

別紙 HP 公開資料

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）関連 国際緊急共同研究・調査支援プログラム（J-RAPID） 終了報告書 概要

1. 研究課題名：「新型コロナウイルスの病原性発現と異種間伝播の分子メカニズムの解明」
2. 研究期間：2020年7月～2021年3月
3. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

| | 氏名 | 役職 | 所属 | 研究分担 |
|------------------|-------|------|------------|--------------|
| 研究代表者 | 佐藤 佳 | 准教授 | 東京大学医科学研究所 | ウイルス学、分子系統学 |
| 共同研究者 | 伊東 潤平 | 特任助教 | 東京大学医科学研究所 | バイオインフォマティクス |
| 共同研究者 | 木村 出海 | 大学院生 | 東京大学医科学研究所 | ウイルス学 |
| 共同研究者 | 今野 順介 | 大学院生 | 東京大学医科学研究所 | ウイルス学 |
| 共同研究者 | 瓜生 慧也 | 大学院生 | 東京大学医科学研究所 | ウイルス学 |
| 研究期間中の全参加研究者数 5名 | | | | |

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

| | 氏名 | 役職 | 所属 | 研究分担 |
|------------------|-------------------|------------------------|---|--|
| 研究代表者 | Massimo Palmarini | Director (Professor) | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Virology |
| 共同研究者 | Robert Gifford | Senior Research Fellow | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Bioinformatics, molecular phylogenetic |
| 共同研究者 | Sam Wilson | Senior Research Fellow | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Virology |
| 共同研究者 | David Robertson | Professor | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Bioinformatics, molecular phylogenetic |
| 研究期間中の全参加研究者数 4名 | | | | |

4. 共同研究調査の目的

新型コロナウイルス SARS-CoV-2 は、現在進行形の災厄です。現在、世界中でワクチンや抗ウイルス薬の開発が進められていますが、2019 年末に突如出現したこのウイルスについては不明な点が多く、このウイルスの感染病態の原理についてはほとんど明らかとなっておりません。新型コロナウイルス感染症 COVID-19 感染者の解析から、この感染症の特徴の

ひとつとして、ウイルス感染に対する生体防御の中枢を担うインターフェロンという物質の産生が、インフルエンザや SARS などの他の呼吸器感染症に比べて顕著に抑制されていることが明らかとなっています。このインターフェロン産生の抑制が COVID-19 の病態進行と関連すると考えられていますが、その原理については明らかになっていませんでした。そこで本研究では、新型コロナウイルスがインターフェロン産生を抑制する原理を解明することを目的としました。

5. 共同研究調査の成果

5-1 共同研究調査の成果、今後の展開見込、社会への波及効果

本研究グループはまず、SARS-CoV-2 と SARS-CoV それぞれが保有する遺伝子長を比較しました。その結果、SARS-CoV に比べ、SARS-CoV-2 の ORF3b という遺伝子の長さが顕著に短いことを見出しました。過去の研究から、SARS-CoV の ORF3b 遺伝子には、インターフェロン産生を抑制する機能があることが知られています。そこで、この遺伝子の長さの違いが、SARS-CoV-2 感染時のインターフェロン産生を抑制する機能と関連している可能性を疑い、SARS-CoV-2 の ORF3b の機能解析を実施しました。その結果、驚くべきことに、SARS-CoV-2 の ORF3b タンパク質は、SARS-CoV の ORF3b タンパク質よりも強いインターフェロン阻害活性があることを見出しました。また、コウモリやセンザンコウで同定されている、SARS-CoV-2 に近縁なウイルスの ORF3b タンパク質についても同様に解析した結果、SARS-CoV-2 の ORF3b タンパク質と同様、強いインターフェロン阻害活性があることを明らかにしました。

さらに、GISAID という公共データベースに登録された、17,000 以上の世界で流行しているウイルスの配列を網羅的に解析したところ、エクアドルにおいて、ORF3b の長さが部分的に伸長している配列を持つウイルスを同定しました。この配列を再構築し、実験を行った結果、エクアドルで同定されたこの（部分的に伸長した）ORF3b 変異体は、元の新型コロナウイルスの ORF3b に比べ、より強いインターフェロン抑制効果を示すことを明らかにしました。そして、このウイルスを同定したエクアドルの医師にコンタクトを取ったところ、このウイルスに感染していた 2 名の COVID-19 患者は、2 名ともが重症、うち 1 名は死亡していたことが判明しました。

5-2 国際連携の成果

以上の結果から、新型コロナウイルスの ORF3b タンパク質には強いインターフェロン抑制効果があり、それが COVID19 の病態と関連している可能性があることが示唆されました。また、現在の流行の中で出現した ORF3b 遺伝子の変異によって、インターフェロンを抑制する活性が増強されることを明らかにしました。しかし、このウイルスの病原性が強まっていることを示す証拠はありません。このような変異体は、17,000 以上の配列を解析し、わずか 2 配列しか検出されていないことから、このような変異体が出現し、強毒株として流行する可能性はきわめて低いと考えられます。しかし、試験管内での実験では、この ORF3b 変異体のインターフェロン阻害活性は顕著に高いことから、このウイルス遺伝子の配列を解析することによって、ウイルスの病原性を評価する指標のひとつとして使用できる可能性はあると考えています。

6. 本研究調査に関連したワークショップ等の開催、主な口頭発表・論文発表・その他成果物（例：提言書、マニュアル、プログラム、特許）、受賞等（5 件まで）

| | |
|------------------------|--|
| 発表/ 論文/ 成果 物等 | <ul style="list-style-type: none"> ・主催したワークショップ、セミナーなど：名称、開催日 ・口頭発表：発表者名、タイトル、会議名 ・論文：著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・その他成果物(例：提言書、マニュアル、プログラム、特許)、 ・メディア |
| 論文 | Yoriyuki Konno, Izumi Kimura, Keiya Uriu, Masaya Fukushi, Takashi Irie, Yoshio Koyanagi, Daniel Sauter, Robert J. Gifford, USFQ-COVID19 consortium, So Nakagawa & Kei Sato*. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is further increased by a naturally occurring elongation variant. Cell Reports 32(12):108185, 2020. Equal contribution; *Corresponding author. Selected to "Editor's pick" and "Most Read" in Cell Reports. |
| 報道 | NHKスペシャル「人体vsウイルス ～驚異の免疫ネットワーク～」出演. 学術論文Konno et al, Cell Reports, 2020) の研究成果に関連するプレプリント (bioRxiv) . 2020年7月4日放送. |
| 新聞 | 「新型コロナウイルスに人の免疫抑えるたんぱく質」学術論文#64 (Konno et al, Cell Reports, 2020) の研究成果紹介, 日本経済新聞電子版. 2020 年 9 月 7 日. |
| 新聞 | 「新型コロナのたんぱく質 免疫機能妨害」学術論文#64 (Konno et al, Cell Reports, 2020) の研究成果紹介, 朝日新聞朝刊. 2020 年 9 月 30 日付, 22 面. |
| 新聞 | 「新型コロナの正体を読み解く カギになる免疫活性化スイッチとスーパープレッダー」学術論文#64 (Konno et al, Cell Reports, 2020) の研究成果紹介, 毎日新聞デジタル. 2020 年 10 月 8 日. |

Attachment to be posted on HP

International Urgent Collaborative Projects Regarding the Coronavirus Disease (COVID-19) within the J-RAPID Program

1. Title of the Project : "Investigation of the roles of SARS-CoV-2-encoding genes on the COVID-19 pathogenesis and viral cross-species transmission"

2. Research/Investigation Period : 2020.7 ~ 2021.3

3. Main Investigators :

Japanese Team (up to 6 people including Principal Investigator)

| | Name | Title | Affiliation | Project role |
|---|----------------|---------------------|---|----------------------------------|
| Principal Investigator | Kei Sato | Associate Professor | Institute of Medical Science, the University of Tokyo | Virology, molecular phylogenetic |
| Collaborator | Jumpei Ito | Assistant Professor | Institute of Medical Science, the University of Tokyo | Bioinformatics |
| Collaborator | Yoriyuki Konno | Graduate student | Institute of Medical Science, the University of Tokyo | Virology |
| Collaborator | Kizumi Kimura | Graduate student | Institute of Medical Science, the University of Tokyo | Virology |
| Collaborator | Keiya Uriu | Graduate student | Institute of Medical Science, the University of Tokyo | Virology |
| Total Number of participating researchers in the project: 5 | | | | |

Counterpart Team (up to 6 people including Principal Investigator)

| | Name | Title | Affiliation | Project role |
|---|-------------------|------------------------|---|--|
| Principal Investigator | Massimo Palmarini | Director (Professor) | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Virology |
| Collaborator | Robert Gifford | Senior Research Fellow | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Bioinformatics, molecular phylogenetic |
| Collaborator | Sam Wilson | Senior Research Fellow | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Virology |
| Collaborator | David Robertson | Professor | MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research | Bioinformatics, molecular phylogenetic |
| Total Number of participating researchers in the project: 4 | | | | |

4. Objectives and Challenges

Although SARS-CoV infection causes acute and severe pneumonia, SARS-CoV-2 infection may be asymptomatic or result in flu-like symptoms such as fever, cough and fatigue. Also, compared to

SARS-CoV and influenza A virus infections, a hallmark of SARS-CoV-2 infection, COVID-19, is the poor induction of a type I interferon (IFN). Notably, impaired IFN responses are associated with the severity of COVID-19. However, the molecular mechanisms underlying the inefficient IFN responses in SARS-CoV-2 infection remain unclear.

5. Results of the research/survey activities

5-1. Results of joint research. Expected future development, ripple effect on society

By comparing the sequences of SARS-CoV-2-encoding genes to those of SARS-CoV, we found that the gene length of SARS-CoV-2 ORF3b is clearly shorter than that of SARS-CoV ORF3b. Because the ORF3b of SARS-CoV is known as a viral antagonist against IFN production, we hypothesized that the difference on the length of ORF3b gene between SARS-CoV-2 and SARS-CoV may differ their anti-IFN activity and further may explain the difference of the symptoms of these viral infections.

Surprisingly, SARS-CoV-2 ORF3b is a potent IFN antagonist than SARS-CoV ORF3b. Phylogenetic analyses and functional assays revealed that SARS-CoV-2-related viruses from bats and pangolins also encode shorter ORF3b gene products with strong anti-IFN activity.

Furthermore, analyses of approximately 17,000 SARS-CoV-2 sequences identified a natural variant, in which a longer ORF3b reading frame was reconstituted. This variant suppresses IFN even more efficiently than ORF3b of parental SARS-CoV-2 strain. In agreement with an association of IFN suppression with disease severity, the two patients in Ecuador harboring SARS-CoV-2 with the extended ORF3b variant were critically ill; one was treated in an intensive care unit and the other one died of COVID-19. Importantly, however, there is no direct evidence indicating that the viruses detected in these two COVID-19 patients in Ecuador are more pathogenic than the reference strain.

5-2. Added Value from International collaborative work

Although we cannot tell whether this variant is associated with a different outcome in disease, it might be plausible to assume that naturally occurring length variants of ORF3b potentially contribute to the emergence of more pathogenic SARS-CoV-2 variants. Thus, it will be important to continue monitoring viral sequences to see whether novel ORF3b variants emerge during the current pandemic. To our knowledge, this study is the first investigation revealing the role of SARS-CoV-2-encoding protein that can associate with the progression of COVID-19.

6 . Organized workshops/seminars, presentations, papers and other deliverables

| | |
|-------|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Organized workshop/seminar: Title, date • Presentation: Presenters, title, conference • Papers : Authors, title, journals、 vol, page, publish year • Other deliverables: • Media |
| Paper | <p>Yoriyuki Konno, Izumi Kimura, Keiya Uriu, Masaya Fukushi, Takashi Irie, Yoshio Koyanagi, Daniel Sauter, Robert J. Gifford, USFQ-COVID19 consortium, So Nakagawa & Kei Sato*. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is further increased by a naturally occurring elongation variant. Cell Reports 32(12):108185, 2020. Equal contribution; *Corresponding author. Selected to "Editor's pick" and "Most Read" in Cell Reports.</p> |