

新型コロナウイルス感染阻害効果を持つ卵黄由来物質の解析と 感染症予防の基盤確立

国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター・治療薬開発総括研究官 渡士 幸一

■ 緒言

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の世界的流行(パンデミック)は現在も収束せず¹⁾、その感染阻害分子の探索は極めて重要な課題である。鶏卵は、古来、安全、安心な食品として利用されてきた。鶏卵黄(以下、卵黄)には、比較的豊富なシアル酸が含まれていることが報告されている(乾燥重量の約0.2%)^{2,3)}。卵黄は、動物を殺すことなく入手でき、SDGsに準拠する生体材料である。一方、シアロ糖鎖物質は、ヒトを含む全ての脊椎動物の体内に存在し、人体では、白血球の遊走、細胞内情報伝達など、重要な生理機能を持っている^{4,5)}。また、多くのウイルスは、普遍的に動物に存在するシアロ糖鎖物質を巧みに利用しており、シアロ糖鎖物質を真のレセプター(受容体)あるいは、二次レセプター、コ・レセプターとして認識・結合し、宿主細胞に感染できるように進化を遂げている⁶⁻¹⁰⁾。人類に感染する際、シアル酸糖鎖物質を利用する重要ウイルスだけでも20種類以上が確認されている(表1)。

シアロ糖鎖物質を利用した感染機構は種々のウイルスに共通の性質であり、ウイルスが変異してもこの性質は保存されることが多いため、ワクチンと異なり、変異ウイルスに対しても感染予防が可能となることが期待される。そのため、本研究による成果は、生体のシアロ糖鎖物質を利用して感染を起こすウイルス約20種類に対しても、感染予防ができる可能性が高い。

申請者はこれまで、化学合成したシアロ糖鎖物質¹¹⁾により、SARS-CoV-2の感染が強く阻害されることを発見してきた¹²⁾。そこで本研究では、卵黄にSARS-CoV-2感染阻害活性の有無を確認すると共に、その活性分子の性質を明らかにすることを目的とした。

■ 方法

乾燥卵黄粉末は、卵黄を霧状乾燥することにより得た。SARS-CoV-2感染阻害活性は、宿主細胞としてセリンプロテアーゼ(TMPRS2)発現VeroE6細胞を用いるSARS-CoV-2感染阻害実験系¹³⁾を用い、感染細胞のウイルスRNAの減少をReal time RT-PCR¹⁴⁾で測定することにより測定した。具体的には、予め、被検液とウイルスを混合し、上記細胞に吸着させ、一定時間後に、未吸着のウイルスを洗浄除去後、さらに被検物質画分存在下、一定時間培養し、感染細胞のウイルスRNAを測定した。抽出液中のシアル酸の定量は、比色定量法により行った。シアロ糖鎖物質の解析は、高速液体クロマトグラフィー装置によった。

■ 結果

1)卵黄から得た物質の性状とSARS-CoV-2感染阻害活性の確認：卵黄から得た物質画分中の抗SARS-CoV-2活性分子を明らかにするために、卵黄に含まれていることが報告²⁾されているシアル酸含有N-グリカン入手し、これについて、SARS-CoV-2に対する感染阻害活性を調べた。

その結果、上記シアル酸含有N-グリカンは、SARS-CoV-2の感染を阻害することを明らかにした。

2)卵黄におけるシアロ糖鎖物質の存在およびその構造：卵黄には、様々なシアル酸含有糖鎖物質が含まれていることが報告されている²⁾。我々もそれを確認した。その中で市販のシアロ糖鎖(N-グリカン)物質入手し、その構造を高速液体クロマトグラフィーで確認し、構造を決定した。

以上から、卵黄には、抗SARS-CoV-2活性を持つシアル酸含有糖鎖が含まれていること、本抽出画分の抗SARS-CoV-2活性は、この糖鎖に由来する可能性が高いことが明らかとなった。

■ 考察

以上の結果から、卵黄に含まれるSARS-CoV-2感染阻止活性を持つ分子の一つは、シアル酸含有糖鎖を含むことが示唆された。卵黄は、安全、安価かつ大量入手が可能である。そこで、本研究により得られたSARS-CoV-2感染を阻止する可能性のある機能的シアロ糖鎖分子は、SARS-CoV-2のヒトへの極めて強い感染伝播力の機構解明に貢献出来ると思われる。さらに、機能的シアロ糖鎖分子は、SARS-CoV-2のみならず、多くのシアル酸含有糖鎖を感染に利用しているウイルスの感染症対策のた

めの抗ウイルス薬開発にも応用可能であることが期待される。

■ 要 約

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の世界的流行 (パンデミック) は現在も収束せず、その感染阻害分子の探索は極めて重要な課題である。鶏卵黄は、安全、安価かつ動物を殺さず大量入手できることから SDGs にも準拠する。我々は、本研究において、卵黄に含まれていることが報告されているシアロ糖鎖分子が、SARS-CoV-2 の感染を阻害することを見出し、さらに、その分子構造を確認した。

■ 文 献

1. WHO, WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int> (Accessed 23 February 2022).
2. W. Sumiyoshi, S.-I. Nakakita, N. Miynishi, J. Hirabayashi, Strategic glycan elution map for the purification of human-type N-linked oligosaccharides : The case of hen egg yolk and white, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73(3)543-551, 2009.
3. 額野守、他、鶏卵卵黄シアリルオリゴ糖の酵素利用による分離とその生理機能、*応用糖質科学* 43, No. 2, 283-287(1996).
4. A. Varki, Diversity in the sialic acids. *Glycobiology* 2, 25-40(1992).
5. A. Varki, R. L. Schnaar, R. Schauer, "Sialic Acids and Other Nonulosonic Acids" in *Essentials of Glycobiology*, 3rd Ed. (Cold Spring Harbor (NY), 2015), 10.1101/glycobiology.3e.015, pp. 179-195.
6. N. Sriwilaijaroen, Y. Suzuki, Sialoglycovirolgy of Lectins: Sialyl Glycan Binding of Enveloped and Non-enveloped Viruses. *Methods Mol Biol* 2132, 483-545(2020).
7. M. Matrosovich, G. Herrler, H. D. Klenk, Sialic Acid Receptors of Viruses. *Top Curr Chem* 367, 1-28 (2015).
8. B. S. Blaum, T. Stehle, Sialic Acids in Nonenveloped Virus Infections. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 76, 65-111(2019).
9. B. R. Wasik, K. N. Barnard, C. R. Parrish, Effects of Sialic Acid Modifications on Virus Binding and Infection. *Trends Microbiol* 24, 991-1001(2016).
10. N. Sriwilaijaroen, Y. Suzuki, Host Receptors of Influenza Viruses and Coronaviruses-Molecular Mechanisms of Recognition. *Vaccines (Basel)* 8(2020); doi:10.3390/vaccines8040587
11. N. Sriwilaijaroen et al., 6SLN-lipo PGA specifically catches (coats) human influenza virus and synergizes neuraminidase-targeting drugs for human influenza therapeutic potential. *J. Antimicrob. Chemother.*, 70, 2797-2809(2015).
12. W. Saso et al. Significant role of host sialylated glycans in the infection and spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *PLoS Pathog* 18, e1010590 (2022).
13. S. Matsuyama et al., Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 117, 7001-7003(2020).
14. V.M. Corman, Olfert Landt, Marco Kaiser, et al., Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 25, (2020).

表1 生体のシアロ糖鎖物質を利用してヒトへ感染を起こす主なウイルスおよび疾患^{6-10,12)}

SARS-CoV-2、季節性インフルエンザウイルス、ヒトコロナウイルス、パンデミックインフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、ヒトに伝播する鳥インフルエンザウイルス、流行性耳下腺炎（おたふく風邪）ウイルス、ジカウイルス（小頭症）、MERS-コロナウイルス、ノロ GII.3（重篤下痢症）、エンテロ D68（呼吸器疾患）、エンテロ 70（重症眼疾患）、ロタ A（小児下痢症）、アデノ D（角結膜炎）、アデノ G（胃腸炎）— ウイルス等