

**特集：感染症の診断と制御****新型コロナウイルスとインフルエンザウイルスの基礎**

駒 貴 明

徳島大学大学院医歯薬学研究部微生物病原学分野

(令和6年3月25日受付) (令和6年4月17日受理)

**はじめに**

2023年5月に新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が5類感染症に移行した。流行初期と比較して致死率は低下したが、強い感染力のため今後も新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は変異を繰り返しながらヒトの間で感染し続けると考えられる。COVID-19以外にも、近年、H1N1新型インフルエンザ、H5N1鳥インフルエンザ、中東呼吸器症候群、エボラ出血熱 (エボラウイルス病)、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、ジカ熱が新興再興感染症として社会的に問題となっている。これらは共通して、RNA ウイルスが原因となる感染症である。本稿ではRNA ウイルスの中でも特に日本の臨床でよく目にする、SARS-CoV-2とインフルエンザウイルスについて取り上げ、両ウイルスの複製過程や抗ウイルス薬の作用機序などについての基礎知識を概説する。

**RNA ウイルス**

ウイルスは粒子の中に有するゲノムがDNAかRNAかの違いによって、DNAウイルスとRNAウイルスに大別される。またウイルスはmRNAの合成様式の違いによって7つの群に分けられる (ボルティモア分類)。詳細は良書に譲るが、SARS-CoV-2が含まれるコロナウイルス科は第4群 (プラス鎖一本鎖RNAウイルス)、インフルエンザウイルスが含まれるオルソミクソウイルス科は第5群 (マイナス鎖一本鎖RNAウイルス) に分類される。両ウイルスともRNAウイルスであるが、RNAウイルスは社会的に問題となることが多い。現在、各国が優先すべき研究開発対象疾患に指定している感染症も、バクテリアを除き全てRNAウイルスに起因するものである<sup>1)</sup> (表1)。ではなぜ、RNAウイルスが社会的に問題となることが多いのか。その要因の一つ

は、DNAウイルスと比較して、RNAウイルスは変異を起こしやすいためである。DNAウイルスの変異率は $10^{-8-6}$ 変異/ヌクレオチド/細胞感染であるが、それに対してRNAウイルスの変異率は $\sim 10^{-6-4}$ 変異/ヌクレオチド/細胞感染と100倍程度高くなる<sup>2)</sup>。これはRNAウイルスが複製の際に使用するRNAポリメラーゼには、複製ミスを修正する校正機能が備わっていないためである。コロナウイルスは例外的に、校正機能を担うエキソヌクレアーゼ (ExoN, nsp14) を有しており、RNAウイルスの中では変異しにくい部類だが、DNAウイルスと比べると変異率は高い ( $10^{-6}$ 変異/ヌクレオチド/細胞感染)<sup>3)</sup>。この高い変異率は、ウイルスが環境の変化に適應することを可能にする。具体的には、薬剤耐性ウイルスや免疫逃避ウイルスの出現、宿主域の拡大などが例として挙げられるが、いずれもインフルエンザウイルスとSARS-CoV-2にも認められる特徴である。両ウイルスともヒト以外の動物からヒトに感染し、ヒトでの増殖、伝播に適應したウイルスである。さらにわれわれ人間が、膨大な時間と労力を費やして開発した新薬やワクチンにもいとも容易く適應することがしばしばある。これが、RNAウイルスが度々問題となる理由である。

**インフルエンザウイルスの基礎ウイルス学**

インフルエンザウイルス粒子は直径100nm前後の球状で、外側には宿主由来の脂質二重膜 (エンベロープ) を有する。インフルエンザウイルスは抗原性の違いによってA型~D型に分けられ、このうちヒトの間で流行し問題となるのがA型インフルエンザウイルス (IAV) である。インフルエンザウイルスのマイナス鎖一本鎖のRNAゲノムはA型とB型は8本、C型とD型は7本に分かれている。エンベロープには受容体結合を担うヘマグルチニン (HA) と、子孫ウイルスが細胞

表 1. 優先すべき研究開発対象疾患

疾患名	病原体 (一般名)	豪州 (2022)	米国 (2022)	英国 (2020)	WHO R&D Blueprint (2018)	CEPI (2020)
ラッサ熱	アレナウイルス	AUS	US	UK	RDB	CEPI
MERS, SARS, COVID-19	MERS-CoV, SARS-CoV, SARS-CoV-2	AUS		UK	RDB	CEPI
エボラウイルス病	エボラウイルス	AUS	US	UK	RDB	CEPI
ジカ熱	ジカウイルス	AUS	US		RDB	
ハンタウイルス病	ハンタウイルス		US	UK	RDB	
クリミア・コンゴ出血熱	クリミア・コンゴ出血熱ウイルス	AUS	US	UK	RDB	
インフルエンザ	インフルエンザウイルス	AUS				
ニパウイルス感染症	ニパウイルス	AUS	US	UK	RDB	CEPI
ラクロス脳炎	ラクロスウイルス		US			
リフトバレー熱	リフトバレーウイルス	AUS	US	UK	RDB	CEPI
エンテロウイルス感染症	エンテロウイルス		US			
チクングニア熱	チクングニアウイルス	AUS	US	UK	RDB	CEPI
ペスト	ペスト菌			UK	RDB	
病原体 X					RDB	CEPI

WHO R&D Blueprint for Epidemics [文献1] Table 2 を改変  
CEPI (感染症流行対策イノベーション連合)

から離れる際に糖鎖末端を切断する酵素ノイラミニダーゼ (NA) がある。IAV の HA は18種類の亜型, NA は11種類の亜型が確認されている。カモなどの水禽類が全ての IAV 亜型を保有している。ヒトの間では H1亜型～H3亜型の IAV がよく流行し, まれに H5, H7, H9亜型の鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染する。IAV の HA は細胞への吸着の際に, 宿主細胞表面に存在する糖タンパク質に付加されたシアル酸を認識する。シアル酸は最も末端を修飾する糖鎖で, ガラクトースと結合していることが多い。HA のシアル酸認識は, シアル酸がガラクトースの6位と結合 ( $\alpha 2, 6$ 結合) しているのか, 3位と結合 ( $\alpha 2, 3$ 結合) しているのかが非常に重要である。ヒトの間で感染を繰り返した IAV は  $\alpha 2, 6$ 結合したシアル酸を認識する。一方で, 鳥の間で維持されている鳥インフルエンザウイルスは鳥の腸管上皮に豊富に存在する  $\alpha 2, 3$ 結合したシアル酸を認識する。ヒトの呼吸器のほとんどは  $\alpha 2, 6$ 結合したシアル酸が占めているが, 肺の深部には一部  $\alpha 2, 3$ 結合したシアル酸が存在していることが知られている<sup>4)</sup>。そのため, 感染した鳥と濃厚接触し, ウイルスに大量に曝露されると肺の深部までウイルスが到達し, 感染することがあると考えられている<sup>5)</sup>。H5N1亜型と H7N9亜型による鳥インフルエンザは致死率が40～50% と非常に高く, 感染症法では2

類感染症に指定されている。これまで, ヒトの間で継続して鳥インフルエンザが流行していないが, ヒトの間で流行しやすくなるためにはわずかに数アミノ酸の変異 (シアル酸認識部位と温度感受性規定部位) で十分なことが知られており, 今後も注視が必要である<sup>5,6)</sup>。

インフルエンザウイルスの複製過程を図1に示す。IAV の HA は細胞表面にある糖タンパク質のシアル酸に結合し, エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。エンドソームの成熟に伴い内部 pH が低下すると, エンベロープに存在する M2タンパク質 (イオンチャネル) を介して粒子内に水素イオンが入り込み, 粒子内の pH も低下する。この pH 低下が HA の構造変化を起こし, エンベロープ膜とエンドソーム膜が膜融合する。その後, 粒子内側にある M1タンパク質の崩壊が起こり (脱殻), 内部のウイルス RNA (vRNA) と RNA ポリメラーゼ複合体が細胞質に放出される。これらは核内へ移行し, RNA ポリメラーゼ複合体が (-) vRNA から (+) cRNA を合成し, それを鋳型に (-) vRNA を複製する。また (-) RNA からは mRNA への転写が行われる。RNA ポリメラーゼ複合体はエンドヌクレアーゼ活性があり, 転写の際に宿主 mRNA の下流10-15塩基の部分で切断し, キャップ構造を盗み (cap snatching), 自身の mRNA 合成に利用する。mRNA から翻訳されたウイ

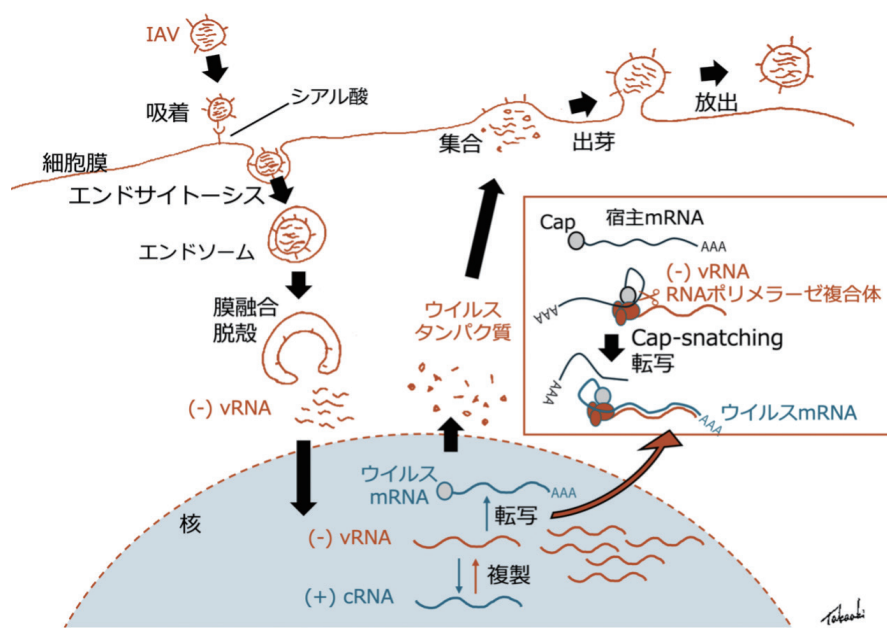


図1. インフルエンザウイルスの複製過程。吸着から放出までの複製過程を黒矢印の順に進む。紐状で示されているのはRNAである。赤色がマイナス鎖、青緑色がプラス鎖のウイルスRNA、黒色が宿主RNAを示している。ウイルス mRNA 合成時の様子を赤枠内に拡大して示す。

ルスタンパク質とvRNAは細胞膜直下に集まり、集合と出芽が起こる。最後に、エンベロープ膜のNAによって細胞表面のシアル酸を切断して放出される。

抗インフルエンザウイルス薬として代表的な3種を示す。

- 1) M2イオンチャネル阻害薬：アマンタジンはM2イオンチャネルを阻害し、ウイルスの脱殻を阻害する薬である。現在は検出されるほとんどのIAVがアマンタジン耐性株であり、抗インフルエンザウイルス薬としてあまり使用されない<sup>7)</sup>。
- 2) ノイラミニダーゼ阻害薬：タミフル、リレンザ、イナビル、ラピアクタはウイルスのNAを阻害し、結果として子孫粒子が感染細胞から放出するのを阻害する薬である。
- 3) キャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬：バロキサビルマルボキシル（ゾフルーザ）は転写のcap snatchingの際に、エンドヌクレアーゼ活性を阻害する薬である。

### SARS-CoV-2の基礎ウイルス学

コロナウイルスは粒子内にプラス鎖一本鎖RNAをゲノムとして持ち、粒子は直径120~160nmの球状であり、エンベロープを有している。このエンベロープには、受容体との結合に必要なスパイクタンパク質が含まれている。コロナウイルスゲノムは全長約30kbとRNAウイルスの中では最長級である。

コロナウイルス科にはαコロナウイルス、βコロナウイルス、γコロナウイルス、およびδコロナウイルスの4つの属が含まれている。ヒトに感染するのはαコロナウイルスとβコロナウイルス属に含まれる7種のウイルスである。αコロナウイルス属のhCoV-229EとhCoV-NL63、βコロナウイルス属のhCoV-OC43とhCoV-HKU1は風邪症候群の原因ウイルスである。βコロナウイルス属に含まれるSARS-CoV（疾患名：重症急性呼吸器症候群）、MERS-CoV（疾患名：中東呼吸器症候群）とSARS-CoV-2（疾患名：COVID-19）は重篤な呼吸器疾患を引き起こす。

次にSARS-CoV-2の細胞内での複製過程について解説する（図2）。SARS-CoV-2のスパイクタンパク質は肺胞上皮や腸管上皮などの細胞表面に発現しているACE2

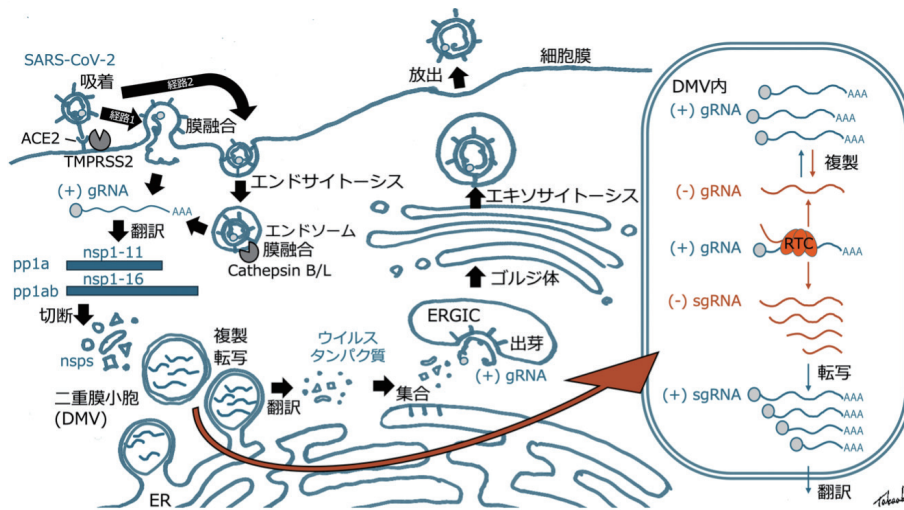


図2. SARS-CoV-2の複製過程。吸着から放出までの各ステップを黒矢印の順に進む。紐状で示されているのはRNAであり、赤色がマイナス鎖、青緑色がプラス鎖のウイルスRNAを示しているDMV内でのウイルスRNAの複製と転写の流れは図の右側に拡大して示す。

(angiotensin-converting enzyme 2) を認識し、吸着する。同じく細胞表面に発現しているセリンプロテアーゼ TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2) は、スパイクタンパク質を開裂させ、膜融合を促進する(図2: 経路1)。またSARS-CoV-2はACE2との結合後、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる経路も知られている(図2: 経路2)。この場合、エンドソーム内でシステインプロテアーゼ cathepsin B/L の作用によってスパイクタンパク質が開裂されることで膜融合が起こる。膜融合すると粒子内の(+)-gRNAが細胞質に放出され、5'末端側の巨大なORF1からポリプロテイン pp1aとprogrammed ribosomal frameshiftによってポリプロテイン pp1abが翻訳される。ポリプロテイン pp1a/pp1abはウイルス粒子には取り込まれない非構造タンパク質(nsp)であり、nsp3(PL<sup>pro</sup>)とnsp5(3CL<sup>pro</sup>/M<sup>pro</sup>)によってポリプロテインが切断される(pp1aからnsp1~11が、pp1abからnsp1~16が加工される)。Nsp3, nsp4, nsp6はER膜を改造して二重膜小胞(DMV)を作る。DMV内でnsp7, nsp8, nsp9, nsp10, nsp12, nsp13, nsp14, nsp16などは複製転写複合体(RTC)を形成し、自身のgRNAから複製と転写を行う。(+)gRNAは少なくとも10個のORFを含んでおり、3'末端側に構造タンパク質のS, E, M, Nやアクセサリタンパク質をコードしたORFが存在する。これらのORFを含む各々の(+)-sgRNAが転写され、翻訳される。

DMV内でウイルスの複製と転写が起こることで宿主免疫を回避していると考えられている<sup>8,9)</sup>。インフルエンザウイルスと異なり、SARS-CoV-2は自身のRTCに含まれるCap合成酵素によってRNAの5'末端にキャップ構造を付加する。粒子を形成する構造タンパク質(S, E, M, N)と複製された(+)-gRNAはERGIC近傍で集合して、ERGIC内腔へと出芽する。出芽後、エキソサイトーシスにより細胞外へ放出される。

抗SARS-CoV-2薬の種類について簡単に紹介する。

- 1) 中和抗体薬: スパイクタンパク質の受容体結合部位に対する抗体で、フリーのウイルスに結合し、細胞への吸着を阻害する抗体医薬である。ソトロビマブ、カシリビマブ・イムデビマブ、チキサゲビマブ・シルガビマブの3種が承認を受けている。
- 2) プロテアーゼ阻害薬: 承認されているニルマトレルビルとエンシトレルビルは3CL<sup>pro</sup>阻害薬である。
- 3) RNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)阻害薬: レムデシビルはアデノシンの核酸アナログであり、ウイルスRNA伸長中に取り込まれると、RdRpの伸長反応が停止する。元々レムデシビルはエボラウイルスに対する抗ウイルス薬として開発された<sup>10)</sup>。モルヌピラビルは核酸アナログ製剤であり、活性型のNHC-TPがウイルスRNAにCTPまたはUTPとして取り込まれる。次の複製サイクル時には

NHC-TP はグアノシン (G) かアデノシン (A) と結合するので、ここでウイルスに致死的な変異が入り効果を発揮する。

#### おわりに

本稿では日本で問題となるインフルエンザウイルスと SARS-CoV-2 について、複製過程を中心に基礎ウイルス学的知見を概説した。臨床の先生の中には、細胞内のウイルス複製過程を学び直すのは学生以来という先生も少なからずいるのではないであろうか。普段、ガイドラインに沿って投薬している抗ウイルス薬が、複製過程のどのステップを阻害しているのかを理解する一助になれば幸いである。

#### 文 献

- 1) WHO R&D Blueprint for Epidemics. Updating the WHO list of pathogens with epidemic and PHEIC potential [[https://cdn.who.int/media/docs/default-source/blue-print/rd-blueprint\\_prioritization-2022\\_concept-note\\_v.1.pdf?sfvrsn=260e4e8f\\_3](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/blue-print/rd-blueprint_prioritization-2022_concept-note_v.1.pdf?sfvrsn=260e4e8f_3)]
- 2) Sanjuán, R., Nebot, M. R., Chirico, N., Mansky, L. M., *et al.*: Viral mutation rates. *J Virol.*, **84** : 9733-9748, 2010
- 3) Bar-On, Y. M., Flamholz, A., Phillips, R., Milo, R.: SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife.*, **9** : e57309, 2020
- 4) Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., *et al.*: Avian flu : influenza virus receptors in the human airway. *Nature.*, **440** : 435-6, 2006
- 5) Watanabe, T., Watanabe, S., Kawaoka, Y.: Cutting-edge of medicine ; pandemic potential of H5N1 influenza virus. *Nihon Naika Gakkai Zasshi.*, **102** : 2705-13, 2013
- 6) Shi, Y., Wu, Y., Zhang, W., Qi, J., *et al.*: Enabling the 'host jump' : structural determinants of receptor-binding specificity in influenza A viruses. *Nat Rev Microbiol.*, **12** : 822-31, 2014
- 7) Bright, R. A., Shay, D. K., Shu, B., Cox, N. J., *et al.*: Adamantane resistance among influenza A viruses isolated early during the 2005-2006 influenza season in the United States. *JAMA.*, **295** : 891-4, 2006
- 8) Mingaleeva, R. N., Nigmatulina, N. A., Sharafetdinova, L. M., Romozanova, A. M., *et al.*: Biology of the SARS-CoV-2 Coronavirus. *Biochemistry (Mosc).*, **87** : 1662-1678, 2022
- 9) V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., *et al.*: Coronavirus biology and replication : implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.*, **19** : 155-170, 2021
- 10) Warren, T. K., Jordan, R., Lo, M. K., Ray, A. S., *et al.*: Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature.*, **531** : 381-5. 2016

## *Fundamental virology of SARS-CoV-2 and Influenza virus*

*Takaaki Koma*

*Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, Tokushima University, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

In Japan, novel coronavirus infection (COVID-19) was moved to category 5 infection in May 2023. Although the fatality rate has decreased compared to the early phase of the pandemic, the novel coronavirus (SARS-CoV-2) is expected to continue to exist among humans with repeated mutations in the future due to its strong infectious ability.

In addition to COVID-19, other emerging and re-emerging infectious diseases such as H1N1 novel influenza, H5N1 avian influenza, Middle East respiratory syndrome, Ebola hemorrhagic fever (Ebola virus disease), Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) and Zika fever have recently become public concerns. As a common feature, these infectious diseases are caused by RNA viruses. In this article, focusing on SARS-CoV-2 and influenza viruses, which are frequently seen in clinical sites in Japan, basic knowledge on the replication process of both viruses and the mechanism of action of antivirals will be reviewed.

Key words : COVID-19, SARS-CoV-2, Influenza virus, Viral replication, Antivirals