

令和4年度秋田県保健環境業務研究発表会抄録

秋田県で検出された SARS-CoV-2 のゲノム解析結果について

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 齋藤博之

1. 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。

2. 対象と方法

2.1 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。

2.2 方法

2.2.1 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。

2.2.2 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。

表1 系統分類

Pango系統	B.1.1.214	B.1.1.284	R1	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						

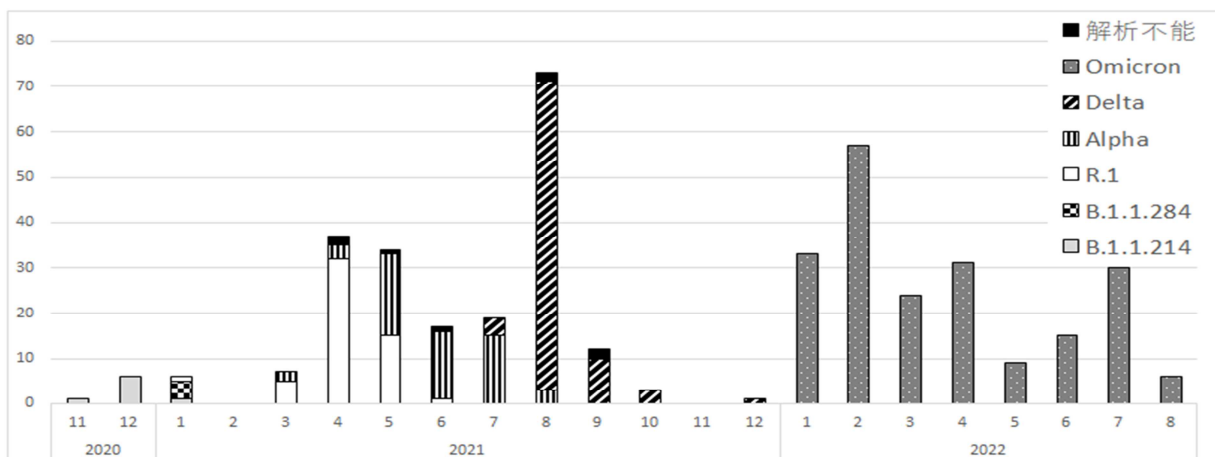


図1 系統分類・月別検出数

3. 結果と考察

3.1 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。

3.2 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。

3.2.1 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。

3.2.2 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がり可能性は低いものと思われた。

3.2.3 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、同時期に県中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。

3.2.4 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、ほぼ同時期に県中部 (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。

3.2.5 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。

4. 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. PopART : Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.*, **6**, 2015, 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, 2021, 61-64.

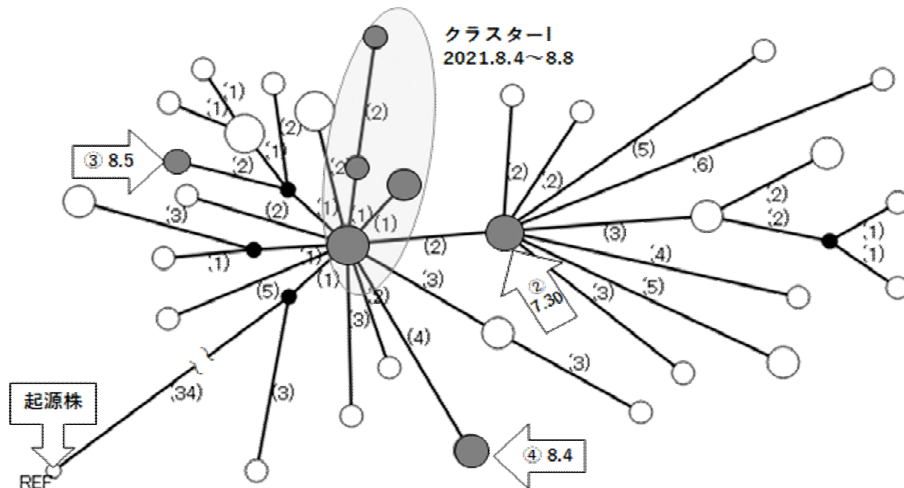


図6 デルタ株

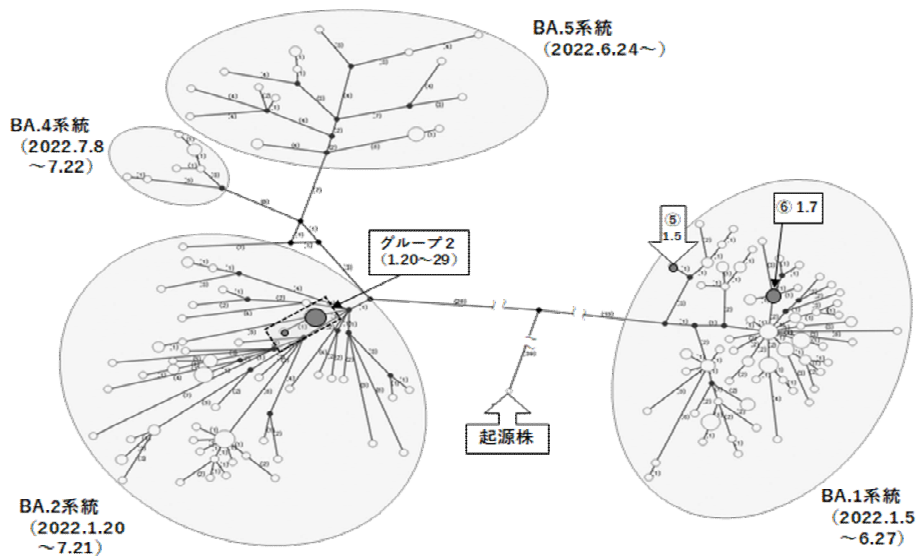


図7 オミクロン株