『科学』2021年7月号（6月24日出庫）掲載予定
プレプリント
（印刷版と異同がある場合があります）

新しい形の共同研究による SARS-CoV-2 変異株の定点観測(1)

川上浩一[*1] かわかみ　こういち
光永滋樹[*1] みつなが　しげき
白木知也[*1] しらき　ともや
井ノ上逸朗[*1] いのうえ　いつろう
倉持　仁[*2] くらもち　じん
竹村栄毅[*3] たけむら　ひでき
田中総一郎[*4] たなか　そういちろう
渡邉　健[*5] わかなべ　けん

＊1 国立遺伝学研究所（静岡県，三島市）
＊2 インターパーク倉持呼吸器内科（栃木県，宇都宮市）
＊3 レイクタウンたけのこ耳鼻咽喉科（埼玉県，越谷市）
＊4 たなか循環器内科クリニック（静岡県，袋井市）
＊5 ハレノテラスすこやか内科クリニック（埼玉県，さいたま市）

SARS-CoV-2 パンデミックと変異株の出現

SARS-CoV-2 は，COVID-19 と名付けられた深刻な生命を脅かす病気を引き起こす原因ウイルスである。COVID-19 は 2019 年 11 月に中国の武漢で発生したことが最初に指摘され，WHO は 2020 年 3 月 11 日に世界的大流行を宣言した。2021 年 6 月 4 日までに，世界中で計 1 億 7259 万人の感染者と計 371 万人の死者が報告されている[1]。日本においては，2020 年 2 月 13 日に初めて COVID-19 による死者が報道され，2021 年 6 月 4 日までに，計 75 万 8290 人の感染者と計 1 万 3417 人の死者が報告されている[1]。

SARS-CoV-2 は，武漢で分離された株について約 30 kb の全ゲノム配列が決定された[2,3]。2020 年 3 月以降，スパイク蛋白質に D614G 変異をもつ株が欧州から世界にひろがった[4,5]。現在ではすべてのウイルス株が D614G 変異を有する（本稿では従来型としている）。その後，N501Y 変異をもつアルファ（英国）＊型変異株（B.1.1.7）[6]，E484K 変異と N501Y 変異をもつベータ（南アフリカ）型変異株（B.1.351）[7]，K417N, E484K, N501Y 変異をもつガンマ（ブラジル）型変異株（P.1/B.1.1.28）[8]，米国と日本で流行している E484K 変異株（R.1）などが，これまでに同定され報告されてきた。N501Y 変異は，従来型（欧州型）と比較して感染力を約 1.7 倍増強すると考えられた[6]。一方，E484K 変異は免疫回避型変異と考えられ，再感染やワクチンの効果を減じる可能性がある[9]。さらに最近同定された，L452R 変異をもつデルタ（インド）型変異株（B.1.617）[10]は，さらに感染力が増していると考えられている。

＊—WHO による新呼称に，便宜上初見地を併記する。

変異株の定点観測のためのネットワーク形成

「COVID-19 に科学的に向き合いたい」——このような考えを共有する，COVID-19 治療の最前線で SARS-CoV-2 検体採取を行っている民間のクリニックの医師らと私たち国立遺伝学研究所の研究者は，主に SNS におけるつながりをもとにしてネットワークを形成し，変異株のゲノム解析のための共同研究を開始した。

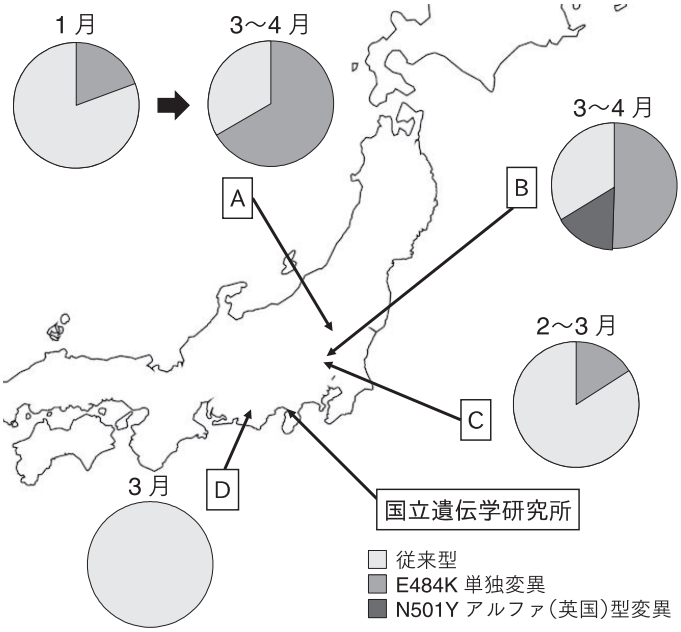
本研究は，以下のような意義があると考えられる。

(1) 日本国内で流行している SARS-CoV-2 変異株の動向を迅速に把握する。また，新規変異株を発見する可能性がある。
(2) 臨床の現場での実際の症状や感染の状況などと変異を関連づけることができる。それらの関連性について新しい知見が得られる可能性がある。
(3) SARS-CoV-2 感染防止対策において，PCR 検査やゲノム解析など科学的なアプローチが重要であることを社会の意識に浸透させる。

E484K, N501Y 変異株の同定

各クリニックから得られた検体から迅速に変異の種類を同定するために以下のような解析を行った。

(1) 検体から常法により RNA を抽出する。
(2) 変異の種類を判定する際に重要であるスパ



図―共同研究ネットワークによる SARS-CoV-2 変異解析
A：インターパーク倉持呼吸器内科，B：レイクタウンたけのこ耳鼻咽喉科，C：ハレノテラスすこやか内科クリニック，D：たなか循環器内科クリニック

イク蛋白質をコードする領域中のプライマーで RNA を逆転写する。さらに同じくスパイク蛋白質領域のプライマー 2 セットで nested PCR を行い，増幅した DNA の塩基配列をサンガーシーケンシング法により決定する。この方法でスパイク蛋白質のアミノ酸 402〜547 を解読することができる。

(3)変異株に関して次世代シーケンサーにより，全長のゲノム配列を決定する。

(4)解析した変異株情報は，速やかにクリニックの医師に伝える。医師は地域の保健所に連絡し，その情報は厚労省に報告される。また塩基配列をデータベースへ登録し，変異株情報については SNS，プレスリリース，論文などで公開する。

以下のような結果を得た(結果を図に模式的に示す)。

(1)インターパーク倉持呼吸器内科(栃木県宇都宮市，図中 A)において，1 月に採取された 5 検体，3〜4 月にかけて採取された 30 検体の解析を行った。1 月に採取されたもののうち，1 検体，3〜4 月に採取されたもののうち，19 検体が E484K 単独変異をもつことがわかった。これらのうち 3 検体を次世代シーケンサーで全ゲノム解析した結果，R.1 株もしくはその近縁株であることが明らかになった。

(2)レイクタウンたけのこ耳鼻咽喉科(埼玉県越谷市，図中 B)において，3〜4 月にかけて採取された 6 検体の解析を行った。そのうち 3 検体が E484K 変異(R.1 株と考えられる)，1 検体が N501Y 変異(英国型変異株と考えられる)をもつことを明らかにした。

(3)ハレノテラスすこやか内科クリニック(埼玉県さいたま市，図中 C)において，2〜3 月にかけて採取された 11 検体の解析を行った。そのうち 2 検体が E484K 変異(R.1 株と考えられる)をもつことを明らかにした。

(4)たなか循環器内科クリニック(静岡県袋井市，図中 D)において，3 月に採取された 7 検体の解析を行った。7 検体とも従来型の SARS-CoV-2 であった。

結語

ワクチン接種の進捗により，パンデミックの収束が期待できるものの，様々な性質をもつ変異株の出現と蔓延は予断を許さない状況にある。このようなSARS-CoV-2変異株の同定と蔓延状況を検査とゲノム解析により把握し，変異の性質に即して対策を立案することは公衆衛生上の喫緊の課題であると考える。

本研究は，国立遺伝学研究所倫理審査委員会による承認を受けている。

謝辞

本研究は，部分的に「情報・システム研究機構　COVID-19対応研究プロジェクト：次世代シーケンサーを用いた新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染の新規診断法開発」（井ノ上逸朗）に支援された。ネットワーク形成に際して津島豊美氏の助力に感謝する。本研究に対する多くの有志の方の寄附に感謝する。

文献

1—Our World in Data: https://ourworldindata.org/covid-cases
2—P. Zhou et al.: Nature, **579**, 270（2020）
3—R. Lu et al.: Lancet, **395**, 565（2020）
4—S. Isabel et al.: Sci. Rep., **10**, 14031（2020）
5—B. Korber et al.: Cell, **182**, 812（2020）
6—N. G. Davies et al.: Science, **372**, 149（2021）
7—H. Tegally et al.: MedRxiv,（2020）, https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.21.20248640v1
8—F. Naveca et al.:（2021）, https://virological.org/t/phylogenetic-relationship-of-sars-cov-2-sequences-from-amazonas-with-emerging-brazilian-variants-harboring-mutations-e484k-and-n501y-in-the-spike-protein/585
9—W. T. Harvey et al.: Nature Rev. Microbiol.,（2021）, https://doi.org/10.1038/ s41579-021-00573-0
10—S. Cherian et al.: bioRxiv,（2021）, https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.04.22.440932v2