

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 4 年度）

○上野 恵、石川 莉々子*1、新堀 もなみ、小室 慶子、
大久保 朝香、大澤 修一、檜村 諒、阿部 櫻子

※1 感染症対策課

要旨

国は 2020 年 3 月より新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の積極的疫学調査の一環として、次世代シーケンサー（NGS）による新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の全ゲノム解析を開始した。その後、国立感染症研究所、全国の地方衛生研究所及び検疫所等でゲノム・サーベイランスグループが構築され、現在に至るまで広く継続的に全ゲノム解析が実施されている。

当所は国立感染症研究所主体のゲノム・サーベイランスに協力するとともに、得られた解析情報を本県での感染経路の分析や流行推移の把握等の資料として活用している。

現在までの本県における全ゲノム解析の実施状況と検出株の推移について報告する。

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 月に発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、2020 年に世界的パンデミックを引き起こし、日本においては 2020 年 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。茨城県では同年 3 月に第一例目の感染者が確認されて以降、感染者の増加や新規変異株の出現等、感染状況は変化し続けている。

COVID-19 の対策として、国は 2020 年 3 月から新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）全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、実施状況及び検出株の推移に

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 発生初期から感染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 全ゲノム解析を開始している。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）を用いて全ゲノム情報を得て、各自治体に情報を還元してきた。

本県においても 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も 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⁾。

当所では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、全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 社) 及び COVID-19 解析用 NGS として2021年3月に導入した iSeq (Illumina 社) 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構築に努めてきた。

検査可能な人員については、当初は1名で対応していたが、感染者増加に対応するため所内研修等により人員の育成に努め、最大4名に増員して検査体制を強化してきた。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検体程度にまで拡充することができた。

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) にて陽性かつ Ct 値 27 以下の検体とし、地域や検体採取時期に偏りがないように選定を行っている。

B.1.1.7 系統等の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検査を行った。また、B.1.617.2 系統等のデルタ株に置き換わった2021年7月から B.1.1.529 系統のオミクロン株が台頭する2022年1月までは、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。

COVID-19 流行初期には当所に搬入された発症者や濃厚接触者等の行政検査検体が中心であったが、遺伝子検査可能な民間検査機関が増加したことから当所に搬入される検体が減

少し、全ゲノム解析用の検体の確保に苦慮するようになった。そのため2022年2月からは、民間検査機関より陽性検体の譲渡を受けて解析を行う体制を構築し、現在では民間検査機関から搬入された検体が大半を占めている。

3 当所における SARS-CoV-2 全ゲノム解析の実施状況 (令和4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、Multiplex PCR 及び NGS ライブラリ調製を行い、iSeq 又は MiSeq を使用した解析によりデータを取得した。データは国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター開発の web アプリケーション COG-JP にて解析を行い、Pangolin 系統等の詳細な情報を得た。なお、全ゲノム情報は国際的データベースである GISAID Initiative (<https://gisaid.org/>) に登録され、速やかに全世界的に情報共有されている。

3-2 対象

2020年3月から2023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)、並びに民間検査機関から搬入された SARS-CoV-2 陽性患者の検体や抽出 RNA を解析の対象とし、8,554 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送付した715検体のゲノム情報を加え、合計9,269検体分のゲノム情報を得た。

3-3 結果及び考察

本県における WHO 名称分類による検出株の推移を図.1 に示す。2020年3月に県内初の

陽性者が確認された後、同年5月頃まで、欧州由来株である B.1.1 中心の第1波が発生した。続く第2波から第3波では欧州由来株から日本独自に進化した B.1.1.284 及び B.1.1.214 が主流で、2021年春からの第4波では N501Y 変異を有する B.1.1.7 等のアルファ株が多数確認された。その後の第5波では、L452R 変異を有する B.1.617.2 等のデルタ株が主流となった。

2022年初からの第6波からはオミクロン株 (B.1.1.529 系統。再附番により BA と命名。) が主流であり、2022年2月以降現在に至るまで本県で全ゲノム解析を行った検体はすべてオミクロン株であった。

本県では2022年1月以降オミクロン株が継続して検出されているが、その中でも主流の系統は変化しており、検出株の推移を Pangolin 系統名による分類で示す (図.2)。第6波では BA.1 及び BA.2 系統が主流であったが、同年7月以降の第7波では BA.5 系統が主流となり、その中でも特に BA.5.2 系統が優勢であった。

2022年11月以降の第8波からは多数の亜系

統が派生し、検出される系統の種類が増え、中でも BA.2.75 系統 (通称ケンタウロス) や BA.5.3 の亜系統である BQ.1 及び BQ.1.1 (通称ケルベロス) が増加した。BQ 系統は 2022年末から 2023年初に欧米諸国を中心に大きく流行し、一時は世界的に主流であったが (2022年12月で世界全体の 49.0%)、日本においては諸外国ほどの優位性は示さないまま推移した⁶⁷⁾。一方、BJ.1 (BA.2.10 亜系統) と BM.1.1.1 (BA.2.75 亜系統) の組換え体である XBB 系統は、2022年9月に初めて報告されて以降世界的に急速に増加し、世界全体では 2023年3月で 73.9%を占めている⁶⁷⁾。XBB 系統は日本においても 2023年2月頃から増加傾向にあり、2023年3月時点で日本全体では 23.4%、茨城県では 20.4%となっており、今後の動向に注意が必要である⁶⁷⁾。

SARS-CoV-2 全ゲノム解析の体制を構築したことで、県内で流行する SARS-CoV-2 の系統を早期に把握することができるようになった。その中で感染力、伝播性の増加や抗原性の変化

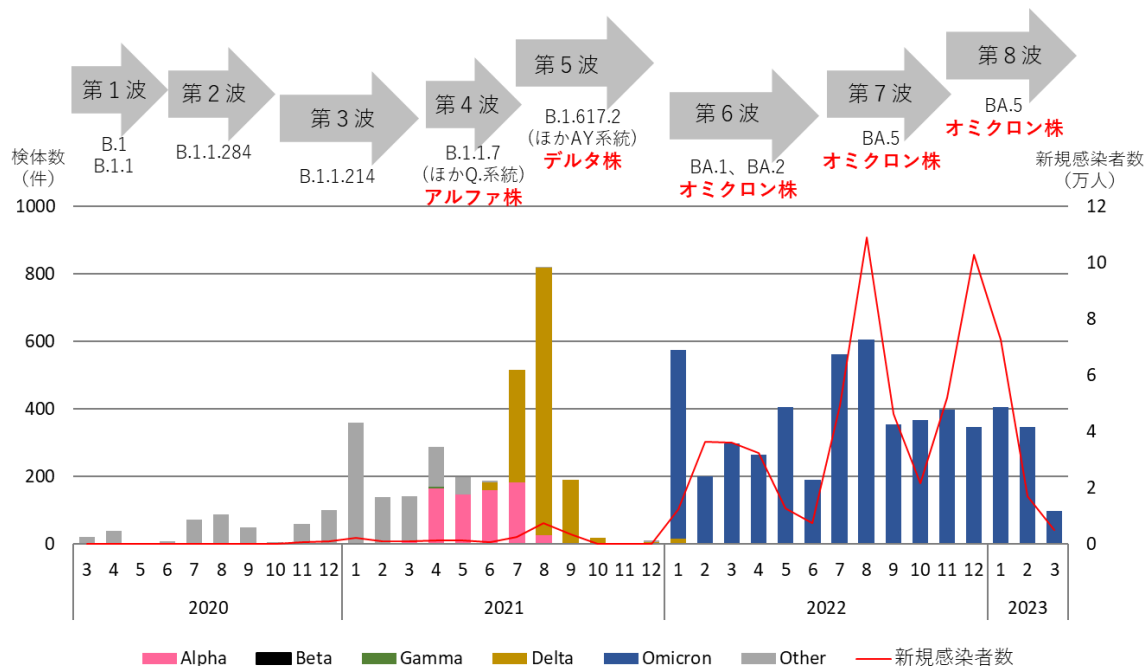


図.1 茨城県における検出株の推移 (WHO 名称分類)

が懸念される変異株が出現しており、今後も引き続きゲノム・サーベイランスを実施し、県内の流行状況を注視していくことが重要である。

4 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した。しかし、全ゲノム解析を継続して実施するには人的要因・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等が求められる。

全ゲノム解析によって得られたデータは、クラスター解析や新規変異株の早期探知を可能とし、感染伝播の追跡と収束のためのツールとして利用されるとともに、世界的な流行状況把握にも活用されている。今後も引き続き全ゲノム解析を継続して知見を積み重ね、公衆衛生的対策に活用していくことが重要である。

5 参考文献

- 1) 厚生労働省道発表資料「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
- 6) covSPECTRUM <https://cov-spectrum.org/>
- 7) Outbreak info <https://outbreak.info/>

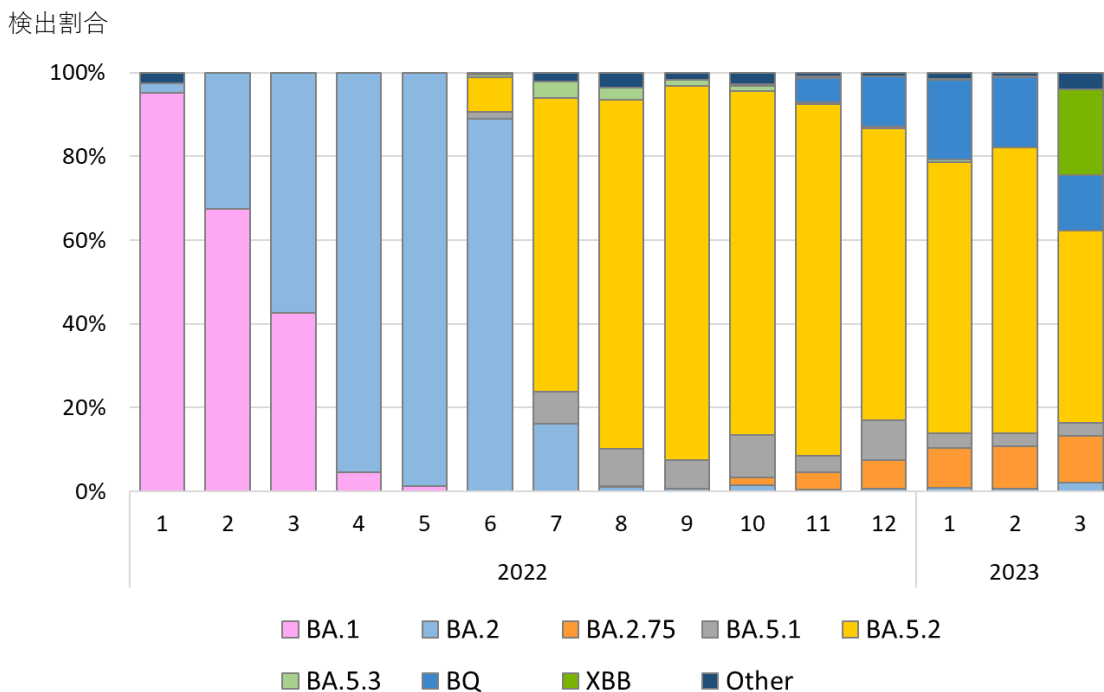


図.2 茨城県における検出株の推移（Pangolin 系統分類、2022 年 1 月以降）