

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の分子疫学解析

荒井千寛、夏井航平、若菜愛澄、畠山理沙、佐々木国玄、
赤星千絵、清水英明、小嶋由香、岡部信彦

【背景】

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は2019年12月に中国で発見され、その後日本を含む世界中で感染が広がった。当所では、2020年1月末から検査を開始し、2022年7月までに77,179件のSARS-CoV-2のリアルタイムPCR検査を行い、陽性となった一部の検体についてSARS-CoV-2の全ゲノム解析を実施し、変異株サーベイランスを行ってきた。今回、これらのデータについて詳細に解析することにより、川崎市内（以下、市内）におけるSARS-CoV-2の伝播や変異の獲得について若干の知見を得たので報告する。

【方法】

1 解析対象

2020年1月末から2022年7月までに当所に搬入され（表1. 図1. 図3. は2022年12月まで実施分を含む）、当所及び国立感染症研究所でゲノム解析を実施した検体942件（2022年12月まで含む：1391件）から得られた検体採取日、SARS-CoV-2リアルタイムPCR検査結果及びSARS-CoV-2ゲノム情報を用いた。

ゲノム解析については、国立感染症研究所発行の病原体検出マニュアル2019-nCoV及び新型コロナウイルスゲノム解読マニュアル Qiagen社 QiaSEQ FX 編に沿って実施した。

2 解析方法

(1) ハプロタイプネットワーク図の作成

ゲノム解析には“MEGA” (<https://www.megasoftware.net/>)、“COVID-19”（国立感染症研究所が運営する新型コロナウイルス解析用Webサイト）を用い、ハプロタイプネットワーク図の作成には“PopART” (<https://popart.maths.otago.ac.nz/>)、“PopART Trait File Generator” ([PopART Trait File Generator: Beta version](https://popart.maths.otago.ac.nz/popart-trait-generator/) (<https://nasasaki.github.io/popart-trait-generator/>))を用いた。

(2) アミノ酸置換数の算出

各検体の“COVID-19”から得たSARS-CoV-2全ゲノム情報及び各領域でのアミノ酸置換数を集計し、各採取月の1検体あたりの置換数の平均を算出した。

(3) 遺伝子変異の種類数の集計

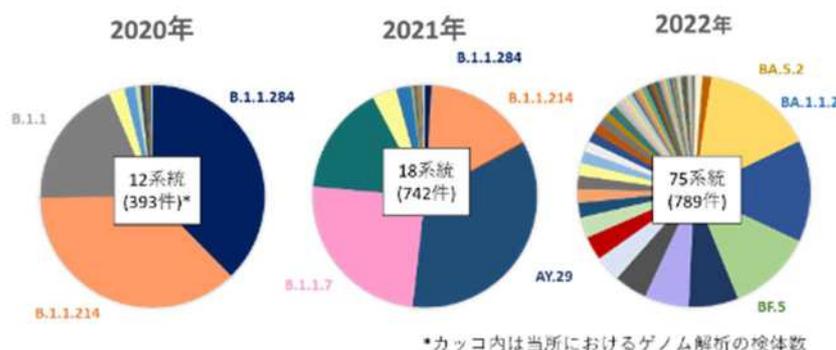
“COVID-19”から得た各検体のSARS-CoV-2全ゲノム情報を用いて、SARS-CoV-2武漢株からの遺伝子変異部位の情報を検索し、月毎に検出された遺伝子変異の種類数を集計した。なお、複数の検体で同じ変異の種類が検出された場合、重複計上しないようにした。

(4) 川崎市と全国の比較

市内と全国における流行状況を比較するために川崎市と全国の陽性者数及びPANGO系統の割合を比較した。相関係数は、ExcelのCORREL関数を用いて算出した。全国の陽性者数については厚生労働省のホームページ¹⁾を、各系統の月次推移については国立感染症研究所ホームページ²⁾を参照した。

表1. 川崎市内で検出されたSARS-CoV-2の系統数の経年変化

	2020年	2021年	2022年
検出された系統数	12	18	75
前年と重複して検出された系統	-	3	4
陽性者数（川崎市）	4550	40270	428008



【結果及び考察】

1 市内におけるSARS-CoV-2検出系統数の経年変化

市内のSARS-CoV-2陽性者数と

図1. 川崎市内で検出されたSARS-CoV-2の系統数の経年変化

検出された SARS-CoV-2 系統数を経年比較した（表 1 図 1）。市内の陽性者数は、年々約 8～10 倍増加しており、検出された系統数についても 2020 年には 12 系統、2021 年には 18 系統、2022 年には 75 系統と年々増加していた。

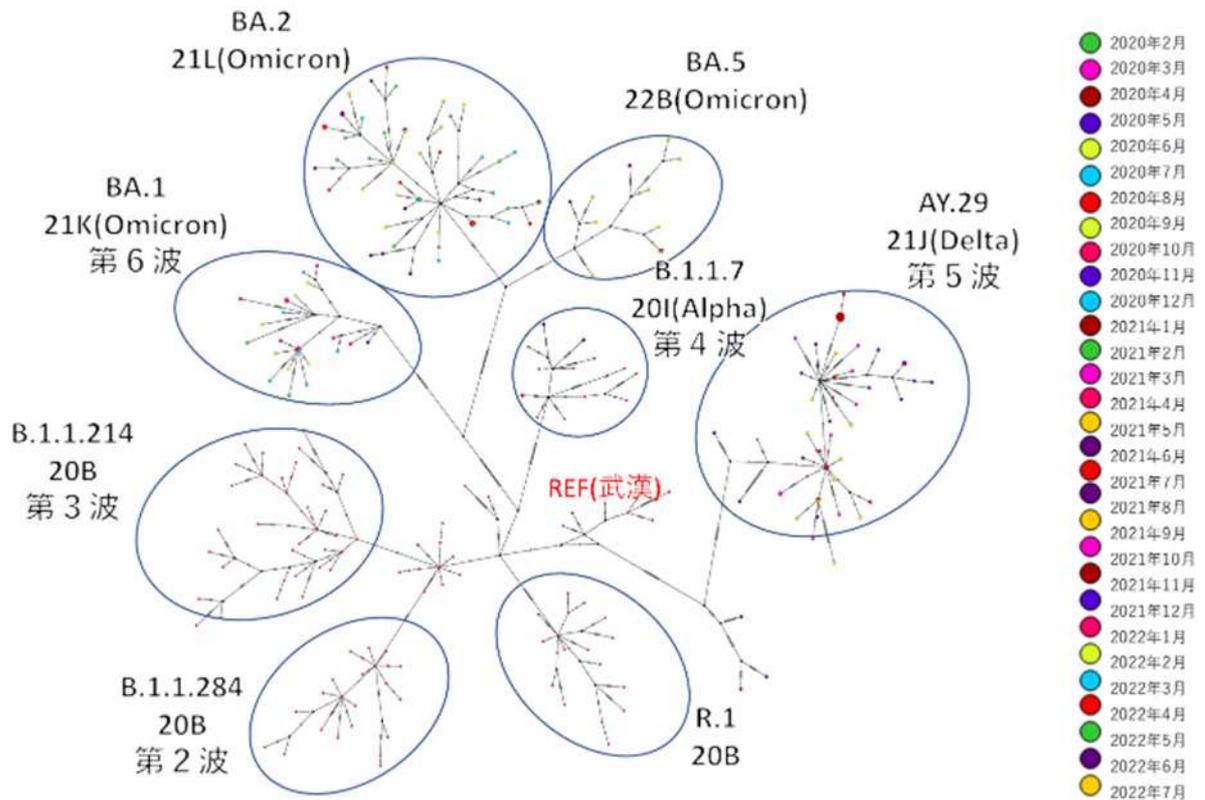


図 2 a. 川崎市内で検出された SARS-CoV-2 のハプロタイプネットワーク図（2020 年～2022 年 7 月）

2 川崎市のハプロタイプネットワーク図

市内において流行した系統間の差を時系列で調べるため、2020 年から 2022 年 7 月までの検体を用いて、ハプロタイプネットワーク図を作成した（図 2 a）。感染者増加の波ごとに検出した系統群は移り変わり、隣接した場所だけでなく、離れた場所に形成されていることもあった。

2022 年の 1 月から 12 月の検体を用いて、ハプロタイプネットワーク図を作成した（図 2 b）。検出した月ごとの推移では、BA.1 は 1 月から 4 月、BA.2 は 2 月から 12 月、

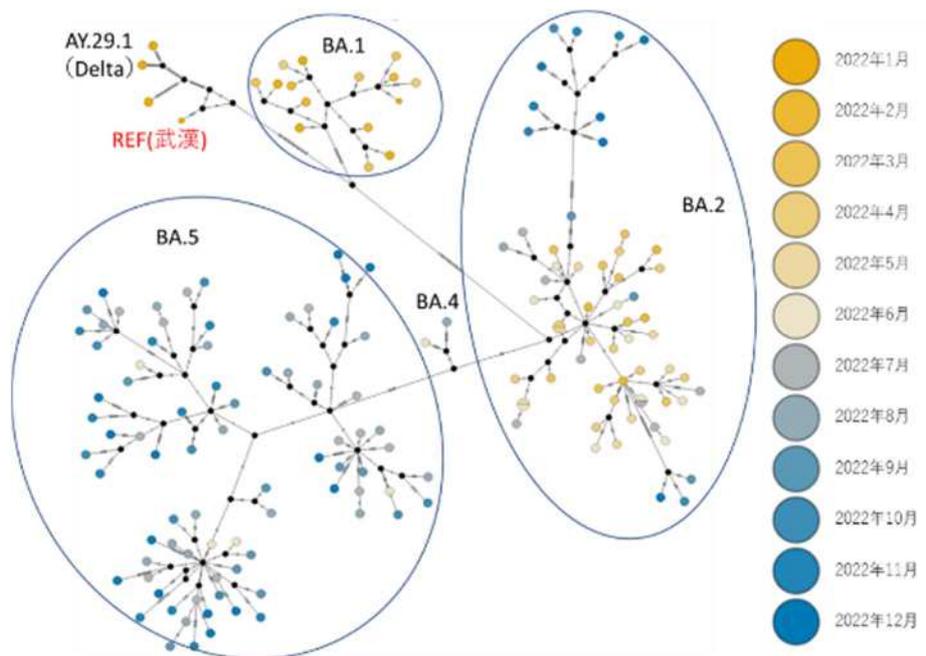


図 2 b. 川崎市内で検出された SARS-CoV-2 のハプロタイプネットワーク図（2022 年）

BA.5は6月から12月まで検出されており、特徴的な状況としてBA.2とBA.5が長期間検出されていた。

3 アミノ酸の置換数

市内において流行している SARS-CoV-2 の変化を知るために、方法4のとおり算出したゲノムの領域ごとのアミノ酸の置換数(ORF1a、ORF1b、S、ORE3a、E、M、ORF6、ORF7a、ORE7b、ORF8、N、ORF9b)の変化を図3に示した。アミノ酸置換数の合計は、流行開始当初から2022年7月まで、おおよそ上昇傾向にあった。また、2021年12月から翌2022年1月にかけて、大幅な増加がみられ、この期間は

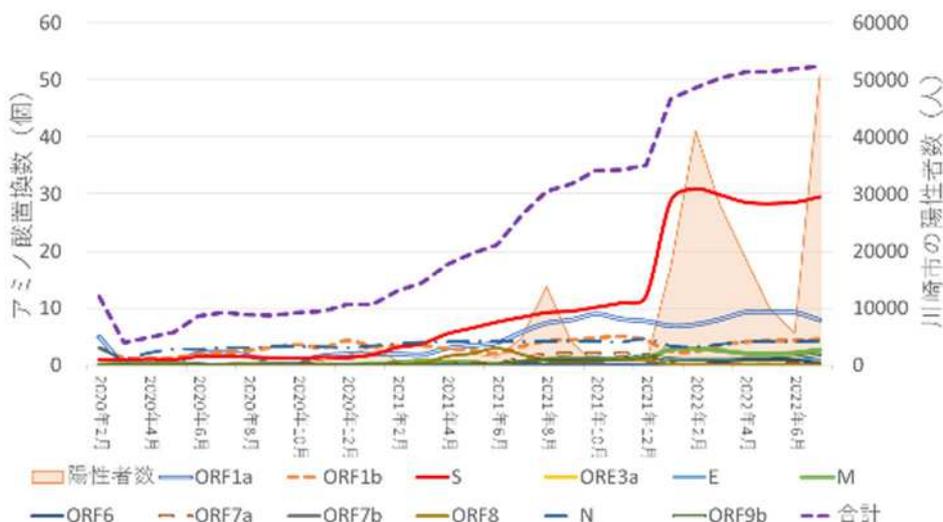


図3. 川崎市で検出された SARS-CoV-2 のアミノ酸置換数の変化

AY.29 を中心としたデルタ株から BA.1、オミクロン株への移行が急速に進んだ時期であった。また、各ゲノムの領域における置換数の変化を比較すると、置換数の合計の増加は S (スパイク) 領域の置換数の急増によるものであることが分かった。このことから、オミクロン株がそれまでの系統に比べて S 領域に非常に多くのアミノ酸の変異を蓄積していることが示唆された。S 領域はコロナウイルスがヒト細胞の受容体と結合するたんぱく質等をコードしており、この部分の変異は感染伝播力の上昇及びワクチン効果を減弱させる免疫逃避能の上昇の可能性が指摘されているため、陽性者数の増加に影響を与えた一因と思われた。

4 遺伝子変異数と陽性者数

市内の感染者数の増加と遺伝子変異数の変化を図4 a bに示した。

川崎市における1か月間の検査数の最大は2021年8月の7202件であり、陽性者数の増減と検体数の増減はおおよそ一致していた。図4 bに示すとおり、多くの変異を検出したのは、2021年8月(314種)、2021年9月(304種)、2021年1月(303種)であった。遺伝子変異数と陽性者及び検体数との相関を比較したところ、変異数—陽性者数の相関係数は0.73であり、正の相関が強く示されたが、変異数—検体数の相関係数は0.36であり、弱い正の相関が示された。陽性者数の増加は市内の

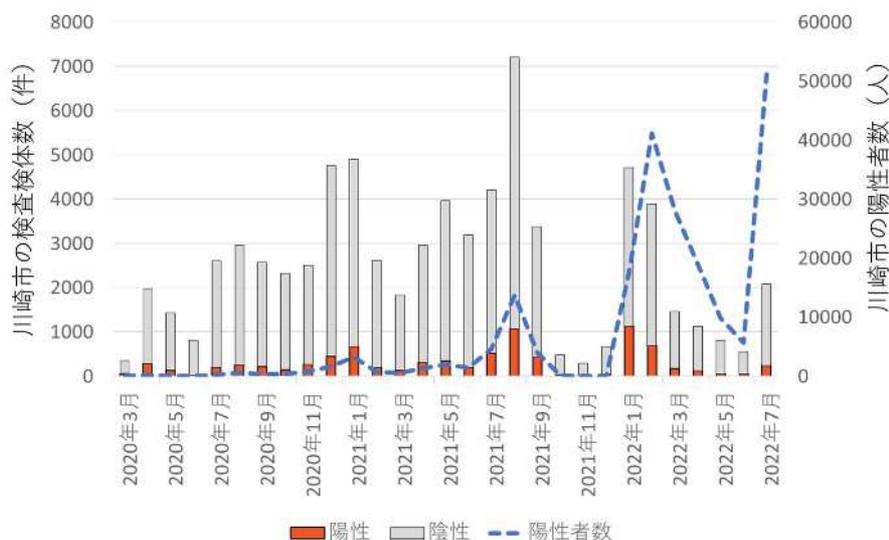


図4 a. 川崎市の検査検体数と陽性者数の推移

既存の系統による感染者の増加だけでなく、外部から新たな系統が持ち込まれることによる感染者の増加も含んでいる。そのため、感染者数の変化と遺伝子の変異数の相関を知るためには別の手法を検討する必要がある。

5 川崎市と全国の検出系統の比較

川崎市と全国の陽性者数の経年推移を比較したところ、ほぼ同様に増減していた（図5 a）。

検出された PANGO 系統の割合の経年推移についても、図5 bに示すとおり全国と川崎市の傾向は類似していたが、川崎市では2021年の12週から18週にかけて、R.1系統の流行によりB.1.1.7系統の増加がみられなかった。また、2022年20週以降は多数の系統が出現しており、全国とは異なる流行状況が示された。これらは、地域差や川崎市内のゲノム解析検体数の差が影響していると考えられた。

新型コロナウイルス感染症を取り巻く状況が変化し、流行当初に比べて危機感は弱まったが、新たな変異によるリスクを早く捉えて対応を検討できるよう、今後も変異株ゲノムサーベイランスを継続予定である。また、他の感染症のまん延防止にも貢献できるよう、他のウイルスでもゲノム解析を応用できるよう検討を続けていきたい。

【参考文献】

- 1) 厚生労働省ホームページ：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－、<https://covid19.mhlw.go.jp/>、2022年8月25日閲覧
- 2) 国立感染症研究所ホームページ：SARS-CoV-2変異株について・新型コロナウイルスゲノムサーベイランスによる国内の系統別検出状況
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10745-cepr-topics.html>、2022年8月25日閲覧

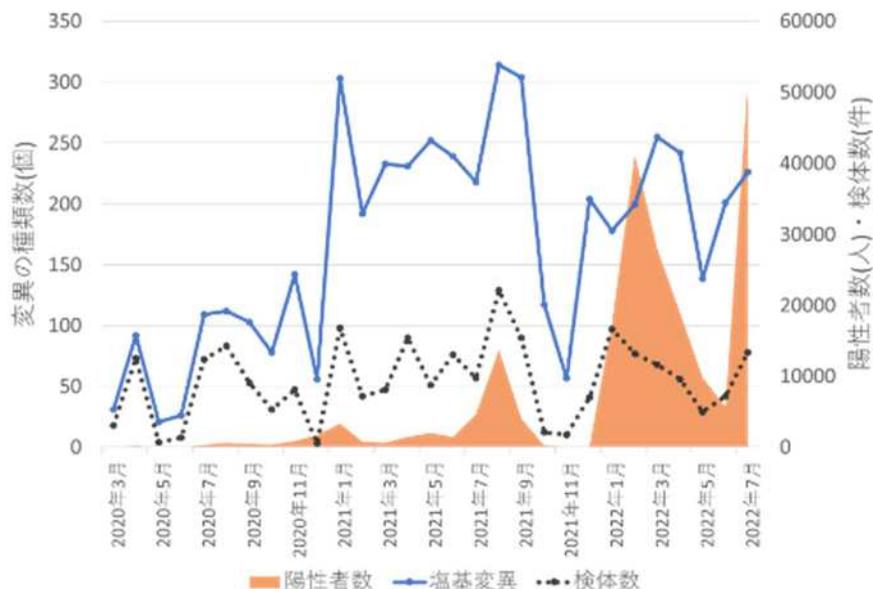


図4 b. 川崎市で検出された変異の種類数と陽性者数の推移

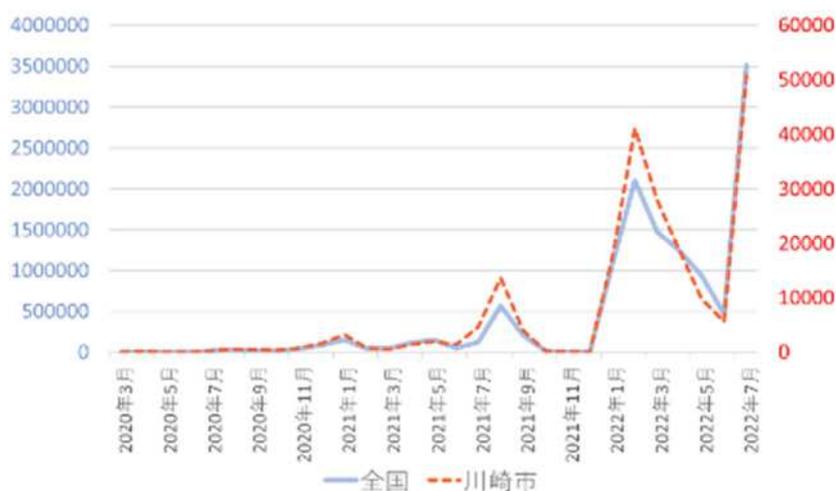


図5 a. 陽性者数の推移（2020年～2022年7月）

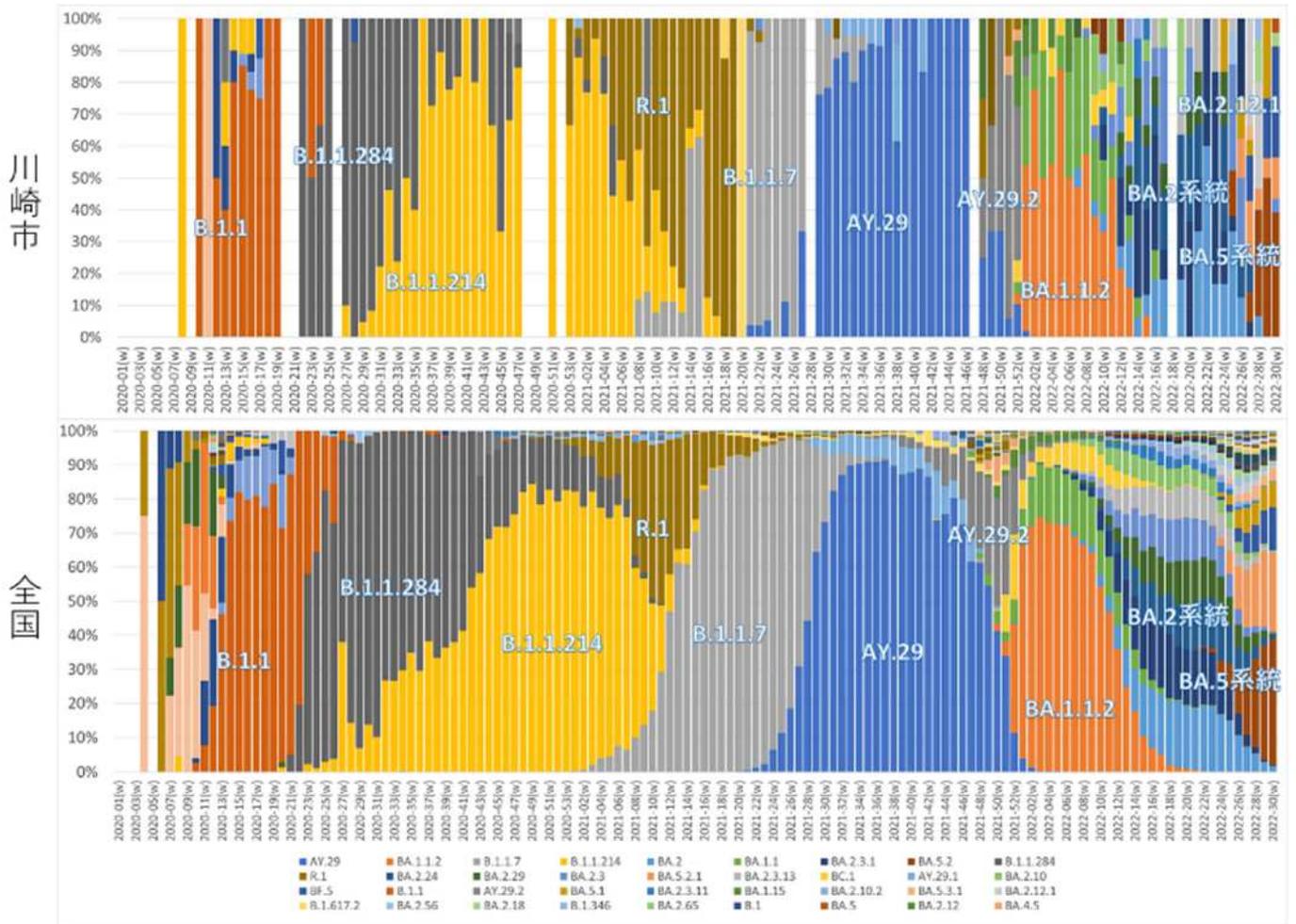


図5 b. 検出された PANGO 系統の割合の推移 (2020 年～2022 年 7 月)