

鳥取県内の新型コロナウイルス変異株のスクリーニング検査及びゲノム解析結果について（2022 年度）

【保健衛生室】

渡邊知美、上田豊、左藤夏子、堀内頼道¹⁾、田中大和²⁾、林原健吉

要旨

鳥取県衛生環境研究所は県内の新型コロナウイルス変異株の動向把握等のため変異株スクリーニング検査及び全ゲノム解析を実施している。2022 年度に実施した結果、第 6 波後半の 2022 年 4 月以降には BA. 1 系統から BA. 2 系統への置き換わりが見られた。2022 年 6 月下旬には、BA. 5 系統が県内で初めて確認され、その後第 7 波の主流となった。10 月からの第 8 波では、BN 系統をはじめとする BA. 2 系統、BA. 5 系統やその亜系統である BQ 系統、また XBB 系統等の組換え体など様々な系統が検出された。

大きな流行は新たな変異株の出現によってもたらされており、リアルタイム RT-PCR 法を用いたスクリーニング検査では迅速な変異株の探知につながった。全ゲノム解析ではスクリーニング検査で判別できない遺伝子系統の解析により、県内の変異株の動向把握や疫学調査の一助となった。

1 はじめに

2019 年 12 月に中国で最初に確認され、世界各国で流行した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、鳥取県内では 2020 年 4 月に初めて感染が確認され、変異し続けながら流行を繰り返している。

当所では、県内の変異株の動向把握及び疫学調査の一助とするため、県内において PCR 検査で陽性と判定された検体を対象として変異株のスクリーニング検査及び全ゲノム解析を実施している。このたび 2022 年度に当所が実施した変異株スクリーニング検査及び全ゲノム解析の結果をまとめたので報告する。

2 材料及び方法

2.1 変異株スクリーニング検査

2022 年度に当所及び県内の民間検査機関で実施した新型コロナウイルス感染の定性判定に係る PCR 検査（以下、「定性判定 PCR 検査」とする。）で陽性であった検体を対象としてウイルス蛋白質の特定アミノ酸の変異 (T547K 変異、L452R 変異) について、スクリーニング検査を行った。対象とした詳細な検体情報を表 1 に示す。

いずれも唾液又は鼻咽頭拭い液等の臨床検体からプレジジョン・システム・サイエンス社の全自動核酸抽出装置 (magLEAD 12gc) を用い抽出した RNA を鋳型とし、One Step PrimeScript III RT-qPCR Mix (タカラバイオ) を用い、リアルタイム RT-PCR を行った。PCR の反応条件、プライマー及びプローブは国立感染症研究所の示す方法^{(1), (2)}に準じた。

2.2 全ゲノム解析

当所及び県内の民間検査機関で実施した定性判定 PCR 検査で陽性となった検体のうち、Ct 値がおおよそ 30 未満のウイルス量が多い検体を選定し、2022 年度は 2,278 検体を対象に実施した。ゲノムデータ取得のための前処理は、検体から抽出した RNA を鋳型とし、国立感染症研究所の新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル⁽³⁾に従って行った。ゲノムデータの取得には次世代シーケンサー装置である iSeq100 (Illumina) を使用し、得られたデータから国立感染症研究所が運営する SARS-Co2 ゲノム解析のための Web アプリケーションを用いて全ゲノム解析を行った。

表 1 スクリーニング検査の対象とした検体情報

検出対象変異	検出目的とした系統	検体の PCR 検査陽性判明時期	検体数
T547K	BA. 2 系統(オミクロン株亜系統)	2022 年 4 月～5 月上旬	550 件
L452R	BA. 5 系統(オミクロン株亜系統)	2022 年 6 月下旬以降	10,476 件

3. 結果

3.1 変異株スクリーニング

2022年4月から実施したT547K変異のスクリーニング検査により、2022年4月上旬にオミクロン株BA.2系統疑いとしてT547K変異陰性を初めて検出し、5月上旬にはT547K変異陰性株が90%を超え、T547K変異陰性株への置き換わりが確認された。

2022年6月下旬から開始したL452R変異のスクリーニング検査では、6月下旬に初めてオミクロン株BA.5系統を疑うL452R変異を検出した。2022年7月上旬にはL452R変異株が90%を超え、その後L452R変異株が優勢な状況が続いた。一方、2022年10月下旬頃からは、オミクロン株BA.2系統疑いのL452R変異陰性株が徐々に増加した。（図1参照）

3.2 全ゲノム解析

2022年1月からの第6波の主流であったBA.1系統（オミクロン株）は、2022年3月以降にBA.2系統への置き換わりが確認された。2022年6月下旬には、BA.5系統が県内で初めて検出され、以降の第7波の主流となった。第7波において、鳥取県ではBA.5系統の中でもBA.5.2.1系統が最も多く検出された。

2022年10月にはBA.2系統の亜系統であるBN系統が検出され、2023年4月までの間優勢であった。第7波までは特定の系統が主流を占めている場合が多かったが、第8波ではBN系統をはじめとするBA.2系統、BA.5系統やその亜系統であるBQ系統、またXBB系統等の組換え体など様々な系統が検出された。BQ系統及びXBB系統は2022年11月に県内で初めて確認された。BQ系統については、県内では大きな流行は見られず、2023年1月をピークとして減少し、XBB系統も3月下旬には検出割合の増加がみられた。（図2参照）

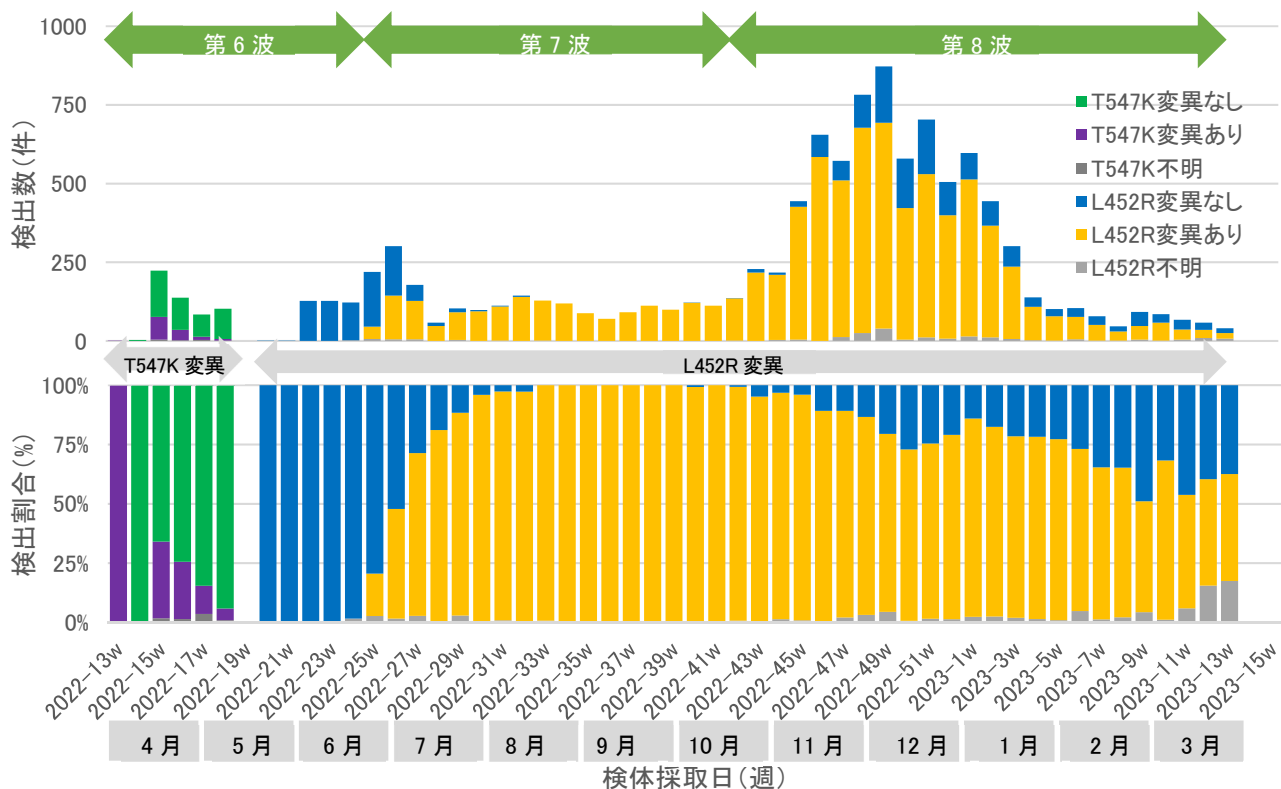


図1 T547K変異及びL452R変異のスクリーニング検査結果（検出数の推移及び検出割合）（2022年度）

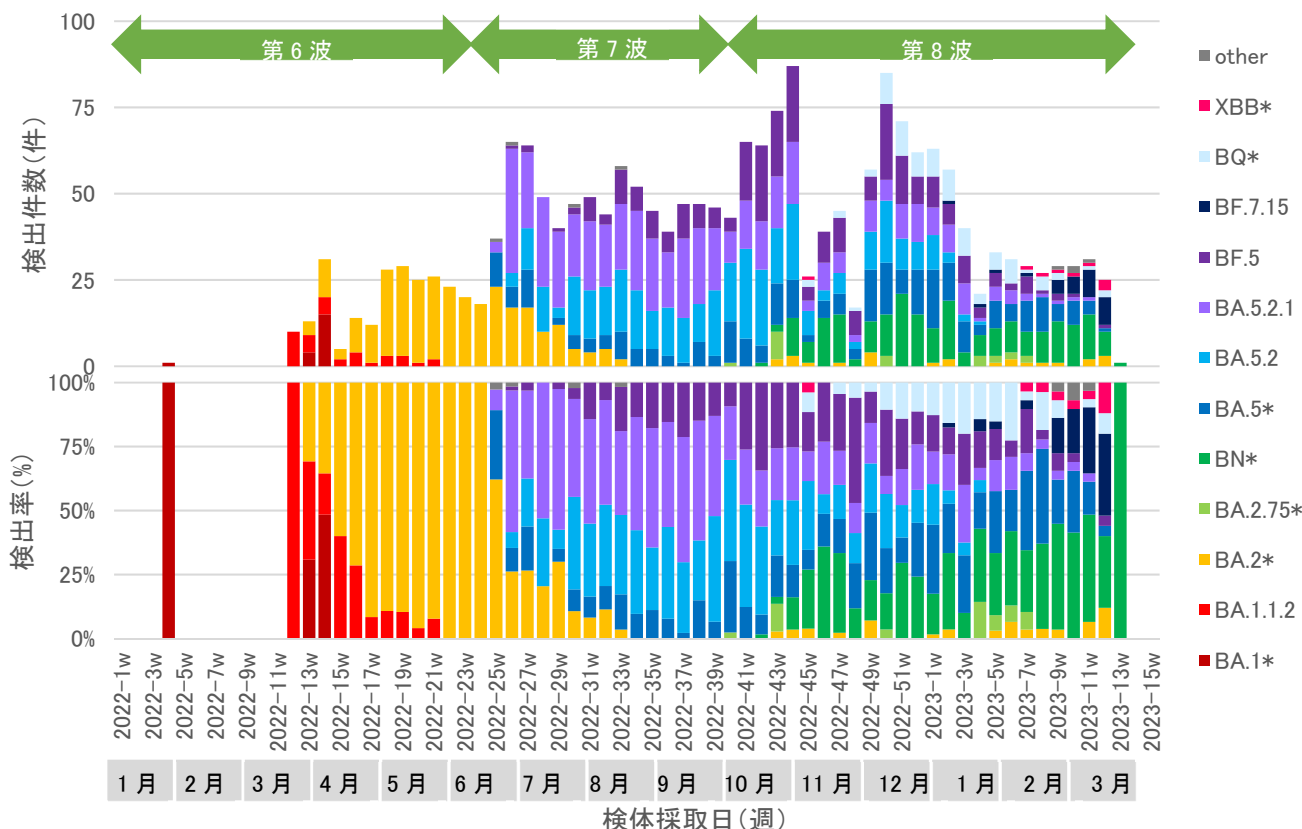


図2 全ゲノム解析による新型コロナウイルスの系統別検出数及び検出率（2022年度）

4 まとめ

県内でも大きな流行を引き起こしたオミクロン株の亜系統であるBA.2、BA.5系統の鳥取県での初めての確認はいずれもスクリーニング検査が端緒となった。スクリーニング検査は、系統の確定はできないもののリアルタイムRT-PCR法で実施するため、迅速性、検体処理能力及びコストパフォーマンスに優れ、新たな変異株をいち早く探知するのに効果的であった。

一方、ゲノム解析は、迅速性や検体処理能力は劣るものの、全ゲノムを解読しているため、系統を確定させることができる。また、同じ系統の中でも塩基数の違いで検体間のゲノム上の距離が確認でき、クラスター発生時等の感染経路の推定等疫学調査にも役立てることができた。オミクロン株以降、ウイルス蛋白質の変異箇所が多くなってきており、それに従い系統が細分化され、スクリーニング検査では系統の推定が困難になってきているが、全ゲノム解析では、細分化された系統にも確実に対応でき、その時々WHOの指定するVIM（注目すべき変異株）、VUM（監視下の変異株）であるBQ.1系統、BN系統、BF.7系統、XBB系統の消長をモニタリングしてきた。

2023年5月8日以降、新型コロナウイルス感染症

は5類となり、流行は一見落ち着きが見られているところではあるが、組換え体の検出等新たな変異株の出現もみられている。第4波のアルファ株、第5波のデルタ株、第6波のBA.1系統、第7波のBA.5系統にみられるように、大きな流行は新たな変異株の出現によってもたらされている。また、感染性や病原性が変化する可能性がある。このことから、新たな変異株を早期に探知することが重要であり、今後も全ゲノム解析等によるモニタリングを継続し、変異株の動向把握に努めたい。

5 参考文献

- (1) N. Takamae, Jpn. J. Infect. Dis., 75, 411-414, (2022)
- (2) 国立感染症研究所：リアルタイム one-step RT-PCR法によるSARS-CoV-2 Spike L452R 変異の検出（暫定版 v2.1），2021年6月7日
- (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析マニュアル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編 version1.4, 2022年2月版

The results of screening tests and whole-genome analyses for SARS-CoV-2 variants in Tottori, Japan.

Tomomi WATANABE ,Yutaka UEDA ,Natsuko SATOU ,Yorimichi HORIUCHI ,Masakazu TANAKA,
Kenkichi HAYASHIBARA

Abstract

As on-going work, we conduct the screening tests and whole-genome analyses for SARS-CoV-2 variants to understand their trends in Tottori. In this paper, we report the results from April 2022 to March 2023, when we used real-time RT-PCR targeting the T547K and L452R mutations of the spike protein to screen for the Omicron variant.

As results of this study, BA.1 lineage was replaced by BA.2 lineage after April 2022 in the latter half of sixth wave of COVID-19 in Japan. In late June 2022, BA.5 lineage was first confirmed in Tottori and then became predominant in the seventh wave. In the eighth wave started in October, various variants, such as BA.2 including BN sublineage, BA.5 including BQ sublineage and recombinant lineages including XBB, were detected. Our findings indicate that major outbreaks were caused by new variants. The screening tests were useful for rapid detection of new variants, and in addition whole-genome analyses which can identify SARS-CoV-2 lineage were helpful to track the trends of variants in Tottori and to the epidemiological surveys.