

秋田県で検出された SARS-CoV-2 のゲノム解析結果について

秋田県健康環境センター 保健衛生部

○樫尾拓子 伊藤佑歩 鈴木純恵 柴田ちひろ

藤谷陽子 秋野和華子 斎藤博之

【はじめに】

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は 2019 年 12 月に中国で初めて確認されて以降、世界中に感染が拡大し、その過程で様々な変異が生じている。当センターでは国からの通知に基づき^{1),2)}、変異株の発生状況の把握や早期探知を目的として変異株スクリーニング検査を行うとともにゲノム解析を実施してきた。

今回、得られたゲノム解析のデータからハプロタイプ・ネットワーク図を作成し、疫学情報と合わせて、秋田県における SARS-CoV-2 の分子疫学解析結果をまとめたので報告する。

【対象と方法】

1. 対象

2020 年 11 月から 2022 年 8 月に、当センターでリアルタイム PCR により SARS-CoV-2 遺伝子が検出された 3,922 検体のうち、Ct 値 30 以下であった中から、クラスターや発生地域等を考慮して抽出した 421 検体を対象とした。

2. 方法

2.1 系統分類

2020 年 11 月 24 日から 2021 年 8 月 19 日までの 184 検体については国立感染症研究所に、2021 年 8 月 20 日から 2021 年 12 月 1 日までの 32 検体についてはユーロフィンジェノミクス株式会社に、ゲノム配列の確定（次世代シーケンス解析）及び系統分類を依頼した。2021 年 12 月 2 日以降の 205 検体については（株）ビー・エム・エルにゲノム配列の確定を依頼し、得られたデータを基に「ARTIC-N1 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（感染研病原体ゲノム解析研究センター第 3 室）」により当センターで系統分類を行った。

2.2 ハプロタイプ・ネットワーク図

次世代シーケンスで得られた Fasta ファイルから上記 Web アプリケーションで SNV.phy ファイルを作成し、PopART version 1.7³⁾ を用いてネットワーク図を作成した。

【結果と考察】

1. 系統分類

解析を実施した 421 検体の結果を表 1 に、各系統の月別検出数を図 1 に示す。なお、各 Pango 系統は派生した亜系統も含めて表記した。県内で検出された SARS-CoV-2 の系統が、時間の経過とともに変化している様子が認められた。

表 1 系統分類

Pango系統	B.1.1.214	B.1.1.284	R.1	B.1.1.7	B.1.617.2	BA.1	BA.2	BA.4	BA.5	分類不能	解析不能	合計
検体数	8	4	54	56	86	101	70	8	25	1	8	421
WHOラベル	-	-	-	Alpha	Delta	Omicron						

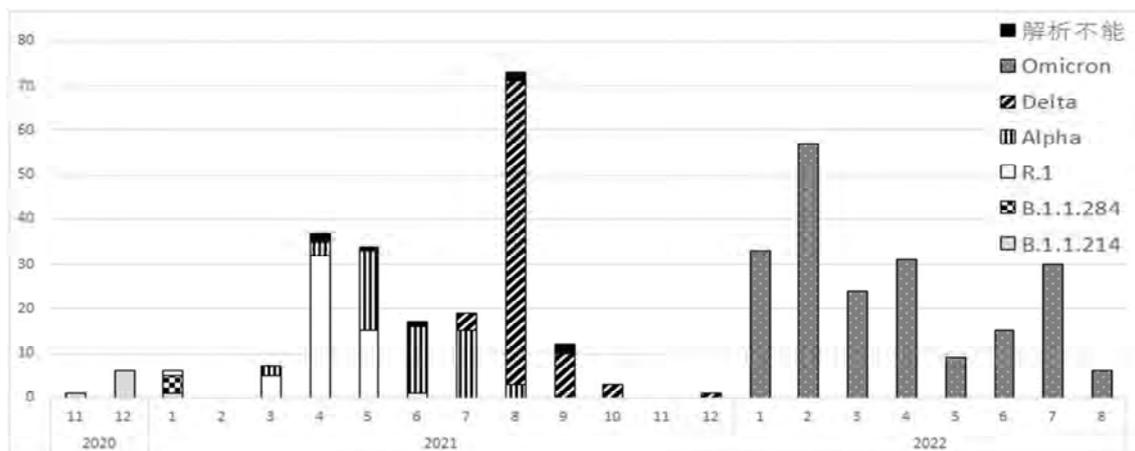


図 1 系統分類・月別検出数

2. ハプロタイプ・ネットワーク図

秋田県のハプロタイプ・ネットワーク図を図 2 に示す。

ハプロタイプ・ネットワーク解析に使用可能な精度が得られた検体は 421 検体中 344 検体 (B.1.1.214 系統 8 検体、B.1.1.284 系統 3 検体、R.1 系統 46 検体、アルファ株 49 検体、デルタ株 46 検体、オミクロン株 192 検体) であり、その結果は各系統に大きく分けられた。以降、系統ごとに詳細を示す。

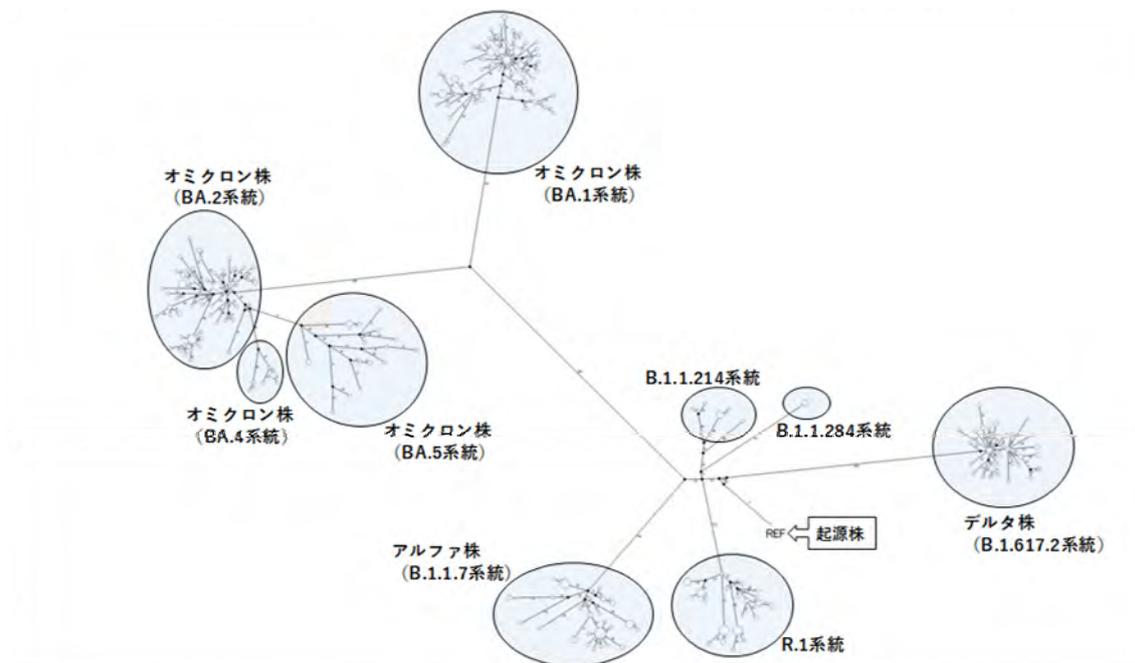


図 2 ハプロタイプ・ネットワーク図 (全検体)

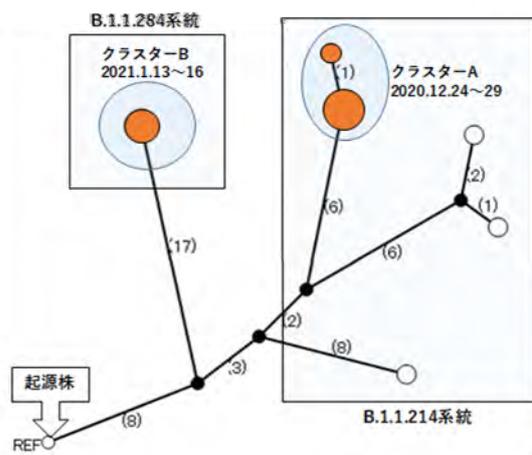


図3 B.1.1.214 系統, B.1.1.284 系統

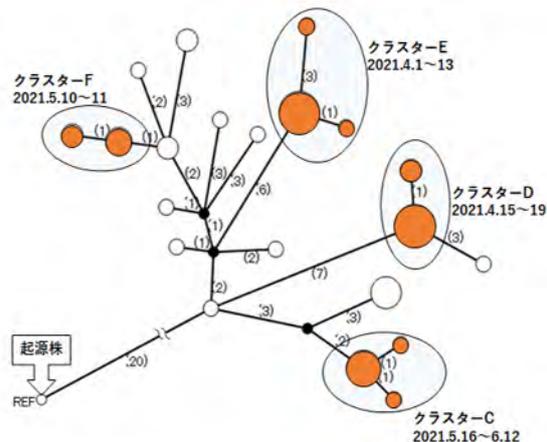


図4 R.1 系統

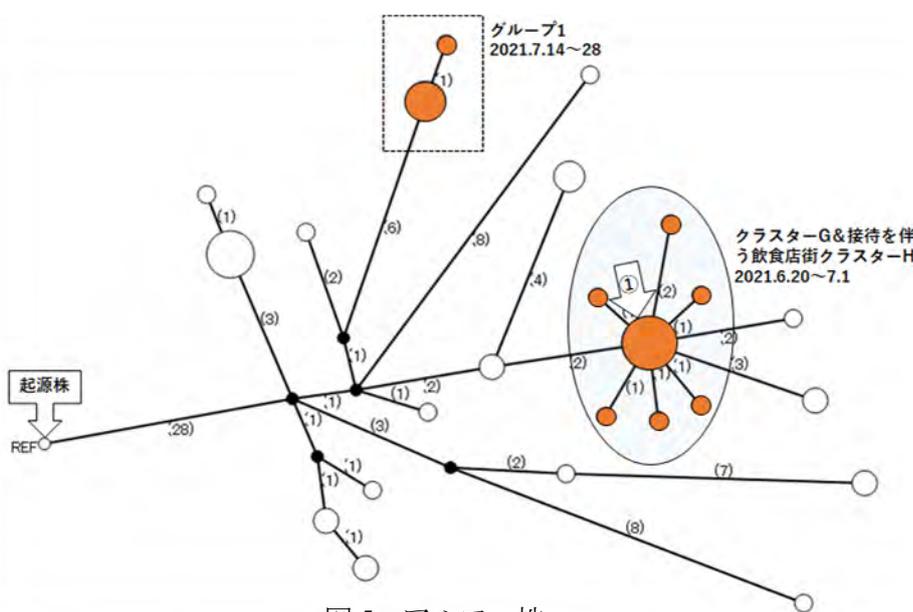


図5 アルファ株

2.1 B.1.1.214 系統、B.1.1.284 系統 (図3)

この2つの系統は欧州系統 (B.1.1.114) から派生し、全国的には第2波 (B.1.1.284)、第3波 (B.1.1.214) の主流系統とされる⁴⁾。県内では2020年11月から2021年1月にかけて検出されていた。この間、約2週間の差でクラスターA (県中部から県北部)、B (県南部) が発生したが、両者は系統が異なっており、それぞれ別の流入経路があったと考えられる。

2.2 R.1 系統 (図4)

E484K 変異を有し、主に東日本を中心に報告された系統で、県内では2021年1月から6月にかけて検出されていた。クラスターC、D、E、Fは県中部と県南部の2保健所管内でほぼ同時期に起きていたが、その配列は異なっておりクラスター間の直接的な繋りの可能性は低いものと思われた。

2.3 アルファ株 : B.1.1.7 系統 (図5)

N501Y 変異を有するアルファ株 (B.1.1.7 系統) は2021年3月から8月にかけて検出さ

れた。この中で、矢印①で示した集団には6月下旬に発生した複数の保健所にまたがるイベントクラスターGと、同時期に県央部の飲食店街で発生したクラスターHから採取された検体が含まれた。このことから、2つのクラスターは同一の感染源、もしくはどちらかから派生したクラスターであった可能性が示唆された。また、グループ1は7月中旬から下旬に、県南部の同一保健所管内において発生した散発事例で採取された検体の集団（6検体）である。当時はそれぞれの関連性は把握されていなかったが、今回の解析により何らかの感染リンクがあったものと推察された。

2.4 デルタ株：B.1.617.2系統（図6）

L452Rを有するデルタ株（B.1.617.2系統）は2021年7月から12月にかけて検出されていた。クラスターIは県北部の事業所で発生したものであり、ほぼ同時期に県央部（矢印②、③）と県南部（矢印④）の保健所管内で散発事例として採取された検体とゲノム上近い関係にあった。散発事例は疫学調査の結果から明らかに県外で感染したものと判断され、8月上旬はゲノム上近縁の株が様々なルートから流入していたものと考えられる。

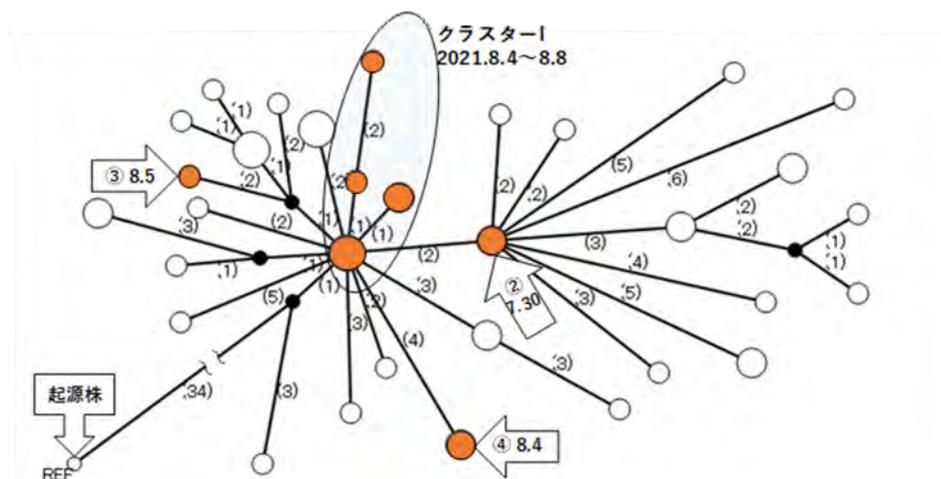


図6 デルタ株

2.5 オミクロン株：BA.1系統、BA.2系統、BA.4系統、BA.5系統（図7）

G339Dを有するオミクロン株は2022年1月から現在まで長期にわたって検出されている。ネットワーク図では大きく4つに分けられ、BA.2系統、BA.4系統、BA.5系統はゲノム上近い関係であることが分かる。県内で初めて検出された矢印⑤、2番目に検出された矢印⑥は、県北部の別の保健所管内で採取され、その差はわずか2日であったが、それぞれBA.1の別の亜系統に属しており、異なった経路から流入してきたことが示唆される。

BA.2系統は1月に県南部で初めて確認されたが（グループ2）、1週間あまりで検出されなくなった。1月は、県全体で見てもこのグループ以外にBA.2系統は確認されておらず、BA.1系統のみが検出されていた。このことから、グループ2は他事例と全く異なる感染リンクがあったものと考えられる。次にBA.2系統が確認されたのは3月上旬で、その後7月まで検出が続いていた。

BA.4 系統は7月上旬から下旬の短期間のみ検出された。BA.5 系統は6月下旬から検出され始め、7月23日以降は全てこの系統であった。

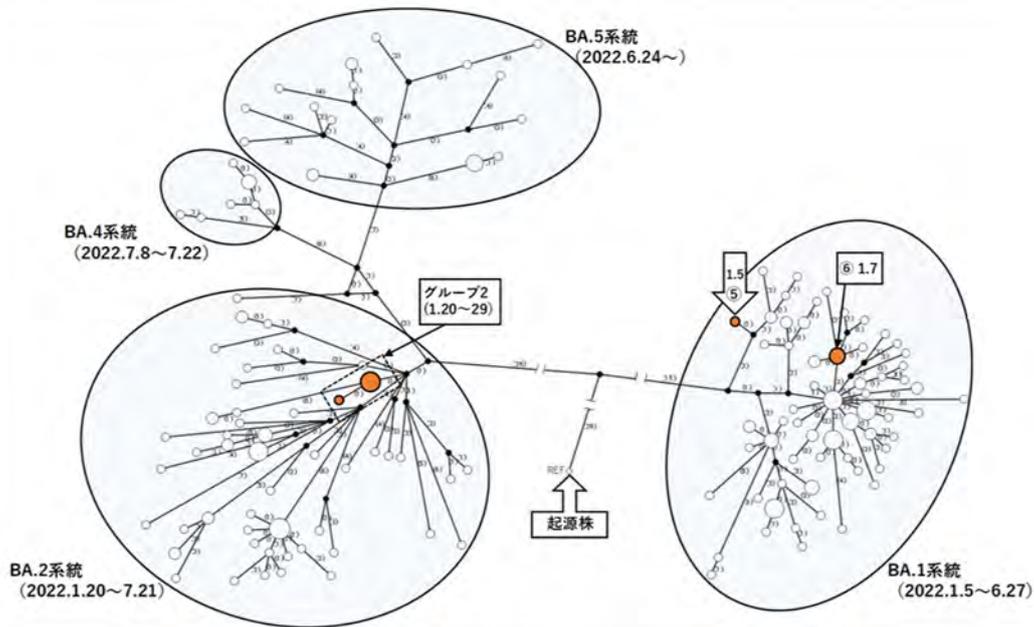


図7 オミクロン株

【まとめ】

今回、分子疫学解析を行うことで、検体採取当時には感染リンクが不明だった事例同士のつながりや関連性を見出すことができました。しかしながら、ゲノム解析は時間を要し、検体についても通常のリアルタイムPCRと比較して制約がある。従って、変異株の大まかな動向を捉えるための迅速なリアルタイムPCRによるスクリーニング検査と、感染リンクの推定や変異株の詳細な系統分類把握等を目的としたゲノム解析を並行して実施することが重要と考える。今後も解析を行いながら保健所等と情報を共有することで、秋田県の感染症対策に貢献できるよう努めたい。

【参考文献】

- 1) 「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（要請）」（令和2年11月11日付け健感発1111第1号）
- 2) 「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日付け健感発205第4号）
- 3) Leigh J.W., Bryant D. 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.*, 6(9), 1110-1116
- 4) 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター,他:新型コロナウイルス SARS-CoV-2 ゲノム情報による分子疫学調査(2021年1月14日現在), *病原微生物検出情報*, 42(3), 61-64 (2021)