

札幌市における新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 変異株の推移

大西麻実 島崎梨絵 尾口裕介
菊地正幸 三上 篤 山口 亮

1. 緒 言

新型コロナウイルス (COVID-19) は重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: SARS-CoV-2) によって引き起こされる感染症である。2019 年 12 月に中国湖北省武漢市で発生が確認された SARS-CoV-2 は世界中に感染を拡大し、世界保健機関 (WHO) は 2020 年 1 月末に COVID-19 について「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態 (PHEIC)」を宣言した。2020 年 3 月には WHO がパンデミック (世界的大流行) に相当すると発表した。日本では 2020 年 1 月中旬に武漢市に滞在歴のある 1 例目の患者が確認されて以降、感染者が増加し、2 月末には全国に先駆けて北海道が独自の緊急事態宣言を行い、4 月には政府が緊急事態宣言を発出することとなった。行動制限やワクチン接種など様々な対策がとられてきたが、SARS-CoV-2 は感染性や伝播性を増強し、抗原性を変化しながら 2022 年 6 月現在も流行が続いている。

SARS-CoV-2 は約 29,900 塩基の一本鎖プラス鎖 RNA ウイルスであり、2 週間に 1 塩基程度変異すると推定されている¹⁾。SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質はウイルスの表面に存在し、スパイクタンパク質にある受容体結合ドメイン (Receptor binding domain: RBD) を介してヒトの細胞表面にあるアンギオテンシン変換酵素 II (Angiotensin-converting enzyme 2: ACE II) に結合し、ヒト細胞に侵入することが知られている²⁻⁴⁾。SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質はワクチンや治療用抗体 (Abs) の標的であるため、その変異は感染性、伝播性への影響のみならず、

免疫逃避を起こす可能性があるため、既感染者やワクチン接種者が獲得した免疫に影響を及ぼす可能性があり、ゲノム情報の監視は重要である。SARS-CoV-2 のゲノム情報は発生当初より GISAID (Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data) を通じて国際的に共有が図られており、日本国内では国立感染症研究所が主体となりゲノム解析が実施され、国内流行株のゲノム情報の把握や監視のほか、ウイルスの封じ込めやクラスター対策など疫学調査にも広く利用されている。現在、全国の地方衛生研究所や民間検査会社、大学等においてゲノム解析が実施されるようになり、新たな変異株の発生や流行状況の把握を目的にゲノム情報の監視が行われている。

本稿では 2020 年 SARS-CoV-2 発生当初より 2022 年 5 月末までの札幌市における SARS-CoV-2 の変異株の推移について報告する。

2. 方 法

2-1 検査材料

2020 年 2 月より 2022 年 5 月末まで検出された SARS-CoV-2 陽性者の検体 (咽頭ぬぐい液、喀痰、唾液、鼻腔ぬぐい液等) の中から、当所及び民間検査会社においてウイルス量が多い検体 (SARS-CoV-2 診断検査のリアルタイム RT-PCR 法により Ct 値が 30 以下) の一部について実施した。また、クラスター対策などの対象となり、保健所より依頼された検体や、重症例、死亡例の検体について実施した。

2-2 検査方法

ウイルスの核酸抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社製) を用いて、メーカーのプロトコールに従い、または自動核酸抽出装置QIAcube (QIAGEN社製) を使用して行った。

SARS-CoV-2 発生当初、当所ではゲノム解析を実施できなかったため、2020年2月から2021年3月までは国立感染症研究所病原体ゲノム解析センター(以下「感染研」という。)がゲノム解析を実施した。当所では2021年3月頃から試験的にゲノム解析の実施を開始し、感染研が示す新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル法⁵⁾に従いライブラリー調製を行った。次世代シーケンサーはMiSeq (illumina社製)、iSeq (illumina社製) を用いて感染研が構築したツール「Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections」を使用し、ゲノム解析を実施した。

3. 結果

2020年に札幌市で発生したSARS-CoV-2陽性検体のうち、707検体について核酸抽出したものを感染研に送付し、感染研がゲノム解析を実施した。2021年3月より、当所においてゲノム解析が実施可能となり、2021年は483検体、2022年1~5月末まで1,209検体についてゲノム解析を実施した。2021年11月より、民間検査会社の診断検査(リアルタイム

RT-PCR法)により陽性であった検体のうちCt値が低い検体が搬入され、このうち約50検体/週についてゲノム解析を実施した。

なお、アルファ株及びデルタ株の発生時には感染研がゲノム解析を実施するという通達が出ており、一部は感染研で実施されている。

ゲノム解析は陽性検体のうち一部のみ実施していること、新たな変異株の発生時は解析数が増加していること、クラスター対策など疫学調査の一環としての実施など、持ち込まれる検体に偏りがある場合があることから、流行状況が正しく反映されていない可能性があり、結果の解釈には注意が必要である。

図1は札幌市のSARS-CoV-2の陽性者数、図2は札幌市の検出株と武漢参照株のゲノム全体及びスパイクタンパク質の変異箇所、図3はゲノム解析を行ったSARS-CoV-2変異株割合の推移、図4はSARS-CoV-2の全ゲノム約29,722塩基を比較した系統樹を示す。

系統解析はゲノム解析を行ったSARS-CoV-2の一部467検体及びGISAIDから取得した参照株について近隣結合法を用いて実施した。SARS-CoV-2の系統分類命名法はPangolin系統⁶⁾(version:4.0.6)を使用した。

なお、新たな変異株の出現等により再分類が行われるため、今後系統が変化していく可能性がある。

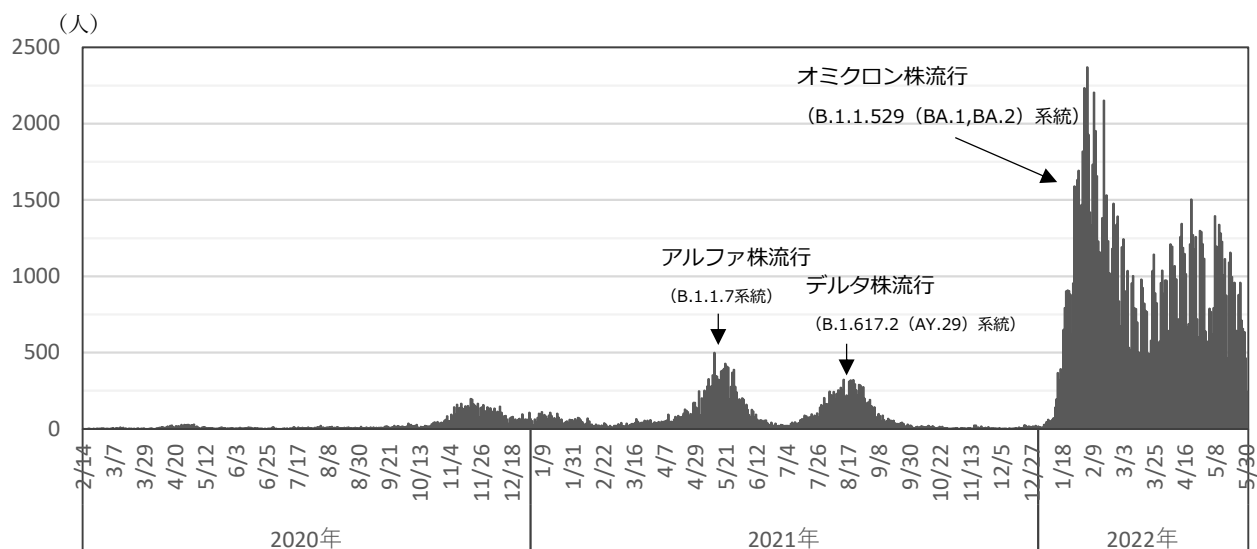
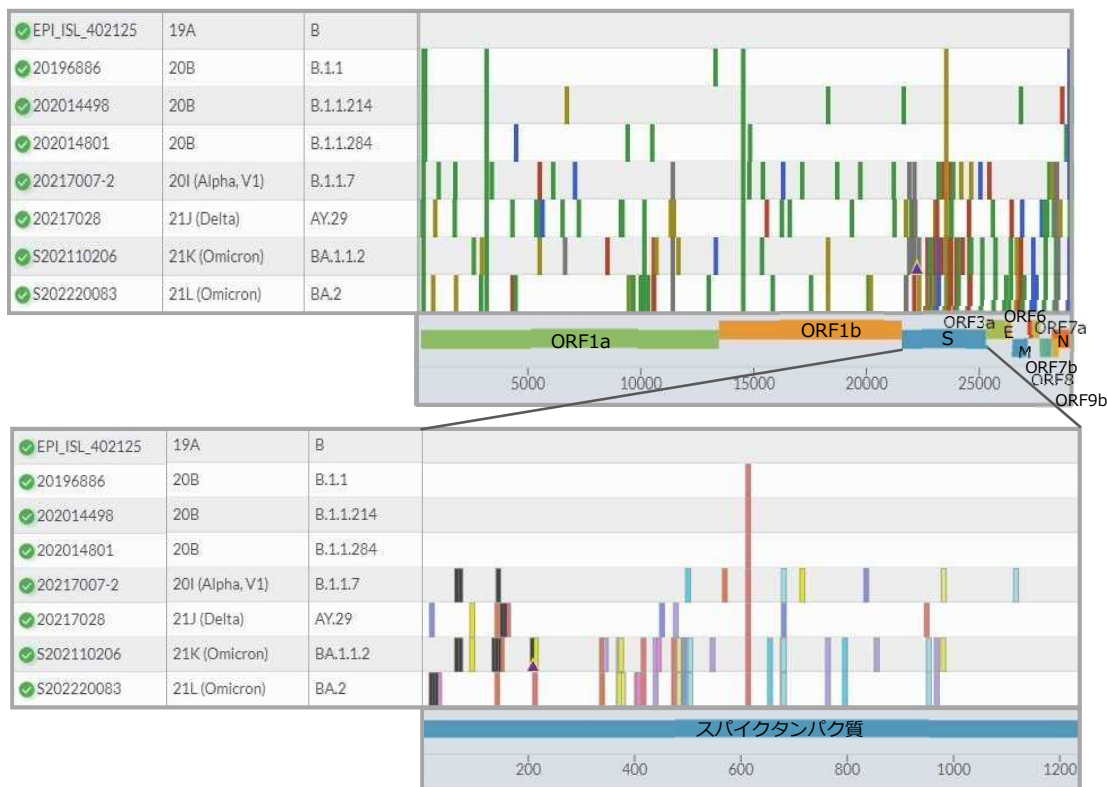


図1 札幌市におけるSARS-CoV-2陽性者の推移(2020.2~2022.5)



※Next clade (<https://clades.nextstrain.org/>)にて作成
 ※EPI_ISL_402125は参照株（武漢）、棒線が参照株からの変異箇所
 ※上段：ゲノム全体、下段：スパイクタンパク質のアミノ変異・欠失箇所

図 2 SARS-CoV-2 変異株（札幌株）のゲノム全体及びスパイクタンパク質の変異箇所

3-1 ゲノム解析結果（2020年2～12月）

札幌市において SARS-CoV-2 は 2020 年 2 月中旬に初めて検出され、B 系統が検出された。その後、札幌市（北海道）では全国に先駆け B.12 系統が拡がり、医療機関等でクラスターが発生した。B.12 系統は 2 月下旬から 4 月まで検出された。3 月には欧州で流行していたスパイクタンパク質に D614G 変異をもつ B.1.1 系統が国内に流入し、全国的に拡がり第 1 波となった。札幌市においても B.12 系統から B.1.1 系統に置き換わった。B.1.1 系統は 7 月中旬頃まで検出され、高齢者施設や医療機関、昼のカラオケ等でクラスターが発生した。

日本特有の B.1.1 系統の派生株として国内で拡がりを見せていた B.1.1.284 系統及び B.1.1.214 系統が札幌市でも 6 月頃から検出され始め、B.1.1.284

系統が主流となり、2020 年 11 月頃から B.1.1.214 系統に置き換わった。

3-2 ゲノム解析結果（2021年1～12月）

2021 年は 2020 年から主流になっていた B.1.1.214 系統が 5 月頃まで検出された。2 月には WHO が懸念される変異株（Variant of Concern：VOC）として 2020 年 9 月にイギリスで検出され拡がったアルファ株（B.1.1.7 系統）が検出され、B.1.1.214 系統から置き換わり、8 月頃まで検出された。アルファ株（B.1.1.7 系統）は図 2 で示すとおり、従来株と比べ大きく変異し、スパイクタンパク質にアミノ酸の変異（N501Y、P681H 変異等）や欠失があり、感染性及び伝播性が高くなったとされる⁷⁻⁹⁾。

また、同時期に欧米や国内で拡がりを見せていた R.1 系統が 3 月頃から 5 月頃まで札幌市でも検出さ

れた。R.1 系統はスパイクタンパク質に E484K 変異を有しており、免疫逃避の可能性が懸念された¹⁰⁾が、アルファ株が優勢となった。

6 月後半頃から WHO が懸念される変異株 (Variant of Concern : VOC) としてインドで流行していたデルタ株 (B.1.617.2 系統、AY.29) が検出され始め、アルファ株から置き換わり、2022 年 1 月末まで検出された。図 2 のとおり、デルタ株はスパイクタンパク質に多く変異箇所 (L452R、P681R 等) が見られ、アルファ株より感染性、伝播性が強いと示唆され^{9,11-13)}、札幌市でも主流株となった。2021 年 10 月には全国的にも報告されていたアルファ株とデルタ株の組換え体である XC¹⁴⁾ が 1 検体検出された。

なお、アルファ株及びデルタ株は検体の搬入がない時期があり、ゲノム解析を行っていない期間が生じた。

3-3 ゲノム解析結果 (2022 年 1~5 月)

WHO が懸念される変異株 (Variant of Concern : VOC) として南アフリカで流行していたオミクロン株 (B.1.1.529 系統、BA 系統) が 2021 年末に国内で検出され始め、札幌市においても 2021 年末に採取した検体から BA.1 系統が検出された。オミクロン株は図 1 のとおり従来株に比べ陽性者数が急増し、デルタ株 (AY.29 系統) から急速に置き換わった。オミクロン株は重症化するリスクは低いと感染性が高いとされ¹⁵⁻¹⁸⁾、急速に拡がりを見せた。2 月中旬にはさらに感染性が高い BA.2 系統が検出され、BA.1 系統から置き換わり、高い水準で推移している。

4. 考 察

SARS-CoV-2 発生当初からデルタ株発生時はウイルスの性状がわからないこと、また、重症になるケースが見られ、行動制限を伴った感染症対策やワクチン承認後にはワクチン接種効果もあり、ある程度の封じ込めができていた。一方、2021 年末に国内で検出され始めたオミクロン株は感染力を増したが、現在のところ重症化するリスクが少ないこと、感染

やワクチン接種による免疫の獲得もあり、行動制限を伴わない対策が取られ、従来株の流行時に比べ人の移動が盛んになっている。図 3、図 4 で示すとおり、札幌市では BA.1、BA.2 系統の起点が異なる派生株 (BA.2 をはじめ BA.2.3、BA.2.10、BA.2.24、BA.2.29 など) が同時期に検出されたことから人の移動により様々な地域から流入したと推察される。また、図 2 のとおり、オミクロン株は従来株から大きく変異し、特にワクチンのターゲットであるスパイクタンパク質の変異が免疫を逃避し感染・伝播性を高めていることが示唆されており、これらの要因が感染を急速に広げたものと推測される。

当所では SARS-CoV-2 のゲノム解析を感染症対策にどのように活用していくか模索しながら実施している状況にある。SARS-CoV-2 発生当初は陽性者が少なく、ゲノム解析は感染研の尽力もあり、陽性者数の 5%以上の解析を行うことができていたが、検査日数及び検査技術が必要なこと、1 検体あたりの費用が高いことから、オミクロン株のように爆発的な陽性者の増加により陽性者数に応じた検査数が行えず、正しい流行状況が反映できていない状況にある。また、感染症対策には疫学情報が重要であるが、オミクロン株の急増により疫学情報が追えない状況となり、ゲノム解析結果を疫学調査に利用できない状況となっている。

さらに、当所で行ったゲノム解析の検体はクラスターや家族などの検体が多く、流行状況の実態に偏りが生じている可能性がある。流行状況の把握や新たな変異株の探知には移動が多い世代や感染経路が不明な検体についてゲノム解析を行うことが発生動向の監視に必要と考える。

以上の状況を踏まえ、新たなパンデミックに備えるためにも、国内流行株の把握や監視、クラスターや感染経路を推定し、感染症対策に資する疫学調査を補完する等の目的を明確にして、ゲノム解析の結果を効果的に感染症対策に活かすことができるようにする必要がある。

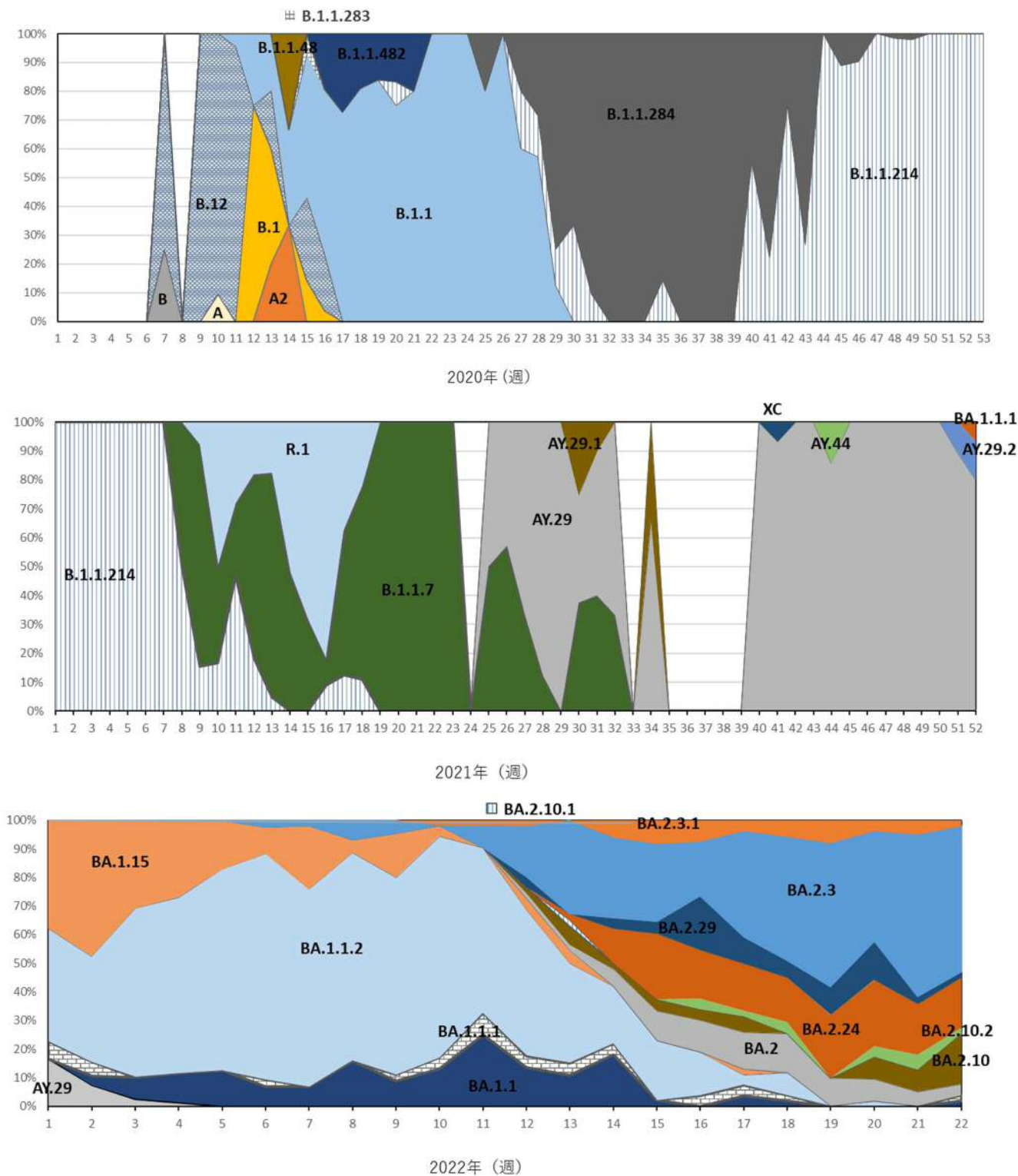


図3 札幌市における SARS-CoV-2 変異株検出割合の推移 (2020. 2~2022. 5)

5. 結 語

世界的に流行している SARS-CoV-2 は変異株の発生に伴い、札幌市においても同様に流行し、次々と

変異株が置き換わり、様々な地域からの流入が見られた。

SARS-CoV-2 は現在、BA. 2. 12. 1、BA. 2. 75、BA. 4 系

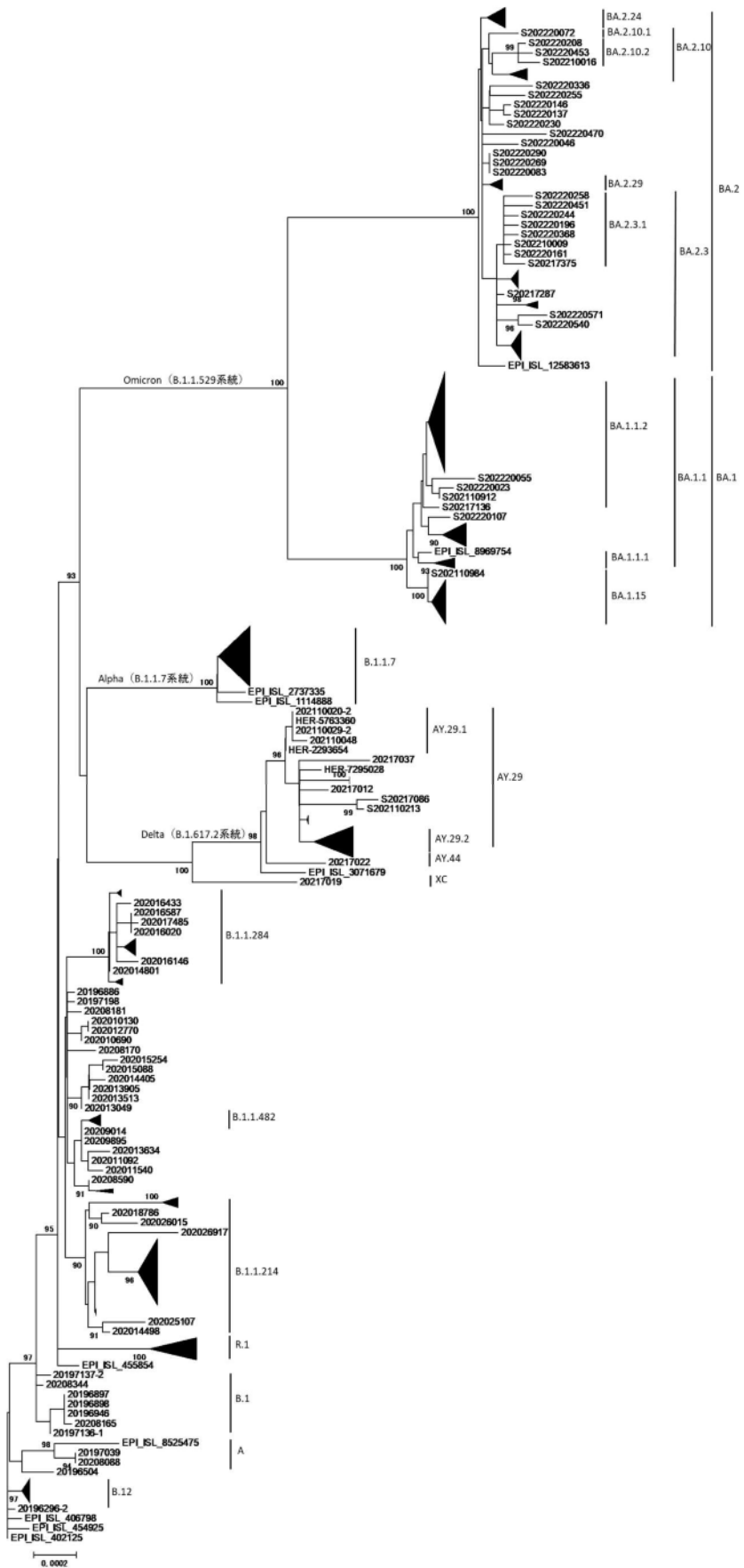


図4 札幌市における SARS-CoV-2 検出株の系統樹 (2020.2~2022.5)

統、BA.5系統などのオミクロン株の派生株(BA系統)が世界的に増加し、感染力を高めている。現在のところ重症者は少ない傾向にあるが、免疫不全患者や基礎疾患がある方、高齢者などは注意が必要である。

今後も新たな変異株や組換え体の探知、流行状況の把握など発生動向に注視していく必要がある。

謝辞：ご協力頂きました国立感染症研究所、医療機関及び民間検査会社、保健所を含む医療対策室の皆さまに深謝致します。

6. 文 献

- 1) <https://nextstrain.org/ncov/open/global/all-time?l=clock> (2022年8月16日閲覧)
- 2) Peng Zhou, Xing-Lou Yang, Xian-Guang Wang et al : A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature*, **579**, 270-273, 2020
- 3) Markus Hoffmann, Hannah Kleine-Weber, Simon Schroeder et al : SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, *Cell*, **181**(2), 271-280, 2020
- 4) William T. Harvey, Alessandro M. Carabelli, Ben Jackson et al : SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape, *Nature Reviews Microbiology*, **9**, 409-424, 2021
- 5) 国立感染症研究所: 新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル 2022年2月版
- 6) <https://www.pango.network/the-pango-nomenclature-system/statement-of-nomenclature-rules/> (2022年8月22日閲覧)
- 7) 国立感染症研究所: 日本国内で報告された新規変異株症例の疫学的分析(第1報), 2021年4月5日時点, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2484-idsc/10279-covid19-40.html> (2022年8月22日閲覧)
- 8) Yang Liu, Jianying Liu, Kenneth S. Plante et al : The N501Y spike substitution enhances SARS-CoV-2 infection and transmission, *Nature*, **602**, 294-299, 2022
- 9) Yang Liu, Jianying Liu, Bryan A. Johnson et al : Delta spike P681R mutation enhance SARS-CoV-2 fitness over Alpha variant, *Cell Reports*, **39**(7), 2022, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110829>
- 10) Tsuyoshi Sekizuka, Kentaro Itokawa, Masanori Hashino et al : A discernable increase in the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 R.1 lineage carrying an E484K spike protein mutation in Japan, *Infection, Genetics and Evolution*, **94**, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105013>
- 11) Chihiro Motozono, Mako Toyoda, Jiri Zahradnik et al : An emerging SARS-CoV-2 mutant evading cellular immunity and increasing viral infectivity, *bioRxiv*, 2021, <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438288>
- 12) Petra Mlcochova, Steven A. Kemp, Mahesh Shanker Dhar et al : SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion, *Nature*, **599**, 114-119, 2021
- 13) Akatsuki Saito, Takashi Irie, Rigel Suzuki et al : Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation, *Nature*, **602**, 300-306, 2022
- 14) Tsuyoshi Sekizuka, Kentaro Itokawa, Masumichi Saito et al : Genome Recombination between Delta and Alpha Variants of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), *JJID*,

75(4), 415-418, 2022

- 15) 国立感染症研究所 : SARS-CoV-2 の変異株 B.1.1.529 系統 (オミクロン株) について (第6報), <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10900-sars-cov-2-b-1-1-530.html> (2022年8月22日閲覧)
- 16) Huiping Shuai, Jasper Fuk-Woo Chan, Bingjie Hu et al : Attenuated replication and pathogenicity of SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron, *Nature*, **603**, 693-699, 2022
- 17) Bo Meng, Adam Abdullahi, Isabella A.T.M. Ferreira et al : Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts infectivity and fusogenicity, *Nature*, **603**, 706-714, 2022
- 18) Nicole Wolter, Waasila Jassat, Sibongile Walaza et al : Early assessment of the clinical severity of the SARS-CoV-2 omicron variant in South Africa : a data linkage study, *THE LANCET*, **399**, 437-446, 2022