

資料

神奈川県衛生研究所における新型コロナウイルスの検査対応について － 2020 年 1 月～ 2023 年 3 月－

鈴木理恵子, 佐野貴子, 近藤真規子, 日紫喜隆行*,
高橋淳子, 渡邊寿美, 豊倉いつみ,
渡邊大地, 稲田貴嗣, 中島直樹,
政岡智佳, 古川一郎, 櫻木淳一

A summary of SARS-Cov-2 testing at Kanagawa Prefectural Institute of Public Health (January, 2020 - March, 2023)

Rieko SUZUKI, Takako SANO,
Makiko KONDO, Takayuki HISHIKI *,
Junko TAKAHASHI, Sumi WATANABE,
Itsumi TOYOKURA, Daichi WATANABE,
Takatsugu INADA, Naoki NAKAJIMA,
Tomoka MASAOKA, Ichiro FURUKAWA
and Junichi SAKURAGI

新型コロナウイルス感染症（以下、COVID-19）は、2019 年 12 月に中国武漢市で初めて患者が確認され、短期間のうちに世界中でパンデミックを引き起こした。

神奈川県衛生研究所（以下、当所）をはじめとする全国の地方衛生研究所（以下、地衛研）では、COVID-19 発生当初から検査対応にあたっていた。検査の主軸を担っていた地衛研では、市中での感染者数増加に伴い連日最大限の PCR 検査を実施していた。しかし PCR 検査の必要数には足りておらず、厚生労働省からは PCR 検査処理数の増加が常に求められていた。2020 年 5 月頃より新型コロナウイルス（以下、SARS-CoV-2）遺伝子検査の試薬や機器の承認・販売が始まり、地衛研以外でも検査が可能となり、SARS-

CoV-2 検査の多くは医療機関や民間検査センターが担うようになった。また、抗原検査キットの販売が開始され、SARS-CoV-2 検査は様々な検査手法で実施が可能となり、当所における SARS-CoV-2 検査対応は収束するかのように思えた。しかし 2020 年 12 月以降、英国においてスパイクタンパク質の N501Y 変異と 69, 70 番目のアミノ酸欠損 (del 69-70) を持ち、感染力が強いとされたアルファ株 (B.1.1.7 系統株) が報告された。さらに南アフリカでは、感染力も強く免疫逃避能を有する株とされたベータ株 (B.1.351 系統株)、ブラジル帰国者からガンマ株 (P.1 系統株) など、感染性や伝播性の増加や抗原性の変化がみられる「懸念すべき変異株 (Variant of Concern: VOC)」(以下、VOC) が相次いで報告されるようになった。このことにより 2021 年の SARS-CoV-2 検査は、SARS-CoV-2 の有無のみならず、変異株遺伝子検索も重要な検査業務となっていた。2021 年 5 月以降は、デルタ株 (B.1.617 系統株) も加わり、変異株の状況を把握するため 2021 年 2 月から 12 月にかけてリアルタイム PCR による変異株調査が実施された。検索対象とした主なウイルス変異遺伝子は N501Y (アルファ株・ベータ株), E484K (ベータ株), L452R (デルタ株) 等で、流行状況に応じて検索対象遺伝子の追加や変更を行った。しかし、様々な変異株が出現するため一部の変異遺伝子の検索だけでは、変異株の動向を把握しにくい状況となっていた。COVID-19 発生以降、ほとんどの地衛研は、感染研に抽出 RNA を送付し、全ゲノム解析を委託して変異株の動向の把握に寄与してきたが、2021 年 3 月より、当所でも搬入された陽性例の 10%程度について、全ゲノム解析を実施することとし、神奈川県内における SARS-CoV-2 変異株の調査を始めた。さらに 2021 年 12 月には、スパイクタンパク質に 30 か所以上のアミノ酸変異を有するオミクロン株 (B.1.1.529 系統株) が出現したことで、全ゲノム解析数を徐々に増加させ、2022 年 4 月からは変異株遺伝子検索に代わって、全ゲノム解析が可能な検体の全例について解析を実施する体制に変更した。また、神奈川県では、市中の流行株及び変異株の動向を調査する目的で、2022 年 2 月から、県内 4 か所の医療機関を重症例定点医療機関として定め、重症例発生時に随時検体が搬入される「重症例モニタリング調査」を開始した。さらに、2022 年 7 月からは、県内 13 か所の定点医療機関より各定点月 2 回、SARS-CoV-2 陽性検体が搬入される「定点モニタリング調査」を実施した。

変異株の動向は世界中が注視し、SARS-CoV-2

神奈川県衛生研究所 微生物部

〒 253-0087 茅ヶ崎市下町屋 1-3-1

*現 国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター

〒 162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1

の全ゲノム解析は世界中で行われている。当所での解析情報は、感染研のCOG-JPシステム及びGlobal Initiative on Sharing Avian Influenza Data(GISAID)の両サイトに登録を行い、国内及び国際的にゲノム解析情報と変異動向の共有化を図っている。

2023年3月末現在では、SARS-CoV-2の全ゲノム解析により変異株の動向を調査することが、微生物部における主たる業務となっている。

本感染症の発生以降、わが国では感染症法上の2類感染症に相当する感染症として取り扱われ、医療、行政、個人と各々で様々な対応が行われてきたが、2023年5月8日以降は、5類感染症として移行することが決定した。

本稿では、新型コロナウイルス発生当初から2023年3月までの3年3か月に及ぶ当所の微生物部における新型コロナウイルス検査対応状況、依頼検査数、全ゲノム解析状況をまとめた。

【2020年1月から3月(2019年度)】

2020年1月6日付、厚生労働省健康局結核感染症課より事務連絡「中華人民共和国湖北省武漢市における非定型肺炎の集団発生にかかる注意喚起について」が発出された。1月15日には、国立感染症研究所(以下、感染研)において我が国初の感染者が確認され、神奈川県在住者であることが報道された。1月18日には、感染研のコンベンショナルPCR法(以下、RT-PCR)による検査法がWeb公開され、1月24日には地衛研向けの2019-nCoV検査マニュアルが配布、同時にRT-PCR用のプライマーが感染研より配布された。続いて1月28日には、RT-PCRおよびリアルタイムPCR法の陽性コントロール、1月30日にはリアルタイムPCR試薬が配布された。当所では、試薬入手直後より各PCR反応系の確認を行い、RT-PCRによる検査は1月29日から、リアルタイムPCR法による検査は1月31日から検査が可能となり、検体搬入に備え受け入れ体制を整備した。1月31日には、1月15日に感染が確認された1例目の接触者の検体が搬入されたが、本件についてはRT-PCRを用い、検体搬入当日に検査結果の報告を行った。2月3日にはダイヤモンドプリンセス号(以下、DP号)が横浜に寄港し、船内には多くの新型コロナウイルス感染者が乗船しているであろうと報道されていた。厚生労働省及び検疫所より検査協力の要請があり、翌4日よりDP号の乗船者・乗務員等の検体が搬入され、リアルタイムPCR法により検査を実施し、速やかに結果の報告を行った。このDP号内の乗船者・乗務員

資料

クルーズ船ダイヤモンド・プリンセス号に関する支援活動に従事した皆さまへ

クルーズ船ダイヤモンド・プリンセス号における支援活動については、3月1日、すべての乗客・乗員の下船が完了し、オペレーションに大きな一区切りができました。2月3日のクルーズ船の横浜港入港後、支援活動に当たっていただいた関係者の皆さまに対して、心より御礼を申し上げます。

クルーズ船の内外では、連日、検疫、感染防止策の徹底、発症者の診察、健康確認、PCR検査の検体採取、医療機関等への搬送、医薬品等の物資の提供、Wi-Fi等生活環境の整備、下船した方の宿泊施設での受入れに至るまで、クルーズ船の船長やクルーの方々を含め、多くの機関、団体、企業、専門家等の参画の下、業務が展開されたと聞いています。現場では、さまざまな困難があったと思います。それぞれの関係者の皆さまが、状況に応じて適切な対応を考え抜き、協力を重ねながら一つひとつの問題を解決することで、ここまでの状況に至ることができました。

皆さまには、感染のリスクがある中、強い精神的なストレスに晒されながら、使命をもって支援活動にあたってくださいました。ご家族、ご友人、職場の同僚を始め、周りの方々にも大きなご心配をおかけしたと思います。新型コロナウイルス感染症の国内での感染拡大を食い止めたい、そして船内で不自由な生活を過ごされた乗客・乗員の方々に健康に日常生活へ戻ってほしいという皆さまの強い気持ちと、献身的な努力なくして、このクルーズ船での検疫は実行し得ませんでした。重ねて、心から感謝を申し上げます。本当にありがとうございました。

すべての乗客・乗員の下船が完了したことで、クルーズ船における新型コロナウイルス感染症対策は大きな一区切りを迎えました。しかし感染症との戦いはまだ終わっていません。皆さまは、クルーズ船を離れ、既に元の持ち場に帰っていただいていると思いますが、それぞれの立場で新型コロナウイルス感染症対策及び感染拡大防止に引き続きご支援、ご協力いただけますようお願い申し上げます。末筆ながら、今後の皆さまのさらなるご活躍を深くお祈り申し上げます。

令和2年3月18日

厚生労働大臣

加藤勝信

等に関する検査対応は、2月15日まで続いた。DP号から下船した患者及び乗務員は、県内の複数の医療機関に入院隔離されたことから、退院に向けての陰性確認検査の対応にも追われた。並行してDP号乗船者検体からのウイルス分離培養や全ゲノム解析により武漢株(Clade 19A)であること決定し、報告¹⁾を行った。

DP号への一連の対応について、3月18日付厚生労働大臣より各関係機関にお礼状(資料)が届けられ、過去に例を見ない感染症に関わっていることや、収束する気配が全く見えない状況を再認識した。

2月から3月にかけては、第1波(2020年2月から5月頃)の始まりの時期であり、欧州を含めた海外からの帰国者や市中においても感染者が増加し、疑い例や陽性者の陰性確認検査、陽性者の接触者調査に伴うクラスター調査など、保健福祉事務所職員、衛生研究所職員とともに検体の搬送や検査に追われる日が続いた。第1波の主流株は、武漢株ではなく欧州型と呼ばれるB.1.1系統株(Clade 20A)であった。

図1には、2020年1月から2023年3月までの検査依頼ごとに集計した検体搬入状況を示した。初期の段階では、ウイルス感染の有無についての遺伝子検査が多かった。その後、変異株検査、全ゲノム検査、モニタリング検査等に内容が変化した。

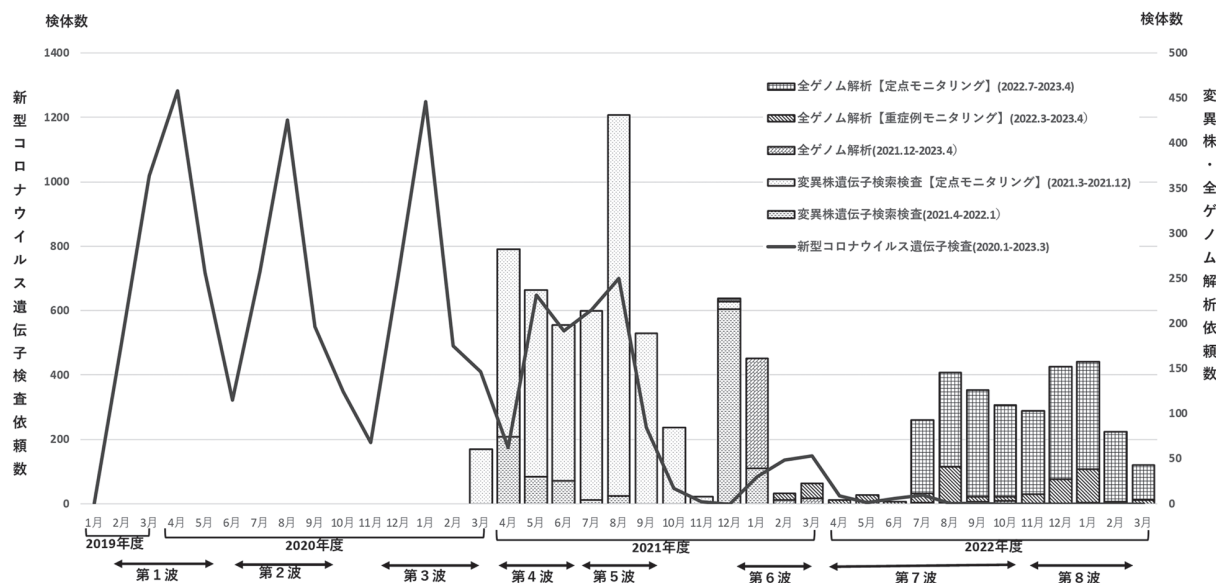


図 1 神奈川県衛生研究所における新型コロナウイルス感染にかかる依頼ごとの検査数 - 2020.1 ~ 2023.3 -

【2020 年 4 月から 2021 年 3 月 (2020 年度)】

発生初期から 4 月までの SARS-CoV-2 の遺伝子検査は、鼻咽頭ぬぐい液等の検体から核酸を抽出した後、リアルタイム PCR 法により SARS-CoV-2 の遺伝子検出を行っていた。この際に使用する器材、試薬のほとんどは海外製品を使用しており、SARS-CoV-2 の世界的な流行により、様々な海外製の物品が入手困難となることが想定された。当所における器材、試薬等の備蓄は、食中毒、麻疹、風疹等の流行に備え行なっていたため、この時点での不足はなかったが、今後も長期にわたり器材、試薬の供給状態が安定しないことを見据え、5 月より国内の試薬メーカーより販売された RNA 抽出不要リアルタイム試薬への切り替えを行った。この試薬の切り替えにより、検査手順の簡素化、検査所要時間の短縮が計られ、保健福祉事務所等への結果報告に要する時間が大幅に短縮された。

6 月には、第 2 波 (2020 年 6 月から 10 月頃) による流行が始まった。接待を伴う飲食店などの繁華街を中心とした感染拡大、医療機関や福祉施設などのクラスターによる検査数が増加した。11 月には、第 3 波 (2020 年 12 月から 2021 年 2 月頃) の流行があり、第 1 波、第 2 波と比べ感染者数は増加し、重症化リスクの高い高齢者への感染が目立った。流行の主流は、第 1 波の B.1.1 系統株から B.1.1.284 系統、B.1.1.214 系統 (Clade 20B) に主流株に置き換わった。2020 年 12 月、英国で報告されたアルファ株 (B.1.1.7 系統株 Clade 20I) の出現を受け、12 月搬入検体よりアルファ株に特有な N501Y 変異遺伝子の検索を開始

し、2021 年 2 月に県内で初のアルファ株が確認された。その後、アルファ株は短期間に感染拡大し、第 4 波 (2021 年 3 月から 6 月頃) の主流株となった。

【2021 年 4 月から 2022 年 3 月 (2021 年度)】

この時期、アルファ株 (N501Y 変異等)、ベータ株 (E484K 及び N501Y 変異等)、ガンマ株 (E484K 変異等) など変異株が相次いで報告されたことを受け、2021 年 3 月より、変異株モニタリング調査が開始された。本調査は、県内 18 か所の定点医療機関より月 2 回、SARS-CoV-2 検査陽性例の残検体が搬入され、リアルタイム PCR 法により変異遺伝子の検出を行い、アルファ株を中心とした変異株のモニタリングを行っていた。併せてスパイクタンパク質 (RBD) の受容体領域接合部位を含むアミノ酸領域 334-700 番の塩基配列の解析をサンガーシーケンス法で行い、2021 年 5 月には、ベータ株 (B.1.351 系統株) による感染例をいち早く探知することができ、速やかに行行政機関へ情報還元した。このことにより、患者居住地周辺で発生した COVID-19 患者への変異株監視を強化することができた。また、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析は、4 月から搬入された陽性例の 10%を目安とし実施することとなり、2021 年度より、当所に求められる新型コロナウイルス検査は、SARS-CoV-2 のウイルスの有無の検索から、変異株遺伝子の動向をモニタリングすることに大きく変化した。その後、L452R 変異を特徴とするデルタ株 (AY.29 系統株) (Clade 21J) による第 5 波 (2021 年 7 月から 9 月頃) が発生した。10 月 25 日付厚生労働省より、

デルタ株に置き変わりが進み感染者数が減少していることから変異株 PCR 検査は必須ではないと、事務連絡が出されたことから、本県の変異株モニタリング調査は、12 月初旬に中断された。

11 月 26 日、WHO はオミクロン株 (B.1.1.529 系統株) を VOC に位置づけた。オミクロン株は、これまでの株より伝染性は強いが、病原性、重症化リスクともに低いとされていた。11 月 30 日、国内初のオミクロン患者が確認されたことから、帰国時の航空便同乗者への検査、陽性例の検査等が強化され、再び変異株 PCR と新たに全症例の全ゲノム解析の実施要請があった。これを受け、12 月より県内の陽性例の検体搬入がされ、全ゲノム解析の実施が始まった。当時、県内で全ゲノム解析を実施していた施設は、当所と川崎市健康安全研究所のみであったことから、この 2 施設が県内の陽性例の解析にあたった。しかし、オミクロン株による感染者の急増により、「全症例について」全ゲノム解析から「可能な限り」全ゲノム解析を実施することに変更され、県内の他の地衛研でも全ゲノム解析を実施するようになり、間もなく検査依頼数は減少した。この時期は、第 6 波 (2022 年 1 月から 3 月頃) にあたる時期で、主流株は BA.1 系統 (Clade 21K) や BA.2 系統 (Clade 21L) であった。

【2022 年 4 月から 2023 年 3 月 (2022 年度)】

2022 年 2 月 10 日付の厚生労働省からの事務連絡により、重症度等の知見を集積・監視するために、重症例及び死亡例については、可能な限り全例に対して、全ゲノム解析を行うとの要請があった。これに基づき、本県では、3 月より県内 4 か所の医療機関を重症例モニタリング定点とし、全ゲノム解析による重症化モニタリング調査を開始した。さらに 7 月には、県内 13 か所の定点医療機関を設け、月 2 回の定点モニタリング調査を実施した。検体はいずれも医療機関で SARS-CoV-2 陽性が確認された残検体液である。第 7 波 (2022 年 4 月から 9 月頃) は、2 月に南アフリカで報告された BA.5 系統株 (Clade 22B) が主流株であり、第 8 波 (2022 年 11 から 2023 年 2 月頃) は種々のオミクロン株 (BA.1 系統株、BA.2 系統株等) の組み換え体が出現し、BA.2.75 系統株や XBB 系統株等も検出されていた。2022 年 2 月から 2023 年 3 月までに全ゲノム解析のために当所に搬入された検体は、重症例 141 検体、定点モニタリング 860 検体の合計 1,001 検体であった。新型コロナウイルス N 遺伝子の Ct 値が 30 未満であった 939 検体についてゲノム解析検査を実施した。ゲノム解析の結果は、通常 Lineage (系統) で示されるが、数多くの Lineage が存在したため、

それらを大きく Clade (系統群) に分け、図 2 とし、Lineage による解析及び検出数を表に示した。

2021 年の後半の流行株であったデルタ株の 21J (AY.29 系統) は、2022 年 2 月以降の全ゲノムによるモニタリング調査開始後は検出されず、オミクロン株の 21K (BA.1 系統)、21L (BA.2 系統) が流行株であった。2022 年 7 月、オミクロン株は 22B (BA.5 系統) へと置換が進み、9 月には、BA.2 系統からの変異株である 22D (BA.2.75 系統) も検出され始めた。2023 年 1 月以降は、22D、22E、22F など複数の系統株が検出されていた (図 2)。2022 年度に最も多く検出されたのは、Clade 22B (BA.5 系統) の株であり (表)、2022 年夏以降に始まった新型コロナウイルス第 8 波の主流の遺伝子型であった。

2023 年 3 月末現在、SARS-CoV-2 の全ゲノム解析は、当所の微生物にとって主たる業務である。SARS-CoV-2 は、未だ短期間に多くの変異株の出現が報告されている状況である。新たな変異株の侵入を感知し、感染拡大への注意喚起、防止対策等おこなうためには、全ゲノム解析によるモニタリング調査を継続する必要がある。

最後に、検体の搬送や情報の収集にご協力いただきました各保健福祉事務所の方々、本事業にご尽力いただきました県医療危機対策本部室の方々、ゲノム解析においてご支援をいただきました国立感染症研究所病原体ゲノムセンターの先生方に深謝いたします。

(令和 5 年 9 月 1 日受理)

文献

- 1) 日紫喜隆行, 高崎智彦: 新型コロナウイルス陽性検体からのウイルス分離, 臨床とウイルス, 49(4), 218-223 (2021)

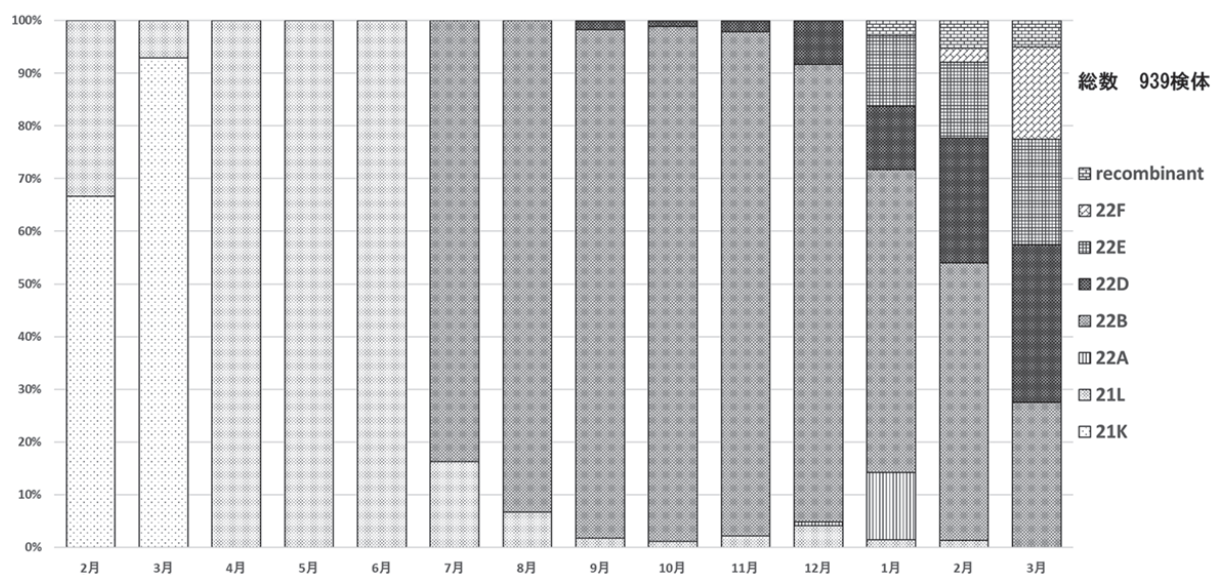


表 SARS-CoV-2 全ゲノム解析 重症例・定点モニタリング調査結果の系統分類 - 2022.2 ~ 2023.3 -

Clade (系統群)	検出数	Lineage(系統) (検出数詳細)									
21K	15	BA.1.1	(15)								
21L	51	BA.2	(22)	BA.2.10	(2)	BA.2.12.1	(2)	BA.2.18	(3)	BA.2.24	(6)
		BA.2.3	(4)	BA.2.3.1	(2)	BA.2.3.20	(3)	BS.1.1	(6)	CM.8	(1)
22A	1	BA.4.6	(1)								
22B	756	BA.5	(6)	BA.5.1	(31)	BA.5.1.1	(1)	BA.5.1.2	(2)	BA.5.1.3	(2)
		BA.5.1.5	(1)	BA.5.2	(203)	BA.5.2.1	(140)	BA.5.2.3	(1)	BA.5.2.6	(23)
		BA.5.2.9	(1)	BA.5.2.12	(5)	BA.5.2.18	(1)	BA.5.2.20	(2)	BA.5.2.21	(1)
		BA.5.2.27	(1)	BA.5.2.28	(2)	BA.5.2.35	(3)	BA.5.2.43	(3)	BA.5.3	(1)
		BA.5.3.1	(2)	BA.5.5	(5)	BA.5.5.1	(4)	BA.5.6	(1)	BE.1	(2)
		BE.1.1	(4)	BE.1.1.2	(1)	BF.1	(4)	BF.2	(2)	BF.5	(184)
		BF.5.1	(3)	BF.7	(32)	BF.7.4.1	(11)	BF.7.5	(2)	BF.7.14	(1)
		BF.7.15	(5)	BF.10	(1)	BF.11	(7)	BF.11.5	(1)	BF.12	(1)
		BF.13	(1)	BF.14	(1)	BF.21	(2)	BF.25	(1)	BF.26	(4)
		BQ.1	(8)	BQ.1.1	(33)	BQ.1.3	(1)	CQ.2	(1)	CR.1.3	(1)
22D	64	BA.2.75	(3)	BA.2.75.5	(1)	BM.1.1	(1)	BM.4.1.1	(4)	BN.1	(12)
		BN.1.1	(1)	BN.1.2	(13)	BN.1.3	(18)	BN.1.5	(2)	BN.1.9	(1)
		BR.2	(2)	BR.3	(1)	CH.1.1	(3)	CH.1.1.1	(1)	CH.1.1.3	(1)
22E	38	BQ.1	(2)	BQ.1.1	(13)	BQ.1.1.4	(1)	BQ.1.1.10	(1)	BQ.1.1.18	(10)
		BQ.1.2	(1)	BQ.1.22	(1)	BQ.1.24	(1)	BQ.1.25	(1)	BQ.1.28	(3)
		BQ.1.5	(1)	BQ1.1.18	(3)						
22F	8	XBB.1.5	(6)	XBB.1.9.1	(2)						
recombinant	6	XBC.1	(1)	XBJ	(4)	XBK	(1)				