

1. WGS 解析を用いた北海道内における新型コロナウイルス の分子疫学調査

○大久保 和洋 (北海道立衛生研究所)
大野 祐太 (北海道立衛生研究所)

【研究目的】

2019 年に発生した新型コロナウイルス感染症はパンデミックを引き起こし、北海道でも 70 万人以上の感染者が発生している。感染症の感染拡大を防止するためには感染経路の解明が重要であるが、これまでその手法としては、感染者から行動履歴や濃厚接触者について聞き取る実地疫学調査に限られていた。しかし今回の新型コロナウイルス感染症では、新型コロナウイルスの全ゲノム解析 (WGS 解析) を行うことにより、ウイルスの遺伝子配列を比較する分子疫学調査が可能となり、新型コロナウイルスの感染経路の解明に役立てることができるようになった。

本研究では北海道内の広い範囲から新型コロナウイルスの検体を収集し、WGS 解析を行って分子疫学調査を行うことにより、道内規模での感染状況を明らかにして、感染拡大防止や変異株など新たなウイルス系統の道内への侵入探知に役立てることを目的とした。

【研究の必要性】

2019 年 12 月に中国湖北省武漢市で発生した新型コロナウイルス感染症は、またたく間に世界中に広まり、2022 年 9 月現在も多数の感染者が発生している。北海道においても 2020 年 1 月に最初の感染者が確認されて以降、2022 年 9 月現在 700,000 人以上の感染者と、2,500 人以上の死者が報告されている。この間、アルファ、デルタ、オミクロンなどいわゆる変異株によって何度も流行の波が発生している。

我々が所属する北海道立衛生研究所では、2020 年末頃から新型コロナウイルスの WGS 解析を開始し、現在に至るまで 3,500 検体以上のウイルスゲノムを明らかにしている。変異株が確認されて以降、WGS 解析は変異株の確定作業のためだけに用いられたこともあったが、本来 WGS 解析は変異株の確定だけではなく、分子疫学調査に用いられてこそ、その有効性が発揮されるものである。

北海道における新型コロナウイルス感染症の感染状況の解明、感染が拡大している株の同定、従来とは違う株の探知等を行うためには、道内全域から広く、定期的に検体を収集し、WGS 解析を行って分子疫学調査を行う必要性があり、本研究を実施した。

【研究計画】

新型コロナウイルス感染者の検体を北海道内全域から収集し、WGS 解析を行う。検体から WGS 解析の実施までは国立感染症研究所による方法に従う¹⁾。その他、GISAID (<https://gisaid.org>) に登録された新型コロナウイルス遺伝子情報の内、道内で採取された株と特定できたものについても利用する。収集した道内の新型コロナウイルスの遺伝子情報を、PopART (<https://popart.maths.otago.ac.nz>) を使い、Median joining 法を用いてハプロタイプネットワーク (HN) を作成する。

【実施内容・結果】

2021 年 2 月から 8 月にかけて当所で WGS 解析を行いアルファ株と判定されたもの、および GISAID に登録されたアルファ株の内、北海道内で採取されたもの、合わせて 998 検体を用いて、検体採取地域から道央、道北、道南、道東に分類した後、Median joining 法 ($\epsilon = 0$) にて HN を作成した (次ページ)。最も古い検体は 2021 年 2 月 27 日に採取されたもので、最も新しい検体は 2021 年 8 月 31 日に採取されたものである。

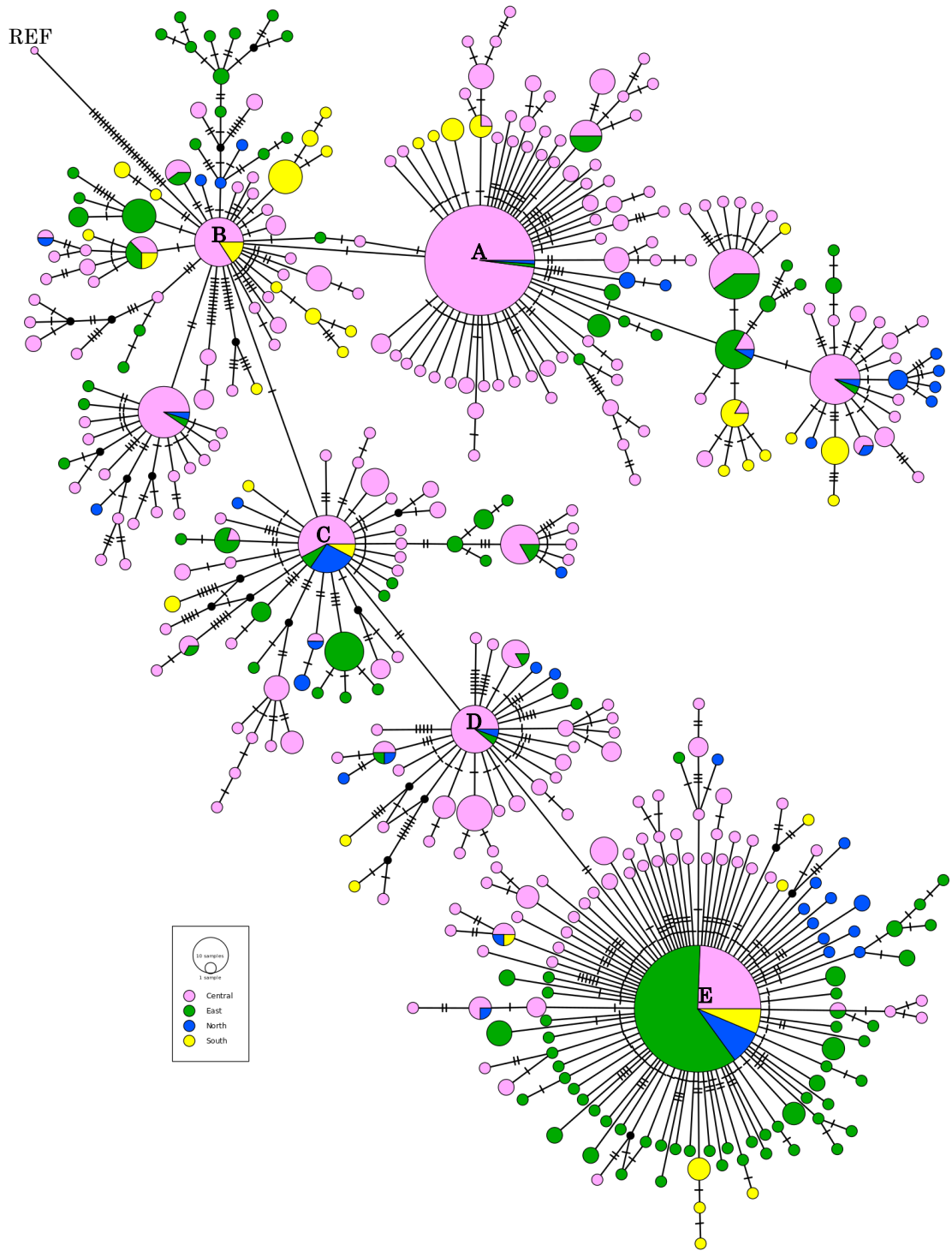
作成された HN を見ると、2 つの大きなノード (node、同じ配列を持つ検体の集合) が形成されている (A, E)。ノード A には 96 検体が、ノード E には 127 検体が集まった。ノード A の検体で最も古いものは採取日が 2 月 27 日、最も新しい検体は 4 月 28 日であった。ノード A には 2 月に採取されたものが 2 検体、3 月が 57 検体、4 月が 37 検体で構成されており、このノードは 3 月を中心とする 3 月から 4 月に流行した株で構成されている。一方、最大のノードであるノード E は 4 月以前の検体は 1 つもなく、5 月の 114 検体、6 月の 12 検体、7 月の 1 検体と、5 月に流行した株で構成していることが分かった。ノード E の最も古い検体は 5 月 2 日に採取されたもので、最も新しいものは 7 月 7 日採取である。

また、ノード A からノード E までを繋ぐノード B、C、D は時系列に繋がっているのではなく、ノード B は検体採取日が 4 月 22 日から 6 月 12 日までの 19 検体、ノード C は 3 月 24 日から 5 月 21 日までの 26 検体、ノード D は 3 月 24 日から 6 月 7 日までの 18 検体で構成されていた。

【考察と今後の課題】

北海道内でアルファ株が流行したのは 2021 年の 3 月から 5 月であった。最も感染者数が多かった 5 月の下旬には、週当たりの新規感染者数が 4,000 人を突破した。今回、WGS 解析を用いて分子疫学調査を行ったところ、同じアルファ株であっても、3、4 月に流行した株 (ノード A 等) と、5 月に流行した株 (ノード E) は区別できる別のものであることが分かった。仮に、5 月に流行した株の北海道内への侵入を防ぐことができた場合、アルファ株による流行は 5 月初頭には減少傾向に入り、新規感染者も理論上半分以下にすることができたかもしれない。

また、A、B、C、D、E の各ノードを構成するウイルスの検体採取日から、各ノードは A、B、C、D、E の順に広がったのではなく、まずノード A が形成され、次にノード C、D、さら



北海道内の新型コロナウイルスアルファ株による HN : REF は最初に報告された中国武漢株 (MN908947.3)。ピンクは道央、緑は道東、青は道北、黄色は道南で採取された検体を表す。各ノードを繋ぐ線を横切る線の本数は変異塩基数を表す。

にノード B に広がった後、最後にノード E へと広がった可能性が高い。ウイルスゲノムの変異数によらず順不同で発生したのであれば、当時の北海道、および日本国内の予防対策がそれなりに功を奏していたと考えられる。仮に北海道や国が全く対策を立てなければ、武漢株に一番近いノード B 近辺からアルファ株が検出され、その後、そこを起点として広がっていく HN となっていたと思われる。

今回、アルファ株 998 検体を用いて解析を行ったが、これはアルファ株が流行した時の感染者数から概算して北海道全体の 7%程度にとどまる。より精度の高い情報を得るためにはさらに解析数を増やす必要がある。また経費の関係上アルファ株のみでの解析にとどまったが、デルタ株やオミクロン株でも同様の解析を行い、変異株ごとに比較することによって、各株の特徴や、対策による変化がとらえられる可能性がある。そのような情報は、今後起こりうる、より病原性が強い病原体によるパンデミックの対策に役立つであろう。

実地疫学調査と WGS 解析を組み合わせることにより、北海道でもより精度の高い調査を行えるようになった^{2,3)}。WGS 解析による分子疫学調査が、実際に現場で感染症対策に従事している人に広く理解されるようになれば、さらにレベルの高い対策が可能となるだろう。

【参考文献】

1. Sekizuka T., *et al.* A Genome Epidemiological Study of SARS-CoV-2 Introduction into Japan. *mSphere* 2020 5(6) e00786-20
2. 儀同咲千江他, 全国高等学校選抜アイスホッケー大会における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 事例. *IASR* 2021 42 p227-228
3. 高垣正計他, アジアリーグアイスホッケー競技大会における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 事例. *IASR* 2022 43 p143-145

【経費使途明細】

使 途	金 額
WGS 用試薬 (MiSeq Micro Kit V2 x2)	166,980 円
RT-PCR 試薬 (LunaScript RT SuperMix Kit 等)	106,480 円
プラスチック消耗品等	24,450 円
振込手数料	2,090 円
	円
	円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円