

新型コロナウイルスの細胞内増殖機構を解明

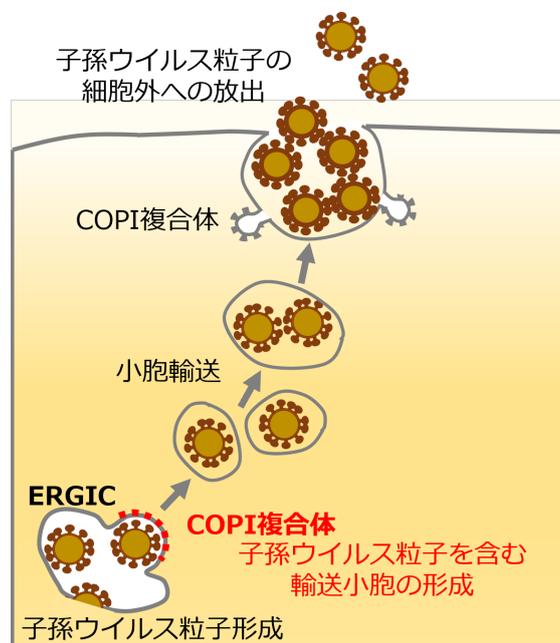
—COVID-19の創薬開発に期待—

概要

京都大学医生物学研究所 野田 岳志 教授（兼：京都大学大学院生命科学研究科 教授）、平林 愛 特定研究員、村本 裕紀子 助教、理化学研究所環境資源科学研究センター 豊岡 公德 上級技師、京都大学大学院医学研究科 野村 紀通 准教授らの研究グループは共同で、感染細胞内で形成された新型コロナウイルスの子孫ウイルス粒子が細胞外へと放出されるためのメカニズムを明らかにしました。

新型コロナウイルスは細胞で増殖する際、小胞体とゴルジ体の中間に存在する小胞小管クラスター（ER-Golgi intermediate compartment: ERGIC）で子孫ウイルス粒子を形成します。ERGICは袋状の膜構造を持ち、ERGIC膜上で形成された子孫ウイルス粒子はその内腔へと出芽し、小胞を介して細胞表面へと輸送され、細胞外へと放出された後に次の標的細胞に感染します。したがって、子孫ウイルス粒子の小胞輸送はウイルス増殖に必須のステップですが、その分子機構はこれまでほとんど明らかにされていませんでした。本研究グループは、アレイトモグラフィー法、電子線トモグラフィー法、免疫電子顕微鏡法を用いて新型コロナウイルス感染細胞の微細構造を3次元的に解析し、子孫ウイルス粒子を輸送する小胞にCoatomer complex I（COPI複合体）が結合していることを見出しました。ウイルス感染細胞においてCOPI複合体の機能を阻害すると、ERGICの内腔に子孫ウイルス粒子が滞留し、新型コロナウイルスの産生が著しく抑制されることを明らかにしました。本研究により、感染細胞内における子孫ウイルス粒子の輸送においてCOPI複合体が重要な役割を担っていることが明らかになりました。本研究成果は、COPI複合体を標的とした新型コロナウイルスの創薬開発に大きく貢献することが期待されます。

本成果は、2024年11月29日に国際学術誌「*mBio*」に掲載されました。



本研究の発見の概要 ERGIC膜上で形成されその内腔に出芽した子孫ウイルス粒子は、COPI複合体により輸送小胞へと積み込まれ、細胞外への放出に向かう。COPI複合体の機能を阻害すると、輸送小胞の形成が阻害され、ERGIC内腔に子孫ウイルス粒子が停滞し、その結果、子孫ウイルス粒子が細胞から産生されなくなる。

1. 背景

新型コロナウイルスはオルトコロナウイルス亜科に属しており、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）を引き起こします。オルトコロナウイルス亜科には、中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルスやヒト風邪コロナウイルスも分類されており、オルトコロナウイルス亜科のウイルスの細胞内増殖機構の詳細を解明することは、COVID-19 を含むヒトコロナウイルス感染症の新たな治療法や予防法を開発する上で欠かせない知見となります。

新型コロナウイルスは感染細胞内で増殖する際、小胞体とゴルジ体の中間に存在する小胞小管クラスター（ER-Golgi intermediate compartment: ERGIC）（注 1）で子孫ウイルス粒子を形成します。ERGIC は袋状の膜構造を持ち、ERGIC 膜上で形成された子孫ウイルス粒子はその袋の内腔に出芽し、小胞を介して細胞表面へと輸送されます。

しかし、どのような分子機構を介して子孫ウイルス粒子を含む小胞が形成され細胞外へと輸送されるのか、これまでほとんど明らかにされていませんでした。そこで本研究では、新型コロナウイルス感染細胞の 3 次元微細構造解析を実施し、子孫ウイルス粒子の小胞輸送機構の解明を目指しました。

2. 研究手法・成果

本研究では、新型コロナウイルス（武漢株）を P3 実験室内で培養細胞に感染させ、電子顕微鏡を用いてウイルス感染細胞の微細構造変化を経時的に解析しました。その結果、感染 12~24 時間後に子孫ウイルス粒子を含む小胞が細胞質内に形成され、ウイルスが細胞表面へと輸送されている様子が観察されました。そこで、感染 24 時間後のウイルス感染細胞の連続超薄切片を作製し、アレイトモグラフィ法（注 2）および電子線トモグラフィ法（注 3）により、子孫ウイルスを輸送する小胞の微細構造を 3 次元的に解析しました。その結果、子孫ウイルス粒子を輸送する小胞には特徴的なタンパク質がコートされていること、さらに免疫電子顕微鏡法（注 4）により、このコートタンパク質が coatamer complex I（COPI 複合体）（注 5）であることが明らかになりました。

興味深いことに、COPI 複合体の構成因子である COPB2 の発現を抑制し COPI 複合体の機能を阻害すると、新型コロナウイルスの産生が著しく低下することがわかりました。さらに、COPB2 の発現を抑制したウイルス感染細胞の微細構造を電子顕微鏡法により解析したところ、感染細胞内には子孫ウイルス粒子が形成されていたにもかかわらず、それらは ERGIC の内腔に滞留し、細胞表面へと輸送されていないことがわかりました。

本研究成果は、新型コロナウイルスの細胞内増殖において必須のステップである子孫ウイルスの小胞輸送機構の一端を解明しただけでなく、COPI 複合体を標的として新型コロナウイルスの産生を阻害する新たな治療薬の開発へと発展することが期待されます。

3. 波及効果、今後の予定

オルトコロナウイルス亜科には、MERS コロナウイルスやヒト風邪コロナウイルスなど、ヒトに呼吸器疾患を引き起こすウイルスが存在します。これらウイルスの細胞内増殖機構の多くは新型コロナウイルスと共通していると考えられることから、他のオルトコロナウイルス亜科のウイルスにおいても COPI 複合体が子孫ウイルス粒子の細胞内輸送に重要な役割を担うことが予想されます。今後、その重要性が明らかにされれば、新型コロナウイルスだけでなく、今後出現しうる未知のオルトコロナウイルスに対しても広く効果を示す新しい治療薬の開発につながることを期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学技術振興機構 CREST（課題番号：JPMJCR20HA）、日本学術振興会（Core-to-Core Program A: JPJSCCA20190008）、京都大学ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点、東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点、などの支援の下で実施されました。

<用語解説>

注 1 ER-Golgi intermediate compartment：小胞体（ER: endoplasmic reticulum）とゴルジ体の間に位置する細胞内小器官であり、小胞体とゴルジ体間を往来するタンパク質の輸送の仕分けを担う。

注 2 アレイトモグラフィー法：樹脂包埋された生物試料等から連続超薄切片を作製後、各超薄切片の同一領域を走査型電子顕微鏡にて撮影し、その連続画像を積み重ねることにより 3 次元構造を再構築する手法。

注 3 電子線トモグラフィー法：超薄切片を連続的に傾斜させながら透過型電子顕微鏡を用いて投影像（TEM 像）を撮影し、それらに逆投影法を適用して 3 次元構造を解析する手法。

注 4 免疫電子顕微鏡法：標的タンパク質抗原を特異的に認識する抗体を用いて、電子顕微鏡下で細胞内における標的タンパク質の局在を解析する手法。

注 5 coatomer complex I (COPI 複合体)：ゴルジ体から ERGIC を通り、小胞体への逆行性輸送を担うタンパク質複合体。7 種類のサブユニット (α 、 β 、 β' 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ) からなり、ゴルジ体や ERGIC から出芽した小胞上で複合体を形成し機能する。

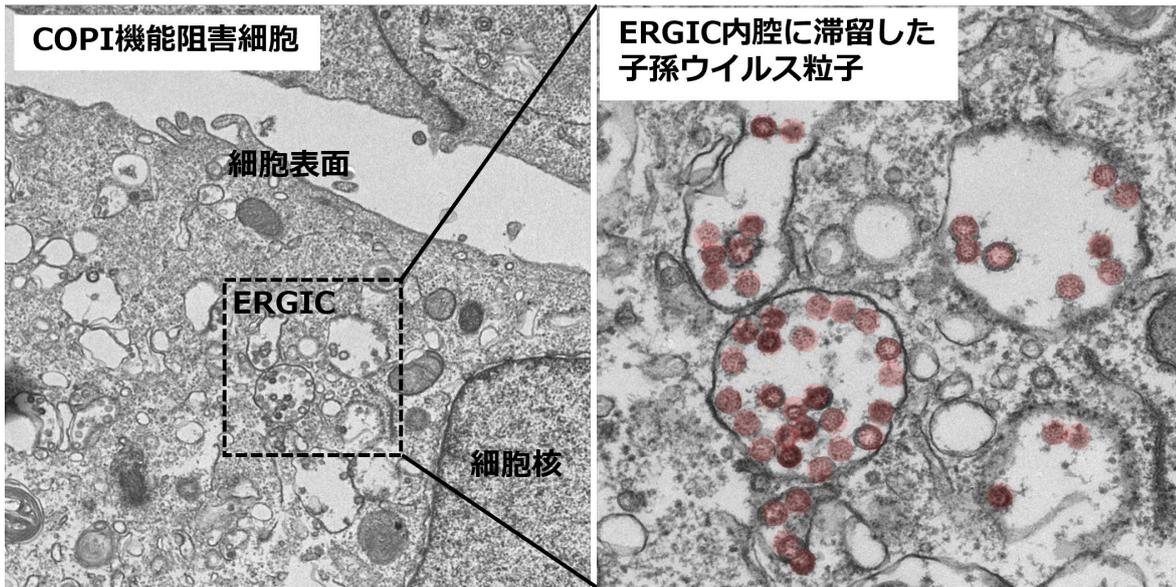
<論文タイトルと著者>

タイトル：Coatomer complex I is required for the transport of SARS-CoV-2 progeny virions from the endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment (COPI 複合体は新型コロナウイルス粒子の ERGIC からの細胞内輸送に必須である)

著者：Ai Hirabayashi, Yukiko Muramoto, Toru Takenaga, Yugo Tsunoda, Mayumi Wakazaki, Mayuko Sato, Yoko Fujita-Fujiharu, Norimichi Nomura, Koji Yamauchi, Chiho Onishi, Masahiro Nakano, Kiminori Toyooka and Takeshi Noda

掲載誌： *mBio* DOI: 10.1128/mBio03331-24

<参考図表>



図：COPI複合体の機能を阻害した新型コロナウイルス感染細胞の電子顕微鏡像

ERGIC 内腔に大量の子孫ウイルス粒子が滞留し、細胞表面への輸送および細胞外への放出がストップした。