

# SARS-CoV-2 スパイクタンパク質のグリカンシールド

渡辺 恭永 (Yasunori Watanabe)\*  
(翻訳：養王田正文)

COVID-19の病原体であるSARS-CoV-2ウイルスの出現と蔓延により、世界は深刻な健康問題に直面している。SARS-CoV-2は、広範囲に糖鎖修飾されたスパイクタンパク質を用いて細胞に結合して侵入する。他の多数のウイルスと同様に、コロナウイルスは、宿主細胞のシステムを利用してタンパク質の構造形成と維持を行っており、糖鎖修飾により免疫応答を回避している。本稿では、コロナウイルスの病理生物学における糖鎖の役割と、それらの理解のワクチン、血清学的検査、および治療法の開発への寄与について紹介する。

## ウイルスタンパク質の糖鎖修飾

糖鎖修飾は、さまざまな重要な生物学的役割を担う普遍的な翻訳後修飾である。ウイルスは、通常、複製時に宿主細胞の機構を利用して、自身のタンパク質を糖鎖修飾する。糖鎖修飾部位は遺伝的にコード化されているため、進化の淘汰圧力にさらされる。実際に、多数のウイルスが進化し、タンパク質の表面を宿主由来の糖鎖により修飾している<sup>1)</sup>。

ウイルスの病因における糖鎖修飾の役割の一つは、ウイルスのエンベロープタンパク質の免疫原性タンパク質表面をシールドするグリカンシールドである。ホストの免疫応答を回避するためのグリカンシールドは、HIV-1、インフルエンザ、ラッサウイルス (LASV)、コロナウイルス、エボラ出血熱などのウイルス性糖タンパク質で知られている<sup>1)</sup>。

## SARS-CoV-2のスパイクタンパク質

過去20年間に、3つの新しい病原性ヒトコロナウイルス (SARS-CoV-1, MERS-CoV および SARS-CoV-2) が出現し、世界の健康に重大な懸念が生じている。COVID-19は、SARS-CoV-2の感染により発症する病気であり、発熱、重度の呼吸器疾患および肺炎を誘発する<sup>2)</sup>。

多くのウイルスエンベロープタンパク質と同様に、SARS-CoV-2スパイク (S) タンパク質は広範囲にわたって糖鎖修飾されている。S遺伝子は、ウイルスの表面から突き出ているプロトマーごとに22個のN結合型糖鎖修飾部位をコードしている。Sタンパク質は大きな三量

体クラスI融合タンパク質であり、受容体結合サブユニット (S1) と膜融合サブユニット (S2) で構成されている。S1サブユニットには、アンジオテンシン変換酵素2 (ACE2) ホスト受容体に結合する受容体結合ドメインが含まれている<sup>3)</sup>。

中和抗体の開発において、Sタンパク質はワクチン設計の主要なターゲットである<sup>4)</sup>。Sタンパク質の糖鎖修飾を理解することで、SARS-CoV-2の基本的な特徴を明らかにし、ワクチン設計戦略を導くことができる<sup>5)</sup>。

## SARS-CoV-2 Sタンパク質の糖鎖修飾

以前、筆者らは部位特異的液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) によりSタンパク質の糖鎖修飾を解析した<sup>6)</sup>。このデータと高解像度低温電子顕微鏡 (cryo-EM) 構造を組み合わせることで、糖鎖残基のマッピングが可能になり、SARS-CoV-2 Sタンパク質の完全糖鎖修飾モデルを作製した (図1)。

SARS-CoV-2 Sタンパク質の分析では、一部の糖鎖が典型的な成熟宿主糖タンパク質で見られるものとは異なる

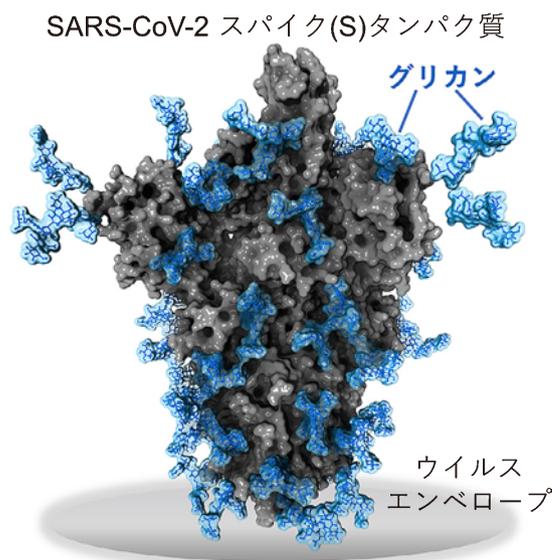


図1. クライオEM構造 (PDB ID: 6VSB) を基に作製したSARS-CoV-2 Sタンパク質の完全にグリコシル化されたモデル。N結合型糖鎖は青色、タンパク質の表面は灰色で表示されている。※学会HPのPDFではカラーで表示されます。

ることを明らかにした。不完全に処理されたオリゴマンノース型糖鎖は、N234やN709などの特定の部位に存在する。これらは、立体障害のために糖鎖プロセッシング酵素が基質糖鎖に効率的にアクセスできないために発生したと考えられる。たとえば、ほぼ完全なオリゴマンノース型であるN234の糖鎖は、N末端ドメインと受容体結合ドメインの間の溝に存在する。興味深いことに、この糖鎖は、受容体結合ドメインがACE2宿主受容体に効率的に結合できるように、Sタンパク質の構造ダイナミクスを調整および安定化する役割を果たすことが示されている<sup>7)</sup>。Sタンパク質の広範な糖鎖修飾がタンパク質のエピトープを適応免疫応答から保護している可能性が高い一方で、それから生じるオリゴマンノース型グリカンは、レクチンによる認識を介して自然免疫系によって認識される可能性もある<sup>8)</sup>。

他の大部分の糖鎖修飾は主に複雑なタイプのものであることから、多くの糖鎖修飾が宿主細胞の糖鎖プロセッシング酵素へアクセス可能であることを示している。不完全に処理された糖鎖からSタンパク質の多くの特性を知ることができるが、複合型糖鎖の処理状態も重要である。特に、糖鎖ベースのエピトープに結合する抗体が発見され、SARS-CoV-2を中和できることが発見されている。

たとえば、SARS-CoV-1と2の両方を交差中和できるS309抗体は、N343サイトのコアフコース残基をそのエピトープの一部として認識する<sup>9)</sup>。

SARS-CoV-2 Sタンパク質では未使用の糖鎖修飾部位は少ないが存在する。未使用糖鎖修飾部位で生じるグリカンホールが免疫原性である場合に、望ましくない非中和抗体を生じる可能性があるため、ワクチン設計において考慮する必要がある。

### 種々のウイルスのグリカンシールドの比較

筆者らは、グローバル構造アプローチという手法で、いくつかのウイルスのクラスI融合タンパク質全体のグリカンシールド密度を解析した<sup>10)</sup>。糖鎖と相互作用するアミノ酸数を溶媒に露出しているアミノ酸数で割ることで計算されるグリカンシールド密度をオリゴマンノース存在量に対してプロットすると、強い相関関係が観察された(図2)。さらに、このグラフから、免疫回避力の強い(Evasion Strong)ウイルス由来クラスI融合タンパク質<sup>1,11)</sup>のグリカンシールド密度とオリゴマンノースの存在量が大幅に増加していることも明らかになった。一方、SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERSなどの新しく出現したコロナウイルスのオリゴマンノースは少なく、グリカンシールドの

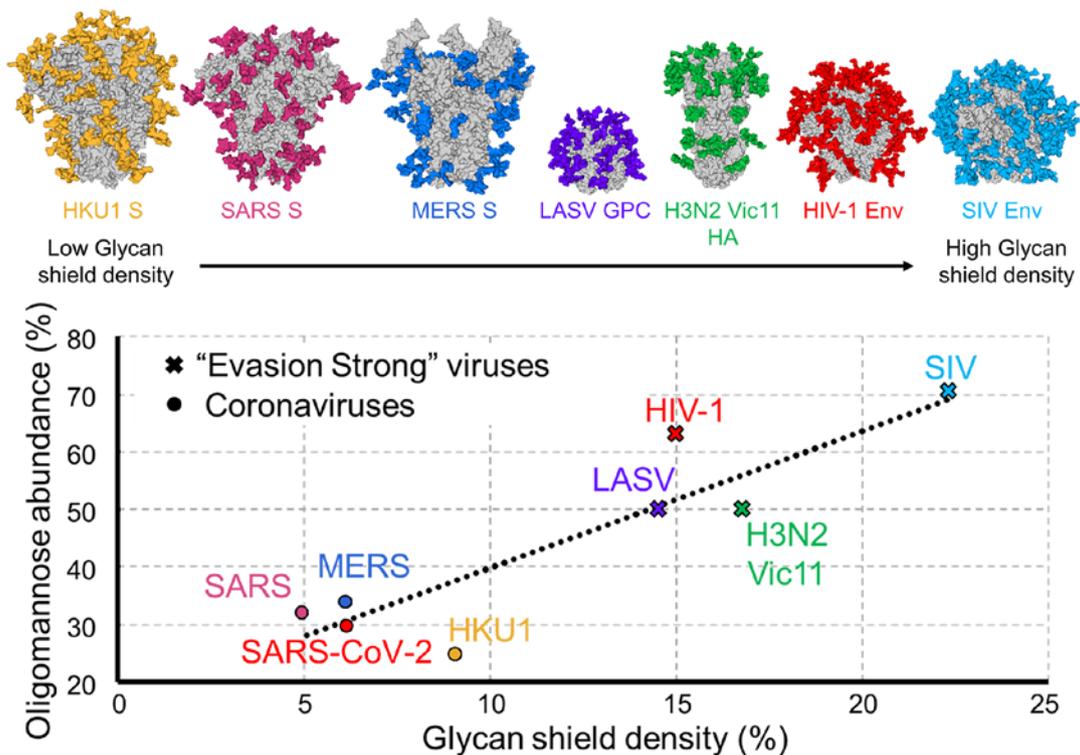


図2. ウイルスクラスI融合タンパク質のグリカンシールド密度の比較。グリカンシールド密度とオリゴマンノースの存在量との強い相関、および「免疫回避能力」との関係が示されている。(参考文献10から引用)。\*学会HPのPDFではカラーで表示されます。

密度は低いことが示された。たとえば、LASV糖タンパク質やHIV-1エンベロープタンパク質のオリゴマンノース量は約50～60%であるが、SARS-CoV-2のオリゴマンノース量は28%と大幅に少ない<sup>5,6,10,12)</sup>。これは、ウイルスの免疫回避戦略としての糖鎖修飾の重要性を示唆している。また、SARS-CoV-2 Sタンパク質の糖鎖修飾の密度が低く、糖鎖が有効なシールドを形成しにくいことは、中和抗体開発の可能性が高いことを示している。

### 宿主タンパク質の糖鎖修飾と SARS-CoV-2との相互作用

宿主タンパク質の糖鎖修飾が、SARS-CoV-2 Sタンパク質と相互作用するという報告もある。たとえば、SARS-CoV-2を含む多くのコロナウイルスは、MERS, HKU1, OC43などのシアロシド受容体に結合する<sup>13)</sup>。さらに、宿主受容体のグリコシル化がウイルス結合相互作用に影響を与えるという報告があり、最近の分子動力学研究によりACE2とSARS-CoV-2 Sタンパク質の糖鎖間の相互作用が明らかになっている<sup>14)</sup>。また、宿主細胞を覆うプロテオグリカンヘパラン硫酸は、SARS-CoV-2 Sタンパク質に結合するとされている<sup>15)</sup>。これらの結果は、宿主のグリコシル化とSタンパク質との相互作用を理解することで、SARS-CoV-2に対する治療方法開発に新しい可能性をもたらすことを示唆している。

### 結 言

Sタンパク質は66のN結合型糖鎖で修飾されているが、グリカンシールドはLASV糖タンパク質またはHIV-1エンベロープタンパク質と比較して特に密集して

いない<sup>6,8)</sup>。SARS-CoV-2の糖鎖シールドの薄さは、処理が不十分なオリゴマンノースタイプの糖鎖修飾が比較的低レベルであることを反映している。したがって、糖鎖修飾がワクチン開発に大きな障害となることはないと思われている。最後に、糖鎖修飾はタンパク質構造の敏感なレポーターであるため、筆者らの糖鎖修飾情報は、ワクチン接種や血清学的キットの製造で使用されるさまざまな抗原の比較に有用だと考えている。

### 文 献

- 1) Watanabe, Y. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1863**, 1480 (2019).
- 2) Huang, C. *et al.*: *China. Lancet*, **6736**, 1 (2020).
- 3) Wrapp, D. *et al.*: *Science*, **367**, 1260 (2020).
- 4) Amanat, F. and Krammer, F.: *Immunity*, **52**, 583 (2020).
- 5) Struwe, W. B. *et al.*: *Cell Rep.*, **24**, 1958 (2018).
- 6) Watanabe, Y. *et al.*: *Science*, **369**, 330 (2020).
- 7) Casalino, L. *et al.*: *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.06.11.146522 (2020).
- 8) Jeffers, S. A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 15748 (2004).
- 9) Pinto, D. *et al.*: *Nature*, **583**, 290 (2020).
- 10) Watanabe, Y. *et al.*: *Nat. Commun.*, **11**, 2688 (2020).
- 11) Burton, D. R. *et al.*: *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, **9**, a030262 (2017).
- 12) Watanabe, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 7320 (2018).
- 13) Baker, A. N. *et al.*: *ChemRxiv*, doi: 10.26434/CHEMRXIV.12465680.V1 (2020).
- 14) Zhao, P. *et al.*: *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.06.25.172403 (2020).
- 15) Liu, L. *et al.*: *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.05.10.087288 (2020).