

茨城県における SARS-CoV-2 の全ゲノム解析実施状況について（令和 3 年度）

○榎村 諒、石川 莉々子、新堀 もなみ、小室 慶子、大久保 朝香、
大澤 修一、後藤 慶子¹、吉田 大輔²

¹現：退職、²現：県北食肉衛生検査所

要旨

2019 年 12 月に発生した COVID-19 は 2020 年に世界的なパンデミックを引き起こし、茨城県では 2020 年 3 月 17 日に第一例目の感染者が確認され、地域的な感染クラスターの発生や新規変異株の出現など、全国と同様に県内の感染状況も変化し続けている。

COVID-19 の発生初期、国立感染症研究所は積極的疫学調査の支援のため、全国から検体を集めて SARS-CoV-2 全ゲノム解析を実施していた。しかし、感染者数の増加に伴い地方衛生研究所等での全ゲノム解析の実施が求められ、検査体制の整備が進められた。

当所では 2021 年 1 月から SARS-CoV-2 全ゲノム解析を開始し、ウイルス系統の特定や感染経路の解析などを行っている。

今回、当所におけるゲノム解析に関する体制整備、運用体制及び実施状況を報告する。

キーワード：COVID-19、SARS-CoV-2、NGS、全ゲノム解析、ゲノム・サーベイランス

1 はじめに

2019 年 12 月に中華人民共和国湖北省武漢市で発生した COVID-19 は、2020 年に世界的パンデミックを引き起こし、日本では 1 月 15 日に初の感染者が確認され¹⁾、国内における流行が始まった。茨城県では 3 月 17 日に第一例目の感染者が確認され、その後、地域的な感染クラスターの発生や変異株の出現など、全国と同様に県内の感染状況も変化し続けている。

COVID-19 の感染対策として、国は 2020 年 3 月からクラスター発生原因の特定及び迅速な終息のためにゲノム解析を活用した積極的疫学調査の支援を開始した²⁾。

SARS-CoV-2 全ゲノム解析の実施にあたり、国立感染症研究所と全国の地方衛生研究所及び検疫所等の間でゲノム・サーベイランスグループが構築され、現在に至るまで継続的にサーベイランスが実施されている。

以下に、本県における SARS-CoV-2 全ゲノム解析の体制整備及び実施状況等について報告

する。

2 SARS-CoV-2 全ゲノム解析の実施体制

2-1 国におけるゲノム解析

国は COVID-19 発生初期から患者クラスターの早期特定及び感染リンク断絶を目的に SARS-CoV-2 全ゲノム解析を実施している。全国の地方衛生研究所等から SARS-CoV-2 陽性検体の一部を国立感染症研究所に集め²⁾、次世代シーケンサー（NGS:Next Generation Sequencer）を用いてゲノム配列を確定し、各自治体に情報を還元してきた。

茨城県においても 2020 年 3 月から 2021 年 3 月まで国立感染症研究所に SARS-CoV-2 陽性検体の一部を送付し、延べ 715 検体のゲノム情報を得た。

2-2 当所における全ゲノム解析体制の整備

2020 年の夏季に全国の陽性者が急増するなどしたため、国立感染症研究所だけでなく、全

国の地方衛生研究所等において SARS-CoV-2 全ゲノム解析の実施が求められ、検査体制の整備が進められた³⁾。

茨城県では2020年10月に国立感染症研究所主催の「第1回次世代シーケンサー (NGS) 技術研修会」に参加し SARS-CoV-2 全ゲノム解析のための手技を習得した。また、ゲノム解析に必須である NGS に関しては、2018年に研究事業で導入した MiSeq (Illumina) 及び COVID-19 専用 NGS として 2021年3月に導入した iSeq (Illumina) を使用することで、2021年1月から段階的に SARS-CoV-2 全ゲノム解析を開始し、自施設でのゲノム解析体制を構築した。

検査可能な人員については、当初1名で対応していたが B.1.1.7 系統 (アルファ株) や B.1.617.2 系統 (デルタ株) による第4波、第5波に対応するため 2021年5月からは2名体制へ、B.1.1.529 系統 (オミクロン株) による第6波に対応するため 2022年1月からは3名体制にするなど、自施設内で研修等を行い人員の拡充による検査体制の強化に努めてきた。

これにより、週に最大 60 検体程度であったゲノム解析件数を、最大 120 検体程度にまで増加することができた。

2-3 ゲノム解析対象の変遷

SARS-CoV-2 全ゲノム解析の対象は、原則、リアルタイム RT-PCR 法 (N2 セット) により陽性となった Ct 値 27 以下の検体とし、地域や検体採取時期に偏りが無いように選定を行っている。

アルファ株が出現してからは N501Y 変異検出検査で陽性となった検体を中心にゲノム解析を実施し、デルタ株に置き換わっていった 2021年7月からは L452R 変異検出検査で陽性となった検体を中心にゲノム解析を行った。第5波が収束し陽性者数が減少した 2021年11月からは、感染クラスター事例や保健所から依頼のあった検体を中心にゲノム解析を実施するなど、流行状況を踏まえた対象選定を行って

る。

3 当所における SARS-CoV-2 全ゲノム解析の実施状況 (令和3年度まで)

3-1 方法

国立感染症研究所の検出マニュアル⁴⁾ 及びゲノム解読プロトコル⁵⁾ に従い実施した。

検体から抽出した RNA を鋳型とし、逆転写反応、MultiplexPCR、NGS ライブラリ調整を行い、iSeq 又は MiSeq を使用したシーケンスによりデータを取得した。得られたデータから国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターの web アプリケーションにより全ゲノム配列及び Pangolin 系統を得た。

3-2 対象

2020年3月から2022年3月までに当所に搬入された COVID-19 疑い患者、接触者及び陽性者の検体 (鼻咽頭拭い液、喀痰、唾液等)、並びに衛生検査所等から搬入された SARS-CoV-2 陽性患者の検体や抽出 RNA を解析の対象とし、3,511 検体の SARS-CoV-2 全ゲノム解析を実施した。

また、2020年3月から2021年3月まで国立感染症研究所に検体を送付し、結果を得られた 715 検体のゲノム情報も加え、合計 4,226 検体分を解析した。

3-3 結果及び考察

ゲノム情報が得られた 4,226 検体は 37 種の Pangolin 系統に分類された。

検体採取年月については、デルタ株が流行した 2021年8月に採取された検体数が 778 検体と最多であり、次いでオミクロン株が流行し始めた 2022年1月の 555 検体であった。検体採取年月別の系統分類を図 1 に示す。

< 起源株由来及び第1波 (B.1.1 系統) >

起源株由来の A 系統株は 2020年3月採取の 2 検体から検出されたが、2020年3~4月は近縁の B.1 系統株及び欧州由来の B.1.1 系統株が

主流となり第1波となった。

<第2波 (B.1.1.284 系統・B1.1.214 系統) >

2020年7月はB.1.1系統株から派生したB.1.1.284系統株が主に検出され、8月にはB.1.1.214系統株が併せて検出された。

<第3波 (B.1.1.214 系統) >

2020年11月からはB.1.1.214系統株の感染拡大が起これ、さらに第2波でもみられたB.1.1.284系統株も混在していた。

<第4波 (R.1 系統・アルファ株) >

2021年3月以降、N501Y変異を有するR.1系統株及びアルファ株の流行がみられ、特にアルファ株は従来株に比べ感染・伝播性が上昇していることから、第4波の主要原因となった。

<第5波 (デルタ株) >

2021年夏季、それまで主流であったアルファ株から置き換わるようにデルタ株の亜系統であるAY.29系統株が急増し、第5波を引き起こした。アルファ株は2021年9月採取の検体から検出されたのを最後に当所の検査で確認されていない。

<第6波 (BA.1 系統・BA.2 系統) >

2021年12月末に採取した検体からオミクロン株の下位系統であるBA.1系統株が検出され、爆発的な流行を起こした第6波の主流となった。2022年2月からは同じく下位系統であるBA.2系統株へと置き換わりが進み、2022年3月採取の検体ではBA.2系統株が過半数以上の割合で検出された。

自施設でSARS-CoV-2全ゲノム解析の体制を構築したことで、県内で検出されるSARS-CoV-2の系統を早期に探知することができ、国内流行株と県内流行株の系統比較も可能となった。感染拡大が懸念される特徴的な系統株を早期に把握し、保健所等へ迅速に情報を還元することで感染拡大防止に資することが可能と考えられる。今後も継続的にゲノム・サーベイランスを実施していくことが重要である。

4 SARS-CoV-2 全ゲノム解析の活用事例

4-1 事例1

2020年11月から12月にA病院でCOVID-19の集団発生があり、SARS-CoV-2陽性となった検体のうち、11名(入院患者5名、職員6名)について全ゲノム解析を実施した。ハプロタイプ・ネットワーク図を図2に示す。全ゲノム解析の結果、10名からB.1.1.214系統株が検出され、1名(入院患者)からB.1.428系統株が検出された。B.1.428が検出された1名は県外陽性者との接触歴があり、異なる感染機会があったと推察された。また、B.1.1.214系統株が検出された1名(患者)についても、他の陽性者9名から検出されたB.1.1.214系統株と15塩基異なっており、異なる場所での感染が疑われた。

4-2 事例2

2021年1月から2月に同一保健所管内の2施設(B病院、C病院)で同時期にCOVID-19の集団発生があったため、SARS-CoV-2陽性となった検体のうちB病院11名、C病院24名について全ゲノム解析を実施した。ハプロタイプ・ネットワーク図を図3に示す。全ゲノム解析の結果B病院の陽性者からは全てB.1.346系統株が検出され、C病院の陽性者からは全てB.1.1.214系統株が検出された。このことからB病院とC病院間の関連性は低いことが示唆された。

5 おわりに

当所ではCOVID-19が発生してから比較的早期にSARS-CoV-2全ゲノム解析を実施できる体制を構築できた。しかし、全ゲノム解析を実施するにあたっては人的要因・時間的要因・予算的要因などを解決していく必要がある。今後も継続的にゲノム・サーベイランスを実施していくためには、検査可能人員の育成及び増員、施設での作業手順を標準化することによる

正確性・迅速性の担保、さらには予算の確保などが求められる。

引き続き全ゲノム解析の体制強化を図り、継続的なゲノム・サーベイランスを行うことで、今後新たな変異株が出現した際にも、早期に探知し迅速な対応へと繋げ感染拡大防止に資していくことが重要であると考えられる。

6 参考文献

- 1) 厚生労働省報道発表資料「新型コロナウイルスに関連した肺炎の患者の発生について（1例目）」（令和3年1月16日）
- 2) 「新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査について（協力依頼）」令和2年3月16日付け健感発0316第3号厚生労働省健康局結核感染症課長通知

- 3) 「新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査における検体提出等について（要請）」令和3年2月5日付け健感発0205第4号（令和3年3月24日一部改正）厚生労働省健康局結核感染症課長通知
- 4) 「「感染研・地衛研専用」SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル」国立感染症研究所発行
- 5) 「新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル（Qiagen社QiaSEQ FX編）」国立感染症研究所病原体ゲノム解析研センター発行

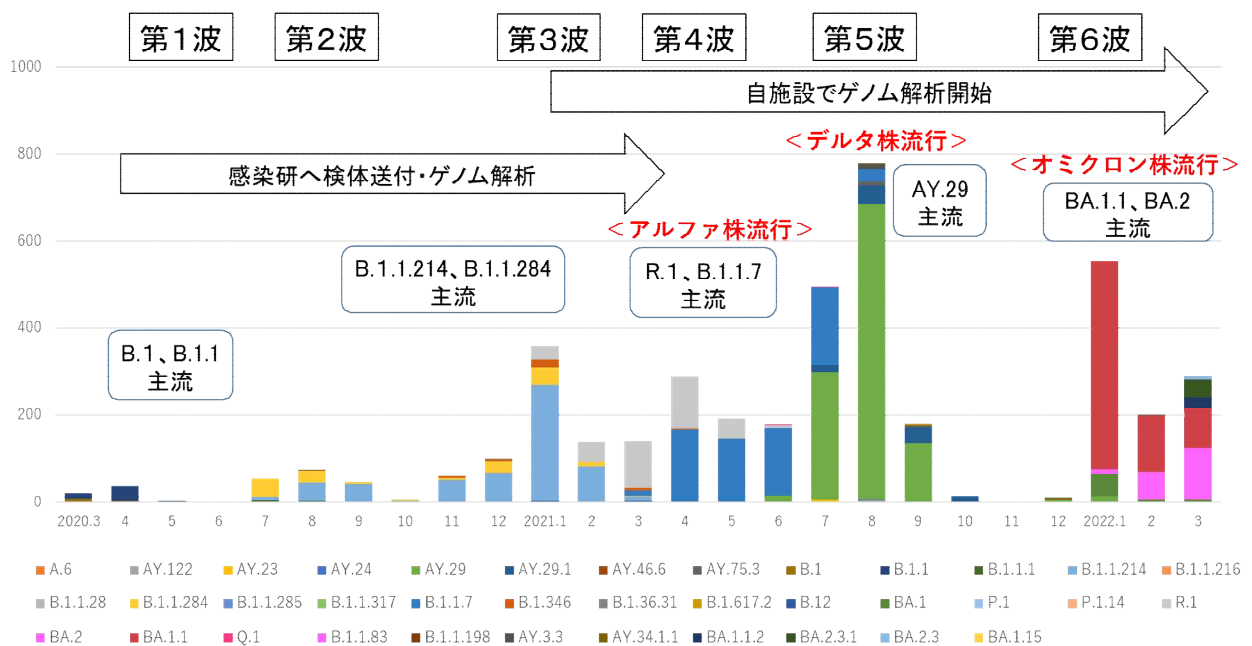


図1 茨城県におけるSARS-CoV-2の系統変遷 (n=4,226)

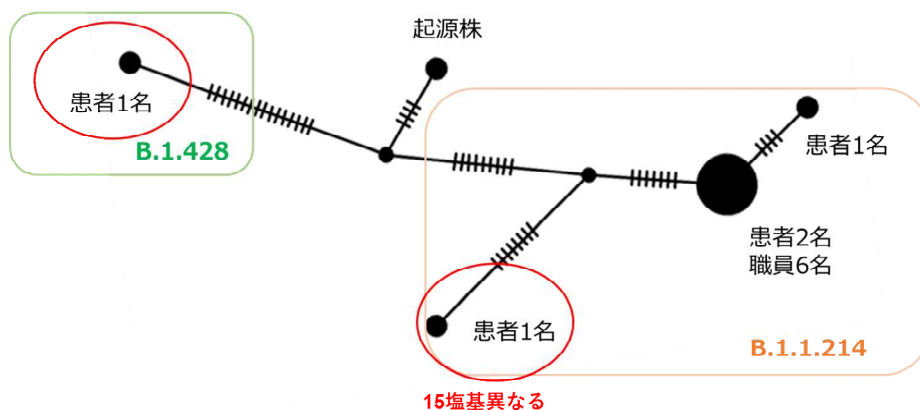


図2 事例1におけるハプロタイプ・ネットワーク図

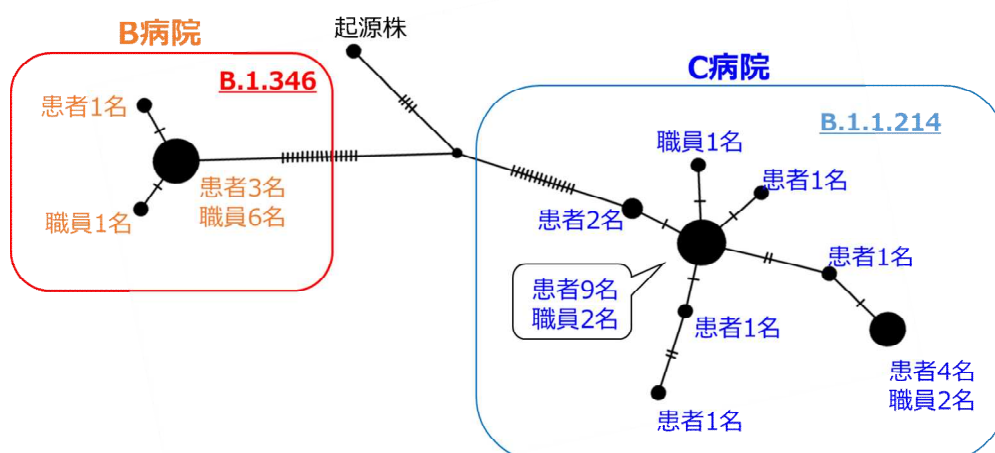


図3 事例2におけるハプロタイプ・ネットワーク図