

【資 料】

岡山県における SARS-CoV-2 の次世代シーケンサーによる 全ゲノム解析調査 (2022-2023)

Whole Genome Analysis Survey of SARS-CoV-2
with Next Generation Sequencer in Okayama Prefecture (2022-2023)

土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 池田和美, 船橋圭輔,
濱野雅子, 平田真弓, 鶴海 剛, 木田浩司, 木下浩行*

*岡山県感染症情報センター

TSUCHIMOTO Sachie, OKAMOTO Naoko, ISHII Manabu, IKEDA Kazumi,
FUNAHASHI Keisuke, HAMANO Masako, HIRATA Mayumi,
TSURUMI Go, KIDA Kouji, KINOSHITA Hiroyuki*

要 旨

2022年4月から2023年2月までに採取されたSARS-CoV-2陽性検体の全ゲノム解析を実施し、GISAIDに登録した検体1,464件について、Nextstrain Clade及びPANGO系統による分類を行い、2022年1月以降に県内で主流行変異株となったオミクロン株の流行状況について解析した。21K (BA.1系統及びその亜系統) は今回の調査期間直前に大勢を占めていたが、2022年2月に初検出された21L (BA.2系統及びその亜系統) が急増して5月にはほぼ全て置き換わった。その後2022年6月に初検出された22B (BA.5系統及びその亜系統) が急増して8月にはほぼ全て置き換わり、22E (BA.5系統の亜系統) は10月に初検出された後、全体の10%程度まで増加した。こうした県内の流行状況は、全国とほぼ同様の傾向を示していた。また、スパイク蛋白質のアミノ酸置換変異について、感染性への影響が示唆されている変異を有する株の割合と流行との関連性について解析した。BA.5系統及びその亜系統 (22B及び22E) のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるR346, K444又はN460に変異を有する株が増加した時期と、第8波の感染拡大の時期がほぼ一致していたことから、これらの変異が県内の第8波の感染拡大に関与したと推察された。

[キーワード : SARS-CoV-2, 次世代シーケンサー, 全ゲノム解析, オミクロン, アミノ酸置換変異]

[Key words : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, Next generation sequencer,
Whole genome analysis, Omicron, Amino acid substitution mutation]

1. はじめに

新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus Disease 2019 : COVID-19) は、2019年12月に中国湖北省武漢市で世界初の患者が確認された¹⁾、咳、高熱、肺炎等を主症状とする新興感染症で、2020年1月以降世界各地で感染が拡大している。岡山県では2020年3月に初めての感染者が確認されて以降²⁾、2023年2月までに第1波から第8波の流行があり、48万人を超える感染者が報告されている³⁾。

本感染症の起因病原体は、コロナウイルス科ベータコロナウイルス属のSevere Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (以下「SARS-CoV-2」という。) で、約3万塩基のプラス鎖RNAゲノムを有している。ゲノムは、5'側に非構造蛋白質の遺伝子、3'側にスパイク (S)、

エンベロープ (E)、マトリックス (M)、ヌクレオキャプシド (N) などの各構造蛋白質の遺伝子をコードしており、世界保健機関 (以下「WHO」という。) は、ゲノムに生じた突然変異の蓄積をPANGO系統に分類することで変異株の呼称を定義している。我が国では、これまでにB.1.1.7系統のアルファ株、B.1.617.2系統のデルタ株など、数多くの変異株が流行してきたが、2022年2月をピークとする第6波からはB.1.1.529系統のオミクロン株とその亜系統が主流となっている⁴⁾。

SARS-CoV-2は、世界中の研究機関等でゲノム解析による変異株の監視が継続されており、2023年1月9日時点において、WHO及び国立感染症研究所は、いずれもB.1.1.529系統のオミクロン株を起源とした亜系統の全てを懸念される変異株 (VOC : Variant of concern) に指

定している。また、WHOでは、このうちいくつかの亜系統や組換え体（BA.2.3.20系統、BA.4.6系統、BA.2.75系統、XBB系統及びBA.5系統（スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460の少なくともいずれか1箇所に変異を有する株）を「監視下のオミクロン株の亜系統（Omicron subvariants under monitoring）」（以下「OSUM」という。）として注目している⁵⁾。

当センターでは、厚生労働省が示す「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（2021年）2月5日付け、健感発0205第4号）に基づき、次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer）を用い、2020年3月から県内感染者の検体を対象に全ゲノム解析を実施し、変異株の流行状況について監視している。昨年度の年報⁶⁾では、2022年3月までのデータを解析し、2021年5月をピークとする第4波でアルファ株、8月をピークとする第5波でデルタ株、2022年2月をピークとする第6波でオミクロン株がそれぞれ主流変異株として置き換わってきたことを報告した。

今回我々は、2022年1月以降に県内で主流変異株となったオミクロン株について、Nextstrain Clade（以下「Clade」という。）及びPANGO系統によって分類し、流行状況を解析した結果を報告する。また、SARS-CoV-2のスパイク蛋白質の変異の一部は、感染性、病原性、ワクチンの有効性等に影響があるとされていることから、OSUMのうち、BA.5系統及びその亜系統（スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460の少なくともいずれか1箇所に変異を有する株）の流行についても解析したので併せて報告する。

2 対象及び方法

2.1 解析対象

2022年4月から2023年2月までに採取された県内のSARS-CoV-2陽性検体について、全ゲノム解析を実施した。このうち、国際的なSARS-CoV-2ゲノム情報データベースのGlobal Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID) に登録した1,464件を今回の解析対象とした。

2.2 ゲノムの解読

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（Qiagen社QiaSEQ FX 編）に従ってゲノムの塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、

Nextclade解析プログラムVer.2.14.0 (<https://clades.nextstrain.org/>) 及びPangolin系統解析プログラムVer.4.2 (<https://pangolin.cog-uk.io/>) を用い、それぞれClade及びPANGO系統による分類を行った。

2.3 県内の流行変異株の解析

2.2で得られたClade及びPANGO系統について採取月別に集計し、解析を行った。

2.4 県内のSARS-CoV-2感染状況

県内の医療機関等から届出があったSARS-CoV-2感染者数のうち、2022年4月から2023年2月までに公表されたものを月別に集計した。

2.5 流行株におけるアミノ酸置換変異の解析

検出したBA.5系統及びその亜系統のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株について、Clade及びPANGO系統で分類した。また、これらの変異を有する株の検出割合の推移と流行拡大との相関性について解析した。

3 結果及び考察

3.1 県内の流行株の推移

今回の調査期間におけるClade及びPANGO系統で分類した変異株の集計結果の推移を表1に、各Cladeの検出割合の推移を図1にそれぞれ示す。昨年報告した調査結果⁶⁾を併せてCladeの流行の推移をみると、2021年12月に初めて検出された21K（BA.1系統及びその亜系統）は、2022年1月～3月の流行の主体であったが、2月に初めて検出された21L（BA.2系統及びその亜系統）が急増し、今回の調査を開始した4月には全体の80%を占め、5月には21Kからほぼ置き換わった。2022年6月には22A（BA.4系統及びその亜系統）及び22B（BA.5系統及びその亜系統）が相次いで検出されたが、22Aの検出数は伸びず、7月を最後に検出されなくなったのに対し、22Bは急増して8月にはほぼ全て置き換わり、その後も高い割合で検出された。2022年10月に初めて検出された22E（BA.5系統の亜系統）は、2023年1月には全体の10%程度まで増加し、2月にも同程度検出された。また、2022年6月～8月に22C（BA.2系統の亜系統）、7月及び11月～2023年1月に22D（BA.2系統の亜系統）、2022年12月に21Lがそれぞれ少数検出されたほか、8月、10月、12月及び2023年1月には異なる系統間の組換え体であるXAZ、XBB、XBF系統がそれぞれ少数検出された。こうした変異株の県内流行の推移は、全国とほぼ同様の傾向⁴⁾を示していた。

今回の調査期間におけるCladeごとの集計結果をみると、22Bの1,021株が最も多く、次いで21Lが353株検出され、これらが全体の90%以上を占めた(表1)。このうち22Bに属するPANGO系統は、BA.5.2系統、BA.5.2.1系統、BF.5系統が多く検出されており、これも全国と同様の傾向であった⁴⁾。

3.2 流行株におけるアミノ酸置換変異の解析

検出したBA.5系統及びその亜系統(22B及び22E)のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸においてN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株について、それぞれClade及びPANGO系統で分類した集計結果を表2に示す。表1の集計結果を踏まえて22Bと22Eを比較すると、検出数が多い22Bの方が変異を有する株が多いもののその割合は低く、一方22Eは43株全てで少なくとも1箇所に変異を有していた。変異部位別にみると、22BではK444にM、N、R又はTへの異なる変異を有する株が認められたが、22EではK444T変異を有する株のみが認められた。同様にR346、N460についても、22Bでは異なる変異を有する株が認められたが、22EではR346T変異及びN460K変異又はそのいずれかの変異を有する株のみが認められた。

22Bに属するPANGO系統に着目すると、検出数が多

かったBA.5.2系統、BA.5.2.1系統及びBF.5系統には、ほとんど変異がみられず、BA.5.2系統の1株にK444N変異、BF.5系統の1株にN460S変異が認められたのみであった。また、PANGO系統では、BA.5.2.55系統、BA.5.2.6系統、BF.7.15系統、BF.7.4.1系統など、2022年11月以降の検出株に変異を有するものが多く認められた。

検出したBA.5系統及びその亜系統のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株の割合と感染者数の推移を図2に示す。R346のT、S又はIへの変異を有する株の割合は、2022年10月は10%程度であったが、12月以降激増し、2023年2月には60%を占めた。次いで、K444のM、N、R又はTへの変異を有する株の割合は、2022年10月以降徐々に増加し、またN460のK又はSへの変異を有する株の割合も10月以降増加傾向を示した。N450D変異を有する株については、2022年10月、12月及び2023年1月にそれぞれ1株、V445A変異を有する株については、2022年8月に1株検出されたのみであった。

今回の調査期間においては、県内では2022年8月をピークとする第7波と2022年12月をピークとする第8波の2回の流行が認められ、これは全国と同様であった⁷⁾。

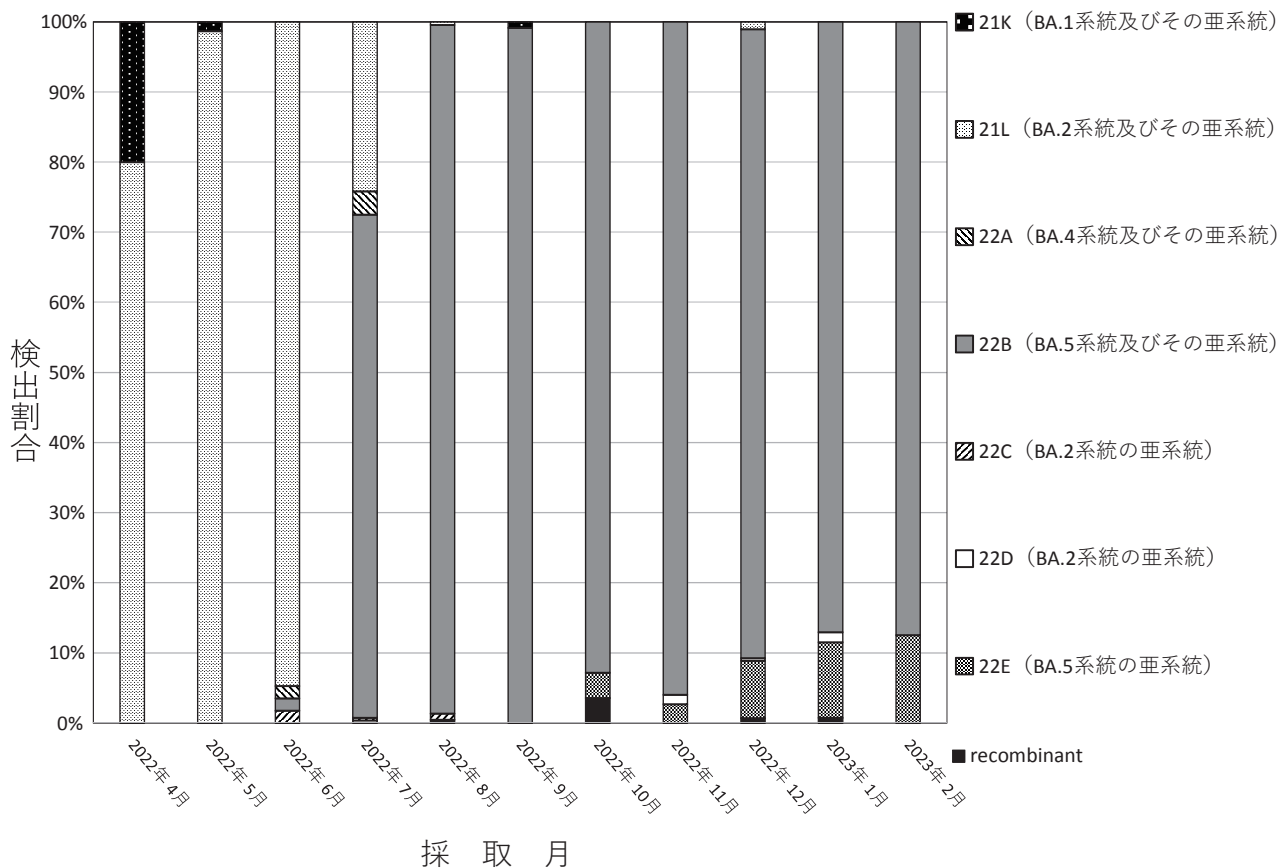


図1 県内におけるClade別の検出割合の推移

表 1. Clade 及び PANGO 系統別の変異株の推移

Clade	亜系統 の由来	PANGO系統	採 取 月												計		
			2022年										2023年				
			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月				
21K	BA.1	BA.1.1	5													5	23
		BA.1.1.2	14	1					1							16	
		BC.1	1	1												2	
21L	BA.2	BA.2	8	25	5	12										50	353
		BA.2.10	7	12	10	1										30	
		BA.2.10.1	1	1												2	
		BA.2.10.2		2	5	1										8	
		BA.2.18				2										2	
		BA.2.24	25	36	5	8										74	
		BA.2.29	6	14	7	18										45	
		BA.2.3	4	14	4	10	1									33	
		BA.2.3.1	12	22	13	3										50	
		BA.2.3.11		1												1	
		BA.2.3.13	14	20	3	11										48	
		BA.2.3.18	2													2	
		BA.2.5		1												1	
		BA.2.56	1													1	
		BA.2.65		1	1											2	
		BA.2.9			1											1	
		BS.1.1											1			1	
		CM.2											2			2	
22A	BA.4	BA.4.1			1	2									3	10	
		BA.4.6				7									7		
22B	BA.5	BA.5.1				27	13	3		3	4	1			51	1,021	
		BA.5.1.10				1									1		
		BA.5.1.16				3	1	1		2					7		
		BA.5.1.19					1								1		
		BA.5.1.2				1	1								2		
		BA.5.1.22				1		1							2		
		BA.5.1.23				1									1		
		BA.5.1.24				6	1								7		
		BA.5.1.27											1	1	2		
		BA.5.1.5				1	1				1	9	1		13		
		BA.5.2			1	57	74	37	7	23	31	7			237		
		BA.5.2.1			39	63	22	3	11	38	17	1			194		
		BA.5.2.12			1	2	3			3	1				10		
		BA.5.2.19			1										1		
		BA.5.2.2									1				1		
		BA.5.2.20					2	1							3		
		BA.5.2.22			1										1		
		BA.5.2.26				4	3				1				8		
		BA.5.2.27							1						1		
		BA.5.2.3						1				1			2		
		BA.5.2.43									5	3			8		
		BA.5.2.44									1				1		
		BA.5.2.55									3	6	3	1	13		
		BA.5.2.6								1	14	13	1		29		
		BA.5.5			1										1		
		BA.5.6			7										7		
		BA.5.6.2						1							1		
		BA.5.9								1		1			2		
		BE.1			1	1									2		
		BE.1.1			7	4	4	1							16		
		BE.1.4						1							1		
		BE.11						4	1						5		
		BE.4						2							2		
		BF.1				2	6	1							9		
		BF.10						1				1			2		
		BF.11										4	1		5		
		BF.12				1									1		
		BF.13											2		2		
		BF.14								1					1		
		BF.2											1		1		
		BF.21				2	2	1							5		
		BF.22				8	3	1							12		
		BF.38				2	1					3			6		
		BF.38.2					1								1		
		BF.4										1			1		
		BF.5					22	27	38	13	24	110	39	1	274		
		BF.5.4					1					1			2		
BF.7											2		2				
BF.7.15									1	14	13	2	30				
BF.7.19.1									2	1			3				
BF.7.4.1									2	8	11		21				
BF.7.6										1			1				
BT.1								1					1				
CK.1.1										1	1		2				
CN.1										3	2		5				
CY.2										1			1				
22C	BA.2	BA.2.12.1			1	1	2							4	4		
22D	BA.2	BA.2.75				1								1	5		
		BA.2.75.2								1				1			
		BL.1.5										1		1			
		BN.1.1									1			1			
		BN.1.3.2										1		1			
22E	BA.5	BQ.1								3				3	43		
		BQ.1.1								2	6			8			
		BQ.1.1.3								1				1			
		BQ.1.1.44									2	3	1	9			
		BQ.1.1.70									10	1		11			
		BQ.1.2										1		1			
		BQ.1.3										1	1	2			
		ED.1										3	3	6			
		EF.1.2										2		2			
		22F	XBB	XBB								1				1	2
XBB.1									1			1					
recombinant	XAZ					1							1				
	XBF										1	1	2	3			
計			100	151	57	273	223	117	28	75	293	139	8	1,464			

このうち、第8波の感染拡大の時期とスパイク蛋白質のアミノ酸におけるR346、K444又はN460に変異を有する株の割合が増加した時期は、ほぼ一致していた。R346T変異及びN460K変異を有するXBB系統やK444T変異及びN460K変異を有するBQ.1系統は、中和抗体か

らの逃避能が高いことが実験的に示唆されている⁸⁾ことや、スパイク蛋白質に対する抗体治療薬への影響が懸念されるアミノ酸置換として、R346、K444、V445、N450などの部位が挙げられている^{8)~12)}ことから、県内の第8波においては、R346、K444又はN460のいずれかの箇

表2. BA.5系統及びその亜系統におけるスパイク蛋白質のアミノ酸変異部位別のClade及びPANGO系統の検出数

アミノ酸変異	Clade	PANGO系統	検出数	計	アミノ酸変異	Clade	PANGO系統	検出数	計			
N450D	22B	CN.1	5	6	K444M,N,R,T	22B	BA.5.2	1	24			
		BF.14	1				BA.5.2.55	12				
R346T,S,I	22B	BA.5.1.27	2	99			K444T	22E		BA.5.6	7	43
		BA.5.2.12	1							BA.5.6.2	1	
		BA.5.2.2	1							CK.1.1	2	
		BA.5.2.6	29							CY.2	1	
		BA.5.9	2							BQ.1	3	
		BF.11	5							BQ.1.1	8	
		BF.13	2							BQ.1.1.3	1	
		BF.7	2							BQ.1.1.44	9	
		BF.7.15	30		BQ.1.1.70	11						
		BF.7.19.1	3		BQ.1.2	1						
		BF.7.4.1	21		BQ.1.3	2						
BF.7.6	1	ED.1	6									
R346T	22E	BQ.1.1	8	37	V445A	22B	BF.38.2	1	1			
		BQ.1.1.3	1				N460K,S	22B		11		
		BQ.1.1.44	9								BA.5.2.43	8
		BQ.1.1.70	11								BF.5	1
		ED.1	6								CK.1.1	2
EF.1.2	2	N460K	22E	42								
								BQ.1	2			
								BQ.1.1	8			
								BQ.1.1.3	1			
								BQ.1.1.44	9			
								BQ.1.1.70	11			
								BQ.1.2	1			
								BQ.1.3	2			
								ED.1	6			
								EF.1.2	2			

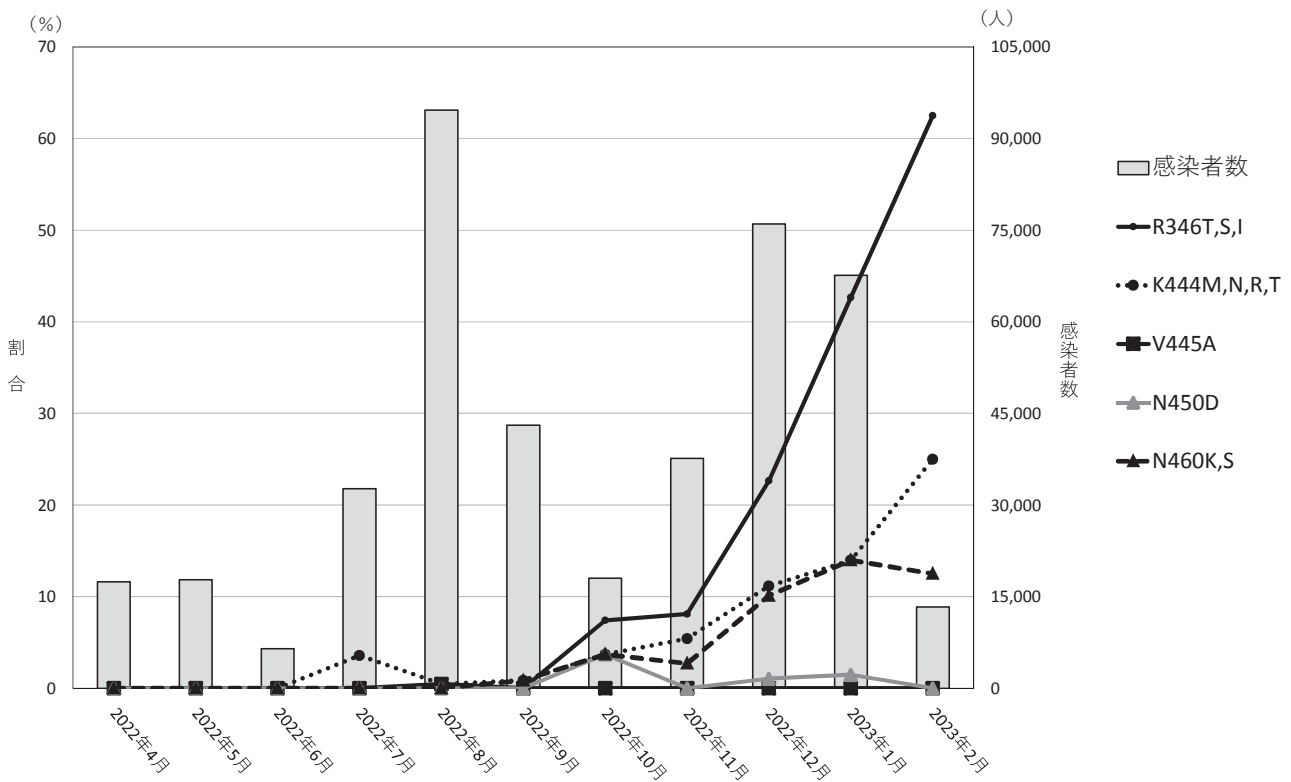


図2 BA.5系統及びその亜系統におけるスパイク蛋白質のアミノ酸部位別の変異の割合と感染者数の推移

所のアミノ酸変異が感染拡大に関与したと推察された。

SARS-CoV-2の全ゲノム解析による調査は、流行変異株のCladeやPANGO系統の把握はもとより、感染拡大への影響が懸念されるスパイク蛋白質におけるアミノ酸に特定の変異を有する株の動向の把握も可能であることから、今後も継続して実施し、県内の感染症対策の一助としたい。

文 献

- 1) 国立感染症研究所 感染症疫学センター：新型コロナウイルス感染症2020年5月現在, 病原微生物検出情報, 41, 103-105, 2020
- 2) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2020年第12週（3月16日～3月22日）, <https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/327595.pdf>（2023.5.15アクセス）
- 3) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2023年第9週（2月27日～3月5日）, <https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/341474.pdf>（2023.4.24アクセス）
- 4) 厚生労働省：新型コロナウイルスゲノムサーベイランスによる系統別検出状況（国立感染症研究所）
https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230419_genome_surveillance.pdf（2023.4.24アクセス）
- 5) 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24報）
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/11749-sars-cov-2-24.html>（2023.5.15アクセス）
- 6) 土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 船橋圭輔, 長尾和彦ら：岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査（2020-2022）岡山県環境保健センター年報, 46, 49-51, 2022
- 7) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2023年第18週（5月1日～5月7日）
<https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/345364.pdf>（2023.5.15アクセス）
- 8) Yunlong Cao, Jing Wang, Fanchong Jian, Tianhe Xiao, Weiliang Song et al. : Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies, *Nature*, 602(7898), 657-663, 2022
- 9) Tyler N. Starr, Allison J. Greaney, Amin Addetia, William W. Hannon, Manish C. Choudhary et al. : Prospective mapping of viral mutations that escape antibodies used to treat COVID-19, *Science*, 371(6531), 850-854, 2021
- 10) Tyler N. Starr, Nadine Czudnochowski, Zhuoming Liu, Fabrizia Zatta, Young-Jun Park et al. : SARS-CoV-2 RBD antibodies that maximize breadth and resistance to escape, *Nature*, 597(7874), 97-102, 2021
- 11) Jinhui Dong, Seth J. Zost, Allison J. Greaney, Tyler N. Starr, Adam S. Dingens et al. : Genetic and structural basis for SARS-CoV-2 variant neutralization by a two-antibody cocktail, *Nat. Microbiol.*, 6(10), 1233-1244, 2021
- 12) 国立感染症研究所：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する治療薬の効果に影響を及ぼす可能性があるウイルスゲノム変異によるアミノ酸置換について（第3版）
https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230405_SARS-CoV-2_mutation_3.pdf（2023.5.15アクセス）