

新型コロナウイルスにおけるゲノム解析結果（2023年4月～2024年3月）

黒沢博基 江原勇登 大阪由香 猪野翔一朗 濱本紀子 牧野由幸 川島都司樹 今泉晴喜 小暮葉 富岡恭子

Results of genome analysis for SARS-CoV-2 (April 2023–March 2024)

Hiroki Kurosawa, Hayato Ehara, Yuka Osaka, Shoichiro Ino, Noriko Hamamoto, Yoshiyuki Makino,
Toshiki Kawashima, Haruki Imaizumi, Shiori Kogure, Kyoko Tomioka

はじめに

2019年12月に中国武漢市で発生した新型コロナウイルス感染症は、短期間で世界中に広がり、2020年3月11日には世界保健機関（WHO）によりパンデミック状態にあると発表された。新型コロナウイルスの感染拡大によって社会経済活動が制約を受け、多くの人がこれまでとは違った生活を営まざるを得ず大きな影響を受けた。それから3年が過ぎ、2023年5月8日に新型コロナウイルス感染症の感染症法上の位置づけが5類感染症に移行し、全ての医療機関が毎日全ての感染者数を報告する「全数把握」から、指定された医療機関が1週間ごとの感染者数をまとめて報告する「定点把握」に変更され、大きな転換点を迎えた。しかしながら、2023年度も新型コロナウイルスは変異を繰り返すとともに大きな流行の波を繰り返し引き起こし、終息したとは言えない状況が続いている。

当所に搬入される新型コロナウイルス疑い検体は、民間検査機関の充実や積極的疫学調査の縮小により、2022年度から減少傾向にあった。一方で、変異株による新たな流行の波の発生が懸念され、変異株を確定するゲノム解析を継続的に行う必要に迫られていた。そこで、当所は継続的にゲノム解析結果を得るために、2022年4月から県内の医療機関から新型コロナウイルス陽性検体を受け入れ、さらに民間検査機関からゲノムデータを入手し、継続的な検体確保に努めた。

ゲノム解析情報は例えば同一のゲノム情報をもつウイルスであってもヒト側の持つ重症化リスク等を考慮に入れる必要があり、ゲノム変異だけを根拠に重症度への寄与を説明することは難しい。しかしながら、ゲノム情報を基にして、わかりやすい形でウイルス同士の関連を可視化し、世界のゲノム情報と比較することによって感染伝播の流れの発見による広域的な感染防止措置や日常的な感染防止対策に活用することが可能であり、そのためにも継続的に県内の発生の動向や推移を把握することは非常に重要である。

そこで、本調査では、前述の経緯のもと当所及び埼玉県内の各機関から集めたゲノム解析結果による主流系統の推移をまとめたので報告する。なお、2020年度のゲノム解析結果については、埼玉県衛生研究所報第55号¹⁾、2021年

度のゲノム解析結果については、埼玉県衛生研究所報第56号²⁾、2022年度のゲノム解析結果については、埼玉県衛生研究所報第57号³⁾にて報告しているところである。

材料及び方法

2023年4月3日から2024年3月末までに、県内の医療機関で採取された検体等を対象にゲノム解析を行った。抽出RNAをLunaScript RT SuperMix Kit (New England Biolabs) を用い逆転写した後、Q5 (NEB) を用いたマルチプレックスPCRを行い、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) によりライブラリーを調製した。AMPureXP (BeckmanCoulter) で精製後、MiSeqあるいはiSeqを使用しペアエンドシーケンスを行い、データを取得した。得られ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のwebアプリケーション⁴⁾によりゲノム配列及びPangolin (COVID-19 Lineage Assigner Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINEages) 系統⁵⁾を得た。

この検体に加え、さいたま市、川越市、越谷市、川口市におけるゲノム解析結果の提供分、さらに民間検査機関において実施したシーケンス結果を当所でゲノム解析した検体を加えた合計6,011検体について、採取日を元に1週間ごとのPangolin系統別検体数を集計した。

結果

ゲノム解析を実施した6,011検体のうち5,523検体について良好なゲノムデータ (Coverage95%以上, Total read 10,000以上) が得られ、350種のPangolin系統 (亜型) に分類された。

350種のPangolin系統 (亜型) は350種それぞれが独立した変異株ではなく、それぞれに親系統、子系統及び孫系統等が存在し樹形図のような繋がりを見せている。350種を樹形図化し、その中で主要な親系統として6種ピックアップしたPangolin系統 (亜型) 別検出数を表1に示した。なお、6種に分類されないものはその他として記載した。5,523検体全てオミクロン株もしくはオミクロン株同士のリコンビナント株で、変異株は多い順に、XBB.1系統が

3,869 検体, BA. 2. 86 系統が 880 検体, XBB. 2 系統が 296 検体, BA. 2. 75 系統が 236 検体, BA. 5 系統が 101 検体, BA. 2. 3 系統が 8 検体, その他 133 検体であった (表 1)。

表1 新型コロナウイルスゲノム系統別検出数 (n=5,523)

Pangolin系統	検体数
BA. 2. 3	8
BA. 2. 75	236
BA. 2. 86	880
BA. 5	101
XBB. 1	3,869
XBB. 2	296
その他	133
合計	5,523

また, 良好なゲノムデータが得られた 5,523 検体を, 採取日に基づき系統の検出数を週ごとにまとめ, 県内流行における主流系統の推移を調べた (図 1 積み上げ縦棒グラフ)。また別に, 同期間の定点当たり報告数から, COVID-19 の流行状況⁶⁾と比較した (図 1 折れ線グラフ)。

定点当たり報告数から, 2 つの大きな波が確認でき, 1 つ目の波のピーク時 (2023/9/4~9/10) は XBB. 1 系統が 91.2% (217 検体中 198 検体), 2 つ目の波のピーク時 (2024/1/22~1/28) は BA. 2. 86 系統が 66.5% (179 検体中 119 検体) を占めていた。

また, 表 1 や図 1 でまとめた主要亜型を更に細かく分類すると 1 つ目の波のピーク時 (2023/9/4~9/10) は XBB. 1 系統の中でも EG. 5 系統が 35.5% (217 検体中 77 検体) と最も多くを占め, 続いて XBB. 1. 16 系統が 20.3% (217 検体中 44 検体), XBB. 1. 9 系統が 12.0% (217 検体中 26 検体) を占めていた (図 2)。

2 つ目の波のピーク時 (2024/1/22~1/28) は BA. 2. 86 系統の中でも JN. 1 系統が 49.2% (179 検体中 88 検体) と大半を占めていた (図 2)。

2 つの波のうち 1 つ目の波の期間内 (2023/4/3~2023/11/12) において 273 種類の亜型が, また, 2 つ目の波の期間内 (2023/11/13~2024/3/31) において 100 種類の亜型が検出されている。その一方で, スパイク蛋白質に免疫逃避性を与えることが示されている塩基の変異に着目してみると, F486P 変異を持つ亜型は 2023 年 4 月から増加し, 1 つ目の波の期間内では 91.4% (4,120 検体中 3,764 検体) を占め, ピーク時には 95.9% (217 検体中 208 検体) を占めた (図 3)。L455S 変異を持つ亜型は 2024 年 1 月から増加し, 2 つ目の波の期間内では L455S 変異を持つ亜型が 48.7% (1,388 検体中 676 検体) を占め, ピーク時には 49.2% (179 検体中 88 検体) を占めた (図 4)。

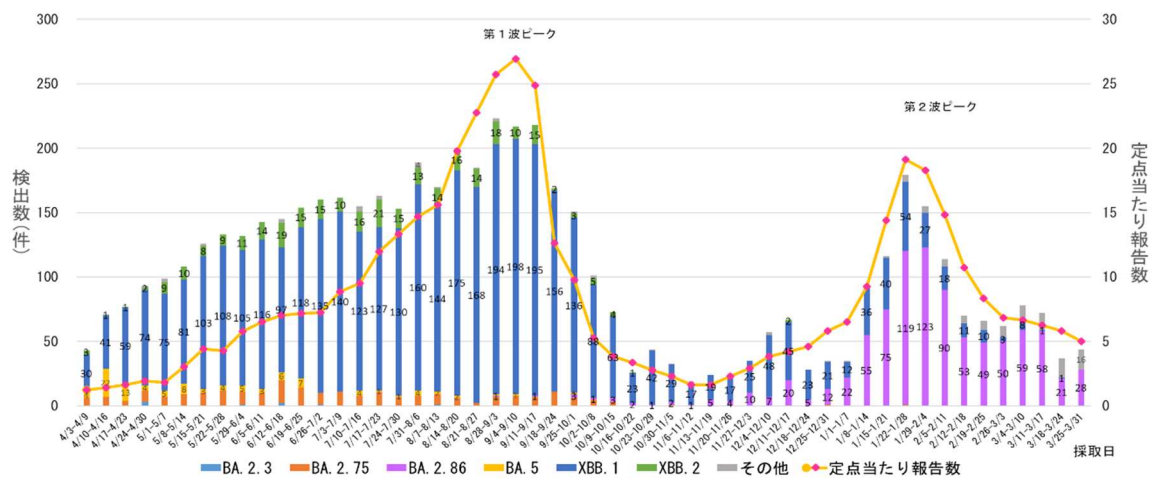


図1 新型コロナウイルス主要亜型系統別検出数 (2023/4/3~2024/3/31)

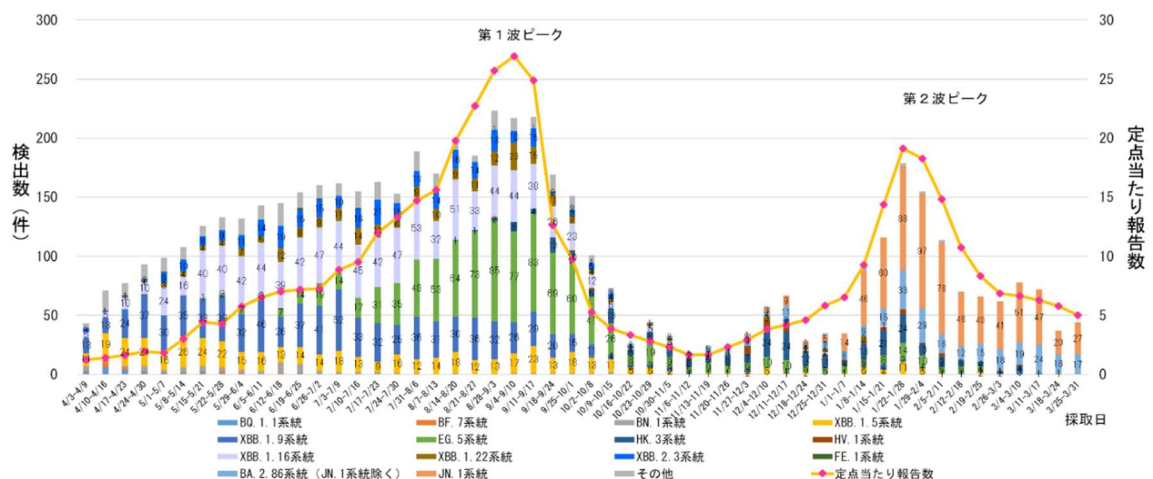


図2 新型コロナウイルス主要詳細亜型系統別検出数 (2023/4/3~2024/3/31)

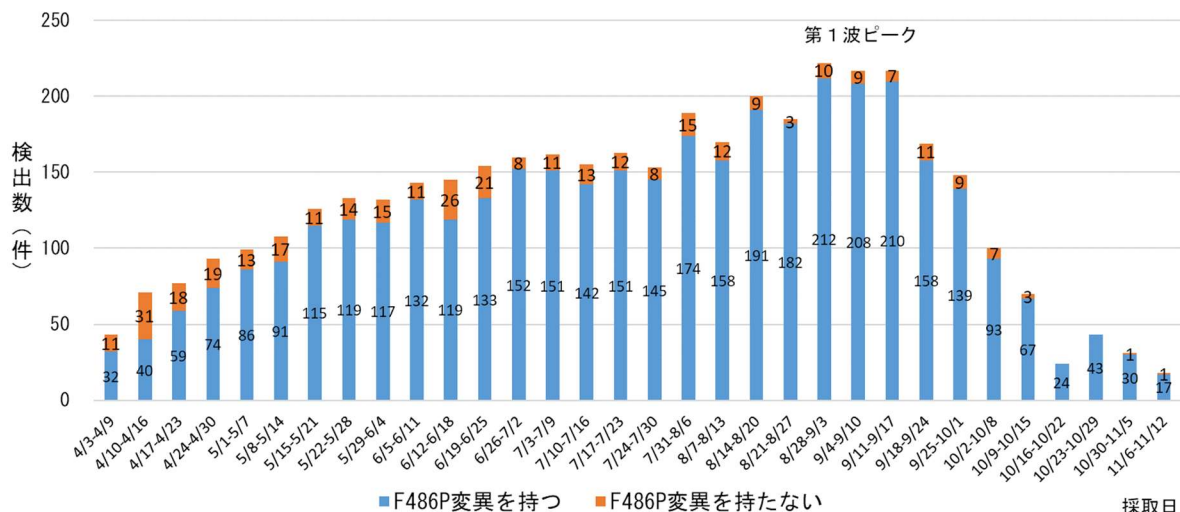


図3 F486P変異を持つ系統と持たない系統の推移

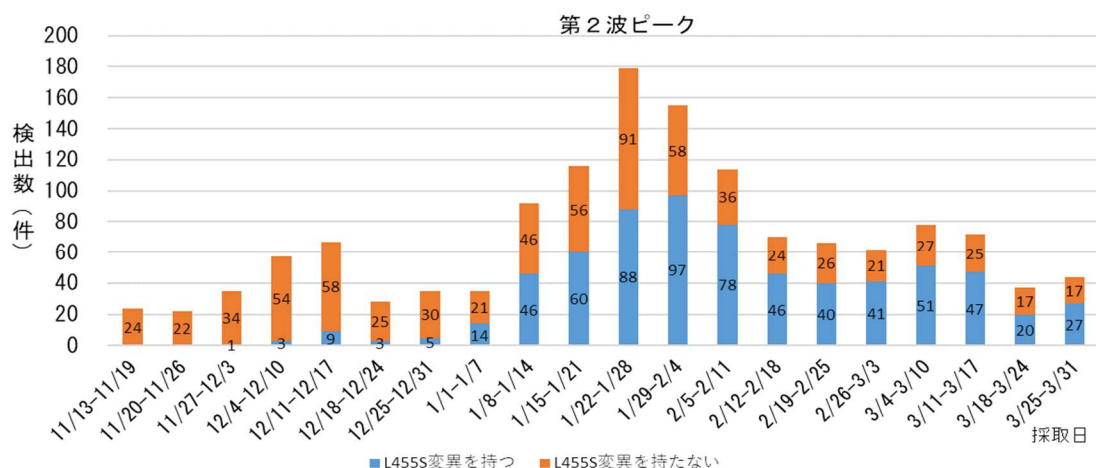


図4 L455S変異を持つ系統と持たない系統の推移

まとめ

オミクロン株が主流となって以降、検出された亜型の種類の増加に伴い、特に 2023 年度以降は特定の系統での流行

状況との関係が不明瞭となった。このため、免疫逃避能等に寄与しているといわれているスパイクタンパク質の中で流行株に共通する特徴的な塩基の変異に着目して集計・解析が必要となった。ゲノム解析の結果から塩基の変異に着目して流行の系統を見てみると、2023 年度の 1 つ目の波では「F486P 変異を有する XBB.1 系統」、2 つ目の波では主に「L455S 変異を有する BA.2.86 系統」であると考えられる。300 を超える亜型の種類が検出される中で、亜系統が有する変異が特定の部位に集中する傾向がみられるのは、それぞれの亜系統が類似した変異を独立して獲得するウイルスの収斂進化が起きていることを示唆している⁷⁾と考えられる。

今後の流行状況を把握していくためにも、複数の亜型に共通する特徴的な変異の有無に注目し、全ゲノム解析及び

疫学解析の統合的解析の必要性が示唆された。このため、ゲノム解析結果を流行状況と合わせて総合的に分析する上で必要となる客観的データを逐次収集していくと共に、解析技術の研鑽に日ごろから努める必要があると考える。

文献

- 1) 江原勇登, 篠原美千代, 鈴木典子, 他: 新型コロナウイルスにおけるリアルタイム PCR 検査, 変異株スクリーニング検査及びゲノム解析結果, 埼玉県衛生研究所報, 55, 82-84, 2021
- 2) 江原勇登, 鈴木典子, 大崎哲, 他: 新型コロナウイルスにおけるリアルタイム PCR 検査, 変異株スクリーニング検査及びゲノム解析結果(2020年1月~2022年3月), 埼玉県衛生研究所報, 56, 70-73, 2022
- 3) 江原勇登, 濱本紀子, 大崎哲, 他: 新型コロナウイルスにおけるリアルタイム PCR 検査, 変異株スクリーニング検査及びゲノム解析結果(2022年4月~2023年3月) 埼玉県衛生研究所報, 57, 60-64, 2023

- 4) 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター：
ARTIC (N2) 法による SARS-CoV-2 ゲノム解析のための
Web アプリケーション第 3 版 2021 年 4 月 16 日
- 5) PANGO Lineages,
<https://cov-lineages.org/index.html> (2024 年 7 月 18
日現在)
- 6) 埼玉県衛生研究所感染症情報センター: COVID-19 (新型
コロナウイルス感染症) の流行情報
[https://www.pref.saitama.lg.jp/b0714/surveillance
/covid-19teiten2.html](https://www.pref.saitama.lg.jp/b0714/surveillance/covid-19teiten2.html) (2024 年 7 月 18 日現在)
- 7) Cao, Y., Jian, F., Wang, J. *et al.*: Imprinted SARS-
CoV-2 humoral immunity induces convergent Omicron
RBD evolution. *Nature* **614**, 521-529 (2023).
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05644-7>