

福岡市における SARS-CoV-2 のゲノム解析

讃井武蔵・松平美咲・野口翔平*・林萌・宮本道彦・和佐野ちなみ

福岡市保健環境研究所保健科学課

*福岡市保健医療局生活衛生部食品衛生検査所

Genome Analysis of SARS-CoV-2 in Fukuoka City

Musashi SANUI, Misaki MATSUDAIRA, Syohei NOGUCHI, Megumi HAYASHI,

Michihiko MIYAMOTO and Chinami WASANO

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

*Food Inspection Station, Environmental Health Department, Public Health & Medical Care

要約

福岡市保健環境研究所では、令和3年2月5日付け健感発0205第4号「新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株PCR検査について（要請）」に基づき、2021年12月からSARS-CoV-2陽性検体のゲノム解析を開始した。2021年12月から2023年3月までの間に採取された福岡市内のSARS-CoV-2陽性検体のゲノム解析結果を用いて、同時期の市内報告陽性者数と比較したSARS-CoV-2の流行株解析を実施した。本市では、2021年第52週採取検体からオミクロンBA.1系統が初めて検出され、流行株がBA.1系統に置き換わるとともに陽性者数の増加が認められた（第6波）。2022年第26週採取検体から、オミクロンBA.5系統が検出され、第6波と同様に流行株に置き換わるとともに陽性者数の増加が認められた（第7波）。2022年第40週採取検体から、世界保健機関（WHO）が指定する「監視下のオミクロンの亜系統」に該当するBA.5系統が検出され、その検出割合が徐々に高まっていくとともに陽性者数の増加が認められた（第8波）。

Key Words : 新型コロナウイルス SARS-CoV-2, 次世代シーケンサー next generation sequencer, ゲノム解析 genome analysis

1 はじめに

新型コロナウイルス感染症（Coronavirus disease of 2019 : COVID-19）は、2019年12月に中華人民共和国湖北省武漢市において世界で初めて確認された。新型コロナウイルス（Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 : SARS-CoV-2）に起因し、咳、高熱、肺炎を主症状とする新興感染症であり、2023年3月末時点で「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成10年法律第114号）において「新型インフルエンザ等感染症」に位置付けられている。SARS-CoV-2は、世界各地で感染を拡大し、福岡市においても、2023年3月までに8回の流行期があっており、累計で約50万人が感染している。SARS-CoV-2は約3万塩基のプラス鎖RNAゲノムを有しており、感染と増殖を繰り返すうちにそのウイルスのゲノムに変異

を起こし、その変異速度は2023年3月末時点で約29塩基変異/ゲノム/年（約12.6日に1塩基変異）と推測されている（NextStrain<<https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time?dmax=2023-03-31&l=clock>>）。SARS-CoV-2は、変異を基に系統分類されており、2023年3月現在2,700以上のPango系統に分類されている（cov-lineage.org<<https://cov-lineage.org>>）。

福岡市保健環境研究所では、令和3年2月5日付け健感発0205第4号「新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株PCR検査について（要請）」¹⁾に基づき、SARS-CoV-2陽性検体について、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を実施している。

本稿では、これまでに当所で実施したゲノム解析結果について報告する。

2 実験方法

2.1 解析対象

2021年12月3日以降に採取された SARS-CoV-2 陽性者の 4,990 検体（鼻咽頭ぬぐい液，唾液等）について，SARS-CoV-2 の核酸抽出を行い，ゲノム解析の対象とした．そのうち，解析結果が得られた 3,905 件について，市内の SARS-CoV-2 変異株及び陽性者数の動向を調査するための流行株解析の対象とした．流行株解析に用いた陽性者数は，2021年12月から2023年3月までの期間における本市の公表値²⁾を集計した．

2.2 試薬・装置等

SARS-CoV-2 陽性検体からの核酸抽出は，QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いて行った．以降の操作は，国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター（以下，「感染研」とする．）が作成した「新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編³⁾」に従って行った．すなわち，LunaScript RT SuperMix (NEB) により抽出 RNA を逆転写反応し，逆転写産物 (cDNA) の増幅には，感染研が設計したプライマーセットを用いた．ライブラリー調製は，QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) により，断片化反応及びアダプター付加反応を行い，ライブラリーの精製は，Agencourt AMPure XP (BECKMAN COULTER) を用いた．調整したライブラリーは，次世代シーケンサー iSeq 100 (illumina) を使用し，塩基配列情報を取得した．

2.3 ゲノム解析

次世代シーケンサーから得られたデータは，感染研が開発した SARS-CoV-2 のゲノム解析用サーバーである COG-JP (COVID-19 Genomic Surveillance Network in Japan) で解析し，ウイルスのゲノム配列，SARS-CoV-2 参照配列に対するアミノ酸変異及び Pangolin (Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LiNeage) による系統分類結果 (Pango 系統) を取得した．

なお，Pangolin に用いた version は，2021年12月から2023年3月に COG-JP に実装されたものである．

2.4 流行株解析

陽性者数及びゲノム解析結果を検体採取週毎に集計した．感染拡大期 (波) を以下に示すとおり定義し，週毎の系統別検出状況をグラフ化することで各波における株の流行状況を解析した．

- ・第6波 2021年第48週～2022年第23週
- ・第7波 2022年第24週～2022年第38週
- ・第8波 2022年第39週～2023年第12週

3 実験結果

3.1 ゲノム解析実施状況

SARS-CoV-2 のゲノム解析結果 (Pango 系統) を週毎に集計したものを表1～表3に示す．

3.2 流行株解析

3.1 の結果及び陽性者数の公表値を用いて，各波においてそれぞれ主流となった系統の分析を行った．

3.2.1 第6波における流行株解析

第6波における流行株解析結果を図1に示す．2021年第52週採取検体から BA.1 系統 (Omicron 株) が初めて検出され，その翌週には Delta 株から急速な置換わりが認められた．BA.1 系統の検出割合の増加に追従して陽性者が急増し，わずか4週間後の2022年第4週にピークに達した．その後，2022年第10週採取検体から BA.2 系統 (Omicron 株) が初めて検出された．ごく短期間で Delta 株から置き換わった BA.1 系統とは異なり，BA.2 系統への置換わりには約7週を要した．また，BA.1 系統出現時と比較して，陽性者の著しい増加は認められず，ピーク時からの陽性者減少については遷延化が認められた．

3.2.2 第7波における流行株解析

第7波における流行株解析結果を図2に示す．2022年第26週採取検体から BA.5 系統 (Omicron 株) が初めて検出され，BA.2 系統からの置換わりが進むとともに陽性者が急増し，約4週間後にピークを迎えた．

3.2.3 第8波における流行株解析

第8波における流行株解析結果を図3に示す．2022年10月に世界保健機関 (World Health Organization : WHO) から「Omicron Subvariants Under Monitoring (監視下のオミクロンの亜系統)」(以下，「OSUM」とする．) が新たに指定され⁴⁾ (WHO<<http://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>>)，スパイクタンパク質に特定のアミノ酸変異 (「R346x」, 「K444x」, 「V445x」, 「N450D」又は「K460x」) を有する BA.5 系統について，OSUM に該当する BA.5 系統として他の BA.5 系統と分けて集計を行った．他に OSUM に該当する BA.2.75 系統 (Omicron 株) 及び XBB 系統 (BJ.1 系統と BM.1.1.1 系統の組換え体 (Recombinant)) は，別に集計した．

OSUM に該当する系統が2022年第40週に初検出されてから，感染拡大のピークまでに11週かかっており，従来株からの流行株の置換わり及び感染数の増加が，第6波及び第7波と比較して，緩やかであった．

表1 第6波におけるゲノム解析結果

	系統 (件)			陽性者数 (人)
	Delta	BA.1	BA.2	
2021年第48週	3			6
2021年第49週	4			3
2021年第50週	2			1
2021年第51週	7			17
2021年第52週	3	6		18
2022年第1週	3	65		299
2022年第2週		61		2508
2022年第3週		43		7387
2022年第4週	1	46		12655
2022年第5週	1	27		12371
2022年第6週		73		9507
2022年第7週		71		8446
2022年第8週		88		7202
2022年第9週		81		6134
2022年第10週		74	1	5440
2022年第11週		68	10	4291
2022年第12週		70	16	4134
2022年第13週		38	23	5183
2022年第14週		7	10	6271
2022年第15週		1	5	5955
2022年第16週		2	5	5427
2022年第17週			13	4776
2022年第18週			7	4104
2022年第19週			10	4820
2022年第20週			6	4410
2022年第21週			7	3319
2022年第22週			4	2279
2022年第23週			1	1589

表2 第7波におけるゲノム解析結果

	系統 (件)				陽性者数 (人)
	BA.1	BA.2	BA.5	その他 の系統	
2022年第24週		17			1322
2022年第25週		4			1749
2022年第26週		30	18		2997
2022年第27週	1	82	118		6879
2022年第28週		29	70		15415
2022年第29週		11	75		27175
2022年第30週		4	96		30714
2022年第31週		4	81	1	26207
2022年第32週		1	89	1	21774
2022年第33週			96	1	25763
2022年第34週		1	98		19812
2022年第35週		1	76		12079
2022年第36週		1	96		7956
2022年第37週		1	59		5463
2022年第38週			73	1	3768

表3 第8波におけるゲノム解析結果

	系統 (件)						陽性者数 (人)
	BA.5	BA.5 (OSUM)	BA.2.75 (OSUM)	XBB (OSUM)	BA.2	その他の系統 (OSUMを含む)	
2022年第39週	59						2479
2022年第40週	81	1					1911
2022年第41週	48	10	1				2086
2022年第42週	80	14	1				2134
2022年第43週	85	8		2			2601
2022年第44週	71	1	6				3089
2022年第45週	55	17	2	1	1	2	4440
2022年第46週	56	15	2				5122
2022年第47週	59	17	2	1	1	2	5909
2022年第48週	52	16	3				6738
2022年第49週	48	24	11				9350
2022年第50週	47	35	7			1	14344
2022年第51週	48	32	8				17214
2022年第52週	1						14309
2023年第1週	58	49	21		1	1	15496
2023年第2週	21	32	9				12849
2023年第3週	27	24	13				7593
2023年第4週	37	27	11			1	4610
2023年第5週	28	27	18			3	3596
2023年第6週	11	35	20			1	2083
2023年第7週	10	38	16	5			2029
2023年第8週	3	7	11	1			997
2023年第9週		8	9	2			771
2023年第10週	4	5	5	1			676
2023年第11週		12	5	1			541
2023年第12週	1	8	4	4			514

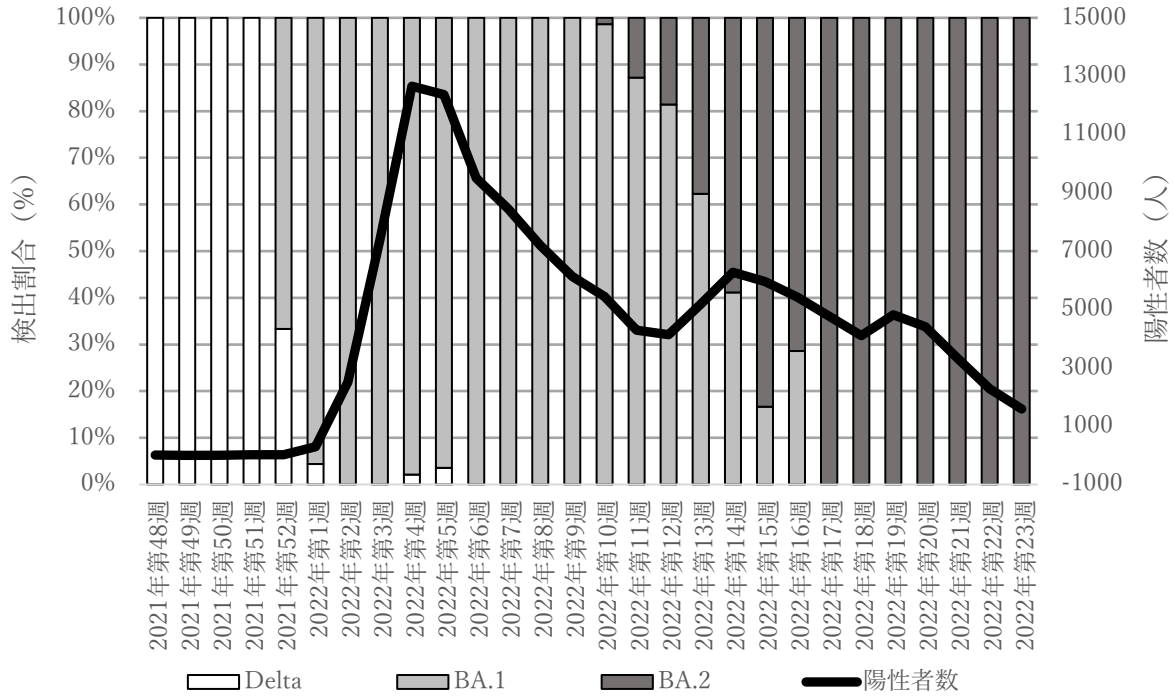


図1 第6波における流行株解析

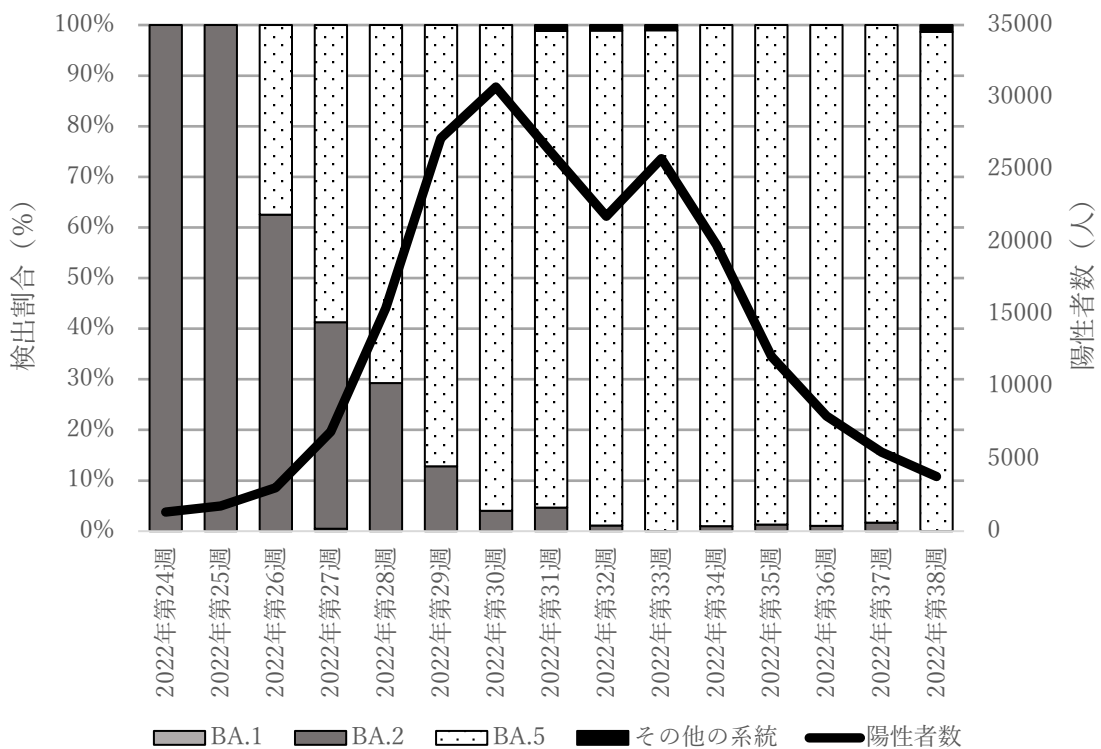


図2 第7波における流行株解析

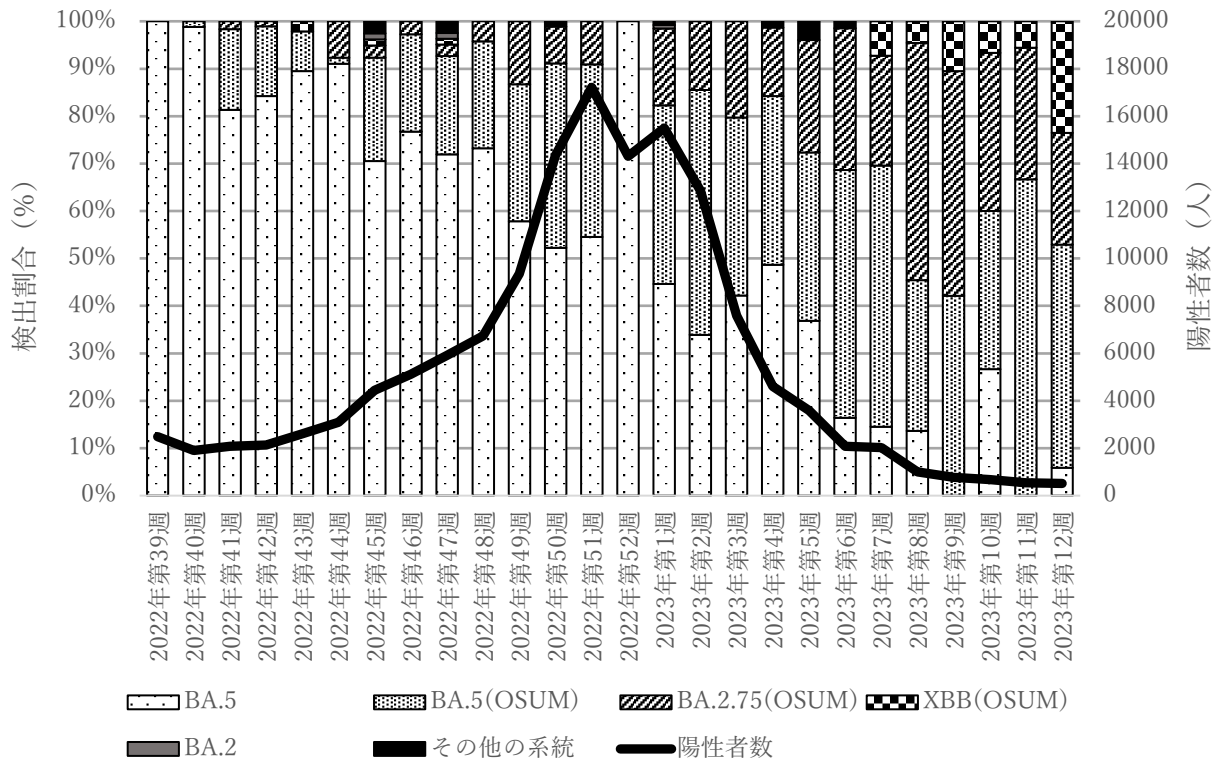


図3 第8波における流行株解析

4 まとめ

当所では、2021年12月からSARS-CoV-2のゲノム解析を開始し、本市における第6波から第8波までのいずれの波についても、感染拡大に先駆けて流行が懸念される株（系統）を確認してきた。また、これまで8回あった本市における感染拡大期は、全て主流となる株（系統）が異なっており、流行主流株の置換わりに伴い感染拡大が確認されてきた。ゲノム解析を行うことにより、新たな変異株の出現を早期に探知できることに加え、陽性者数のモニタリングを合わせて行うことで、新たな変異株による感染拡大の兆候をつかめる可能性があることが示唆された。今後も市内におけるSARS-CoV-2の流行株を把握するために、ゲノム解析及び流行株解析を継続していく。

文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知健感発 0205 第 4 号：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株 PCR 検査について（要請），令和 3 年 2 月 5 日
- 2) 福岡市での発生状況 日別事例数<新型コロナウイルス感染症>
https://www.city.fukuoka.lg.jp/hofuku/coronataisaku/health/jirei/cohs_.html
- 3) 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター：新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編，2021
- 4) 国立感染症研究所：感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される 新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の変異株について（第 21 報），2022 年 10 月 21 日