を起こしたように、2020 年 11 月頃よりの世界的第 3 波流行はこの新規のイギリス変異株か、それ以外の未知の高感染性株が原因かも知れません。より多くの分離株の遺伝

子解析を実施することが必要です。2021年1月時点で、この Nextstrain サイトによればアジアでも韓国、香港やシンガポールでイギリス変異株がかなり見つまっているようです。Nextstrain ではなぜか日本のデータは少なく現状はこのサイトで見る限り分りません。イギリスでのこの変異株の感染性が高い根拠は60%から70%の新規感染者がこの変異株を持っているからとのことです。本当に感染性が高いかどうかは決まった量のウイルスを実験室で与えて感染率を調べるのが本道です(前述の Dose-Response)。しかしながらこのような実験は人間では不可能で、代わりに細胞を使って調べる方法があります。しかし、細胞を使った実験も注意が必要です。サルの腎臓から分離された VERO 細胞はコロナウイルスに対して感受性が高く、この細胞を使ってマラリアの治療薬である Chloroquine や Hydroxychloroquine がコロナウイルスに効くとされた中国での研究がマスメディアで広く報道されました(文献 22)。問題はこれらの医薬品がコロナウイルス感染患者に使われ、効果がないばかりか不幸にも治療されず死亡率が上昇したことです。サルの VERO 細胞はヒトの細胞と違ってコロナに感染する過程(作用機作)が異なっており、ヒトの肺細胞を使った実験ではこれらの化合物は効かないことがドイツの研究でわかりました(文献 23)。このような例は特にコロナウイルス禍に関しては多くあるように思います。そこでマスメディアの報道を理解するには関係論文を検索して報道の根拠を調べると共に、論理的な考察が重要です。

このイギリス変異株の Spike Protein の変異のうち、特に注目すべきは H69 (ヒスチジン) と V70 (バリン) の欠落です。これらの変異は感染率を上げるのに関与しているとした論文があります(文献 24、2021年1月時点で査読前)。その他の変異で注目すべきは N501Y (501番のアスパラギン N がチロシン Y) の変異です(図 13)。N501Y 変異(図 13 赤丸)は Spike Protein (図上 SARS CoV2 とラベル) が ACE2 に結合する部位(RBM、Receptor Binding Motif) にあり、変異後より強い結合になった可能性があると思います。図 13 では ACE2 の分子を緑で Spike Protein は紫で表示しています。チロシン (Y) はタンパク質同士の相互作用(例 Receptor との結合) 部位に頻繁に見られます。

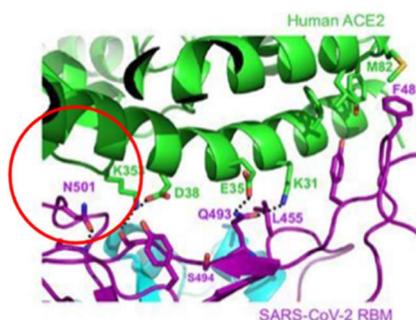


図 13. Spike protein と ACE2 の結合部位(文献 25 から転載)

Spike Protein 中のアミノ酸変異がワクチンの効果に影響を及ぼす可能性を論理的、科学的に推論することは可能だと思います。コロナウイルスワクチンは Spike Protein が標的でこれに対する抗体はポリクローナル抗体と考えられます。すなわち抗原の複数箇所に対する抗体の混合物でその一つがアミノ酸の変異で抗原に結合出来なくても、その他の抗体群が有りますので多分大丈夫でしょう。今のところはどの意味です。果たして Pfizer と Moderna の RNA ワクチンはワクチン接種後の抗体検査でこの変異株に有効であったとの発表がありました。将来多くの変異が起こればそのうち現在のワクチンは効かなくなるかもしれません。この状況に打ち勝つためには出来るだけ早く、大多数の国民へのワクチンの投与が必要です。そうすればコロナウイルスはさらに変異することなく終息する筈です。RNA ワクチンはアメリカや EU など

で認可されて、すでにアメリカのみで5200万人以上に投与されて、人口の11%が一回、4%が二回接種済みです(2021年2月15日)。日本では2ヶ月遅れて2021年2月14日に認可されたようです。一方、ワクチンの安全性に疑問を持っている人がいるようで残念です。100%安全なワクチンはありませんが、経済がこのウイルスで大変なことになっているのと、次々と重症者や死者が出ているので冷静な Risk-Benefit 分析がなされるべきと思います。日本では2021年1月末までのわずか11ヶ月で32万人が感染し6000人が亡くなり(文献26)、経済産業省のレポートでは日本の経済損失は何とGDPだけで30兆円を越すとのことです。私のいるアメリカではすでに第二次大戦の死者数を越え、第3波では30秒に一人死んでいます。本当に大変です。

終わりに

この考察がお役に立てる事を心より願っております。引用注が無い図は著者の原作で研究会の許可を得て転載可能です。引用注のある図の転載は出典を確認してください。この考察は Bacillus Tech LLC (有限会社)のコンサルタントとしての考えで必ずしも当研究会の見解とは限りません。ご了承下さい。最後になりますが、この原稿を親切にレビューしていただいた神戸大学大川秀郎名誉教授、熊本大学三浦冽名誉教授に心より感謝いたします。さらに投稿の機会を与えてくださり、原稿の校正をいただいた当研究会上田宏会長並びに事務局の方々に深く感謝いたします。

著者略歴

山本敬司 (やまもと たかし)
大阪大学理学部生物学科卒業、同大学院生化学研究科修士・博士課程修了、理学博士
University of California, Berkeley, Post-doctoral Fellow
U.S. Department of Agriculture, Research Scientist
Shell Chemicals, Research Scientist
University of Cambridge, Department of Biochemistry, Visiting Scientist
Sandoz Agro, Research Manager
Maxygen, Senior Research Scientist
DuPont Pioneer, Research Fellow
Bacillus Tech LLC, a consulting company, owner
email: egano249@gmail.com

参考文献 (all hyperlinks were validated on 2-9-21)

1. Dose-response relationships for environmentally mediated infectious disease transmission models
<https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1005481>
2. Aerosol emission and super emission during human speech increase with voice loudness. <https://www.nature.com/articles/s41598-019-38808-z>
3. 感染対策としての呼吸用防護具 https://square.umin.ac.jp/fittest/pdf/ft_text.pdf
4. Performance of an Antigen-Based Test for Asymptomatic and Symptomatic SARS-CoV-2 Testing at Two University Campuses Wisconsin, September–October 2020
<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm695152a3.htm>
5. RT-qPCR Testing of SARS-CoV-2: A Primer
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7215906/pdf/ijms-21-03004.pdf>
6. Eiken Genome Site <http://loopamp.eiken.co.jp/lamp/principle.html>

7. Ultrasensitive and visual detection of SARS-CoV-2 using all-in-one dual CRISPR-Cas12a assay <https://www.nature.com/articles/s41467-020-18575-6>
8. These are the top coronavirus vaccines to watch <https://www.washingtonpost.com/graphics/2020/health/covid-vaccine-update-coronavirus/>
9. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2034577?query=featured_home
10. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection <https://science.sciencemag.org/content/early/2021/01/06/science.abf4063>
11. The Public Health Legacy of the 1976 Swine Flu Outbreak <https://www.discovermagazine.com/health/the-public-health-legacy-of-the-1976-swine-flu-outbreak>
12. NIH 'Very Concerned' About Serious Side Effect in Coronavirus Vaccine Trial <https://khn.org/news/nih-and-fda-examine-serious-side-effect-that-surfaced-in-covid-vaccine-trial/>
13. Traditional and New Influenza Vaccines <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3719499/>
14. Suspicions grow that nanoparticles in Pfizer's COVID-19 vaccine trigger rare allergic reactions <https://www.sciencemag.org/news/2020/12/suspicious-grow-nanoparticles-pfizer-s-covid-19-vaccine-trigger-rare-allergic-reactions>
15. Doctor's Death After Getting the Covid-19 Vaccine Is Investigated <https://www.nytimes.com/2021/01/12/health/covid-vaccine-death.html>
16. Plitidepsin has potent preclinical efficacy against SARS-CoV-2 by targeting the host protein eEF1A <https://science.sciencemag.org/content/early/2021/01/22/science.abf4058>
17. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases <https://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12929-019-0592-z>
18. 中国・新型コロナ「遺伝子情報」封じ込めの衝撃 <https://toyokeizai.net/articles/-/334358>
19. Nextstrain SARS-CoV-2 Resources <https://nextstrain.org/ncov>
20. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2895-3>
21. SARS-CoV-2 viral spike G614 mutation exhibits higher case fatality rate <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijcp.13525>
22. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro <https://www.nature.com/articles/s41422-020-0282-0>
23. Chloroquine does not inhibit infection of human lung cells with SARS-CoV-2 <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2575-3>
24. Recurrent emergence and transmission of a SARS-CoV-2 Spike Deletion dH69/dV70 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.12.14.422555v2.full.pdf>
25. Structural studies offer glimpse of how coronavirus initiates human cell invasion. <https://www.chemistryworld.com/news/structural-studies-offer-glimpse-of-how-coronavirus-initiates-human-cell-invasion/4011452.article>
26. Worldometers <https://www.worldometers.info/coronavirus/>