

# 令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

## (健康安全・危機管理対策総合研究事業) 研究

### 「地方衛生研究所における即応体制と相互支援等の確立に対する研究」

#### 分担研究報告書

東京都健康安全研究センターにおけるSARS-CoV-2に関する取り組み

研究分担者	吉村和久	東京都健康安全研究センター	所長
研究協力者	貞升健志	東京都健康安全研究センター	微生物部
	長島真美	同上	
	鈴木 淳	同上	

研究要旨 東京都健康安全研究センターでは2020年1月より新型コロナウイルス検査を開始し、同年8月より全自動化機器を導入した。2021年1月~12月には61,113件の新型コロナウイルス検査を実施し、4,243件が陽性であった。変異株スクリーニング検査としては、2020年12月28日よりリアルタイムPCR法によるN501Y変異株検査を開始し、2021年2月15日からはE484K、4月30日からはL452Rによる変異株スクリーニング検査を開始した。さらに、12月3日からはオミクロン株のスクリーニング検査としてE484A検査を開始し、2022年1月31日からはBA.2スクリーニング検査を開始した。これらの変異株の動向については、本庁の東京iCDCに情報を逐次提供した。また、次世代シーケンサーにより、2021年1月~2021年12月までに約1,500株の新型コロナウイルスゲノムを解析、国際ゲノムデータベースのGISAIDに登録し、同期間に約300株の新型コロナウイルスを分離した。分離株のうち、従来株、アルファ株、デルタ株およびオミクロン株については、電子顕微鏡画像を撮影し、当センターのホームページ上で公開するとともに、市販の簡易抗原検査試薬の検討を行い、検査試薬により若干の感度差はあったものの、変異株の違いによる感度差は認められないことを確認した。

#### A. 研究概要

東京都健康安全研究センター(以下、当センター)では都内保健所から搬入された検体(鼻咽頭拭い液、唾液等)の新型コロナウイルス核酸増幅検査を2020年1月から実施している。さらに、2020年末から変異株スクリーニング検査(アルファ、デルタ、オミクロン株等)、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析およびウイルス分離を実施してきた。これらの結果については、随時、東京iCDCに情報提供するとともに、当センターホームページ上において情報提供を行っている。

#### B. 研究方法

##### 1. 新型コロナウイルス検査

2020年8月1日より、ホロジック社製の全自動化機器を導入し、保健所から搬入された検体の新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)核酸増幅検査を開始した。

##### 2. 変異株スクリーニング検査

SARS-CoV-2の各種変異株を効果的に検出する目的で、リアルタイムPCRによる変異株検査法を構築した。特に、アルファ株(N501Y)、R.1株(E484K)、デルタ株(L452R)およびオミクロン株(BA.1/BA.2:E484A、BA.1:ins214EPE)を検出する変異株スクリーニング検査法を開発し、保健所等の検査陽性例について検査を実施した。

##### 3. 次世代シーケンサーによるゲノム解析

新型コロナウイルス検査陽性で、ウイルス量の多い検体については、次世代シーケンサー(NGS)によるSARS-CoV-2ゲノム解析を行い、国際ゲノムデータベース(GISAID)に登録を行った。

##### 4. SARS-CoV-2の分離

当センターに搬入された検体のうち、ウイルス量の多い検体については、BSL3実験室でVeroE6/TMPRSS2細胞等を用いて、SARS-CoV-2の分離を行った。

##### 5. 簡易抗原検査試薬の検討

各種SARS-CoV-2株(変異株含む)を用いて、市販されている簡易抗原検査試薬の検討を行った。

#### C. 研究結果

##### 1. 新型コロナウイルス検査

2021年1月~12月までに、61,113件の検査を実施し(図1)、4,243件が陽性であった。2020年の当初は、都内の検査検体は全て当センターに搬入されていたが、民間検査所の検査数の増加に伴い、当センターの求められる役割はモニタリングやサーベイランスの意味合いが強くなっていった。

##### 2. 変異株スクリーニング検査

2020年12月28日よりリアルタイムPCR法によるN501Y変異株検査開始し、2021年2月15日からはE484K、4月30日からはL452Rによる変異株スクリーニ

ング検査を開始した(図2)。さらに、12月3日からはオミクロン株のスクリーニング検査としてE484A検査を開始し、2022年1月31日からはBA.2スクリーニング検査を開始した。

2021年2月中旬にはR.1と従来株が都内で多くを占めていたが、3月中旬からアルファ株に置き換わり始め、5月中旬にはほぼ完全に置き換わった。その後、デルタ株が増加し、8月中旬にはほぼ全てが置き換わった。さらに、オミクロン株は12月から増加し始め、2022年2月にはほぼ完全に置き換わった。

なお、開発したそれぞれの変異株スクリーニング検査法については、逐次、国立感染症研究所(感染研)および関東甲信静支部または関西の衛生研究所とプライマーおよびプローブ情報を共有した。特に、デルタ株検出法については、当センターと感染研の合同で構築した公定法である。

### 3. 次世代シーケンサーによるゲノム解析

2021年1月～2021年12月までに約1,500株のSARS-CoV-2ゲノムをGISAIDに登録した。GISAID情報に基づいたOutbreak.infoでの変異株の推移(東京都)は図3に示す通りである。

### 4. 新型コロナウイルスの分離

2021年1月～2021年12月までに約300株の新型コロナウイルスを分離した。分離株のうち、アルファ株、デルタ株およびオミクロン株については、電子顕微鏡により画像を撮影し、当センターのホームページ上で公開した([https://www.tmph.metro.tokyo.lg.jp/lb\\_virus/kansenshou/virus\\_gazou/sars-cov-2/](https://www.tmph.metro.tokyo.lg.jp/lb_virus/kansenshou/virus_gazou/sars-cov-2/))。

また、分与依頼のあった研究機関に分離ウイルスを分与し、分与したウイルスは、変異株の感染性や中和抗体の研究に利用されている。

### 5. 簡易抗原検査試薬の検討

各種分離株(従来株、アルファ株、R.1株、カッパ株、デルタ株)を用いて、市販されている簡易抗原検査試薬の検討を行ったところ、市販検査試薬により若干の感度差はあったものの、各試薬においてウイルス株の違いによる感度差は認められなかった(表1)。

### D. 考察

新型コロナウイルス対策においては、衛生研究所は当初より保健所からの臨床検体の核酸増幅検査を実施してきた。しかしながら、COVID-19患者数の増加による著しい検査件数の増加に伴い、民間検査施設による検査が多くを占めるようになると、当

センターの役割も検査のみから病原体の解析や変異株サーベイランスへと求められる役割が変わってきてきた。

特に、SARS-CoV-2では感染力の強い多くの変異株が短期間に次々と出現したこと、東京という地域特異性もあったことから、国の通知を待たずに、スクリーニング検査の開始を実施せざるを得ない状況にあった。そのため、当センターで構築した検査法が最終的に通知法となったり、他の地衛研で活用されることもあり、健康危機管理時には、検査のみならず、様々な創意工夫を推進すべきものと思われた。

SARS-CoV-2のゲノム解析データは国際的にGISAIDへの登録が推奨されている。地衛研としてのゲノム解析データはできるだけ早く、登録することが国際的な役割ともいえる。また、ゲノム解析のみならず、新たな変異株の特徴の解析には、ウイルス分離も必須となる。分離ウイルスは試薬の検討や病態解析にも必要であり、これらを同時に実施できる衛生研究所としてのレファレンス機能についても、継続して強化していく必要があると思われた。

### E. 結論

東京都における新型コロナウイルス対策として、新型コロナウイルス検査のみならず、地衛研のレファレンス機能としての変異株スクリーニング検査、ゲノム解析やウイルス分離を行った。これらについては、感染研や他の地衛研と情報共有し、東京iCDCへの情報提供や当センターホームページ等を通じて情報を公開した。

### F. 健康危険情報

### G. 研究発表

論文発表

1. Suzuki R, Yamasoba D, Yoshimura K: Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, et al: Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant. Nature. 2022 Feb 1. doi: 10.1038/s41586-022-04462-1. Online ahead of print. PMID: 35104835

2. Saito A, Irie T, Yoshimura K, et al: Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation; Nature. 2021 Nov 25. doi: 10.1038/s41586-021-04266-9.

3. Mlcochova P, Kemp SA, Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, et al: SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. Nature. 2021 Nov;599(7883):114-

119. doi: 10.1038/s41586-021-03944-y.  
Epub 2021 Sep 6. PMID: 34488225

4. Meng B, Abdullahi A, Genotype to Phenotype Japan (GP-Japan) Consortium members et al: Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts tropism and fusogenicity. Nature. 2022 Feb 1. doi: 10.1038/s41586-022-04474-x. Online ahead of print. PMID: 35104837

5. Akiyama Y, Kinoshita N., Sadamasu K., Nagashima M., Yoshida I., Kusaba Y., Suzuki T., Nagashima M., Ishikane M., Takasaki J., Yoshimura K., Ohmagari N.: pilot study of viral load in stools of patients with COVID-19 and diarrhea, Jpn J Infect Dis. 2021 May 31. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.018.

6. 長島真美, 熊谷遼太, 河上麻美代ら、リアルタイム PCR 法を用いた SARS-CoV-2 変異検出法の検討、東京健安研七年报、72, 2021

7. 林 真輝, 山崎貴子, 長島真美ら、都内の新型コロナウイルス施設内感染事例における次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析、東京健安研七年报、72, 2021

8. 浅倉弘幸, 吉田 勲, 熊谷遼太ら、東京都内で分離された新型コロナウイルスの次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析 (2020年6月~2021年5月)、東京健安研七年报、72, 2021

9. 山崎貴子, 河上麻美代, 北村有里恵ら、新型コロナウイルス簡易抗原検査試薬のウイルス分離株を用いた検討、東京健安研七年报、72, 2021

10. 河上麻美代, 熊谷遼太, 北村有里恵ら、東京都衛生検査所精度管理調査における新型コロナウイルス核酸検査の調査 (2020年度)、東京健安研七年报、72, 2021

11. 三宅啓文, 黒木絢士郎, 磯貝まやら、東京都で検出された新型コロナウイルス変異株の分子系統樹解析、東京健安研七年报、72, 2021

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

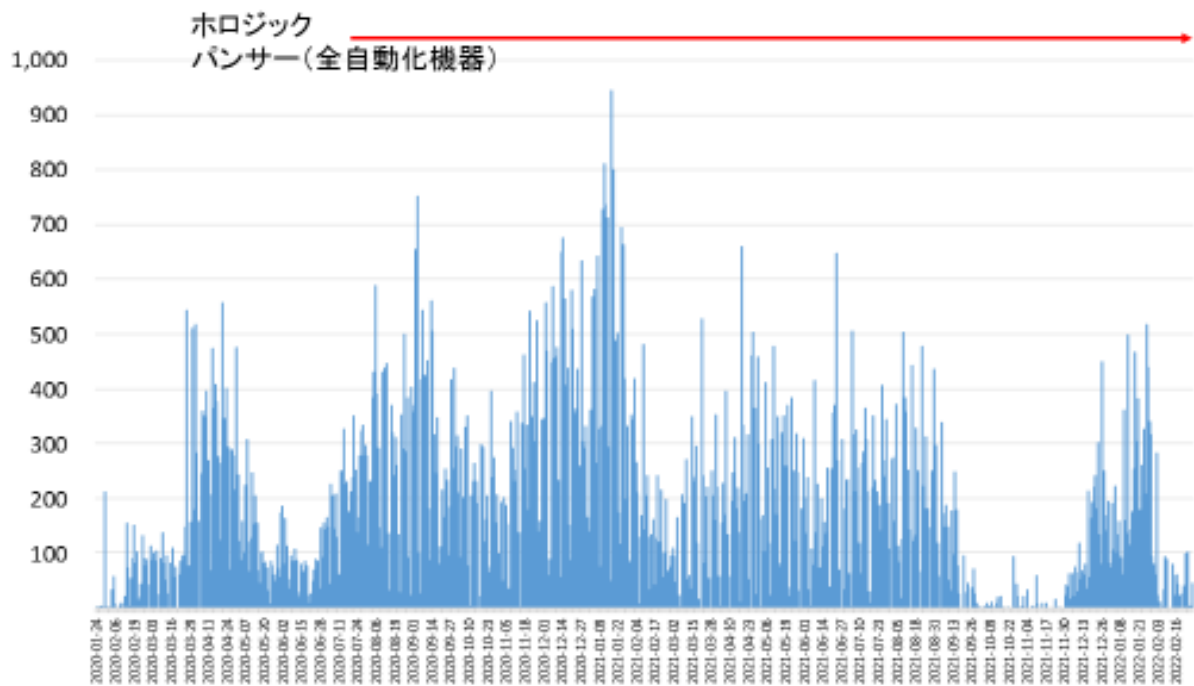


図1 SARS-CoV-2検査数の推移（東京都健康安全研究センター）

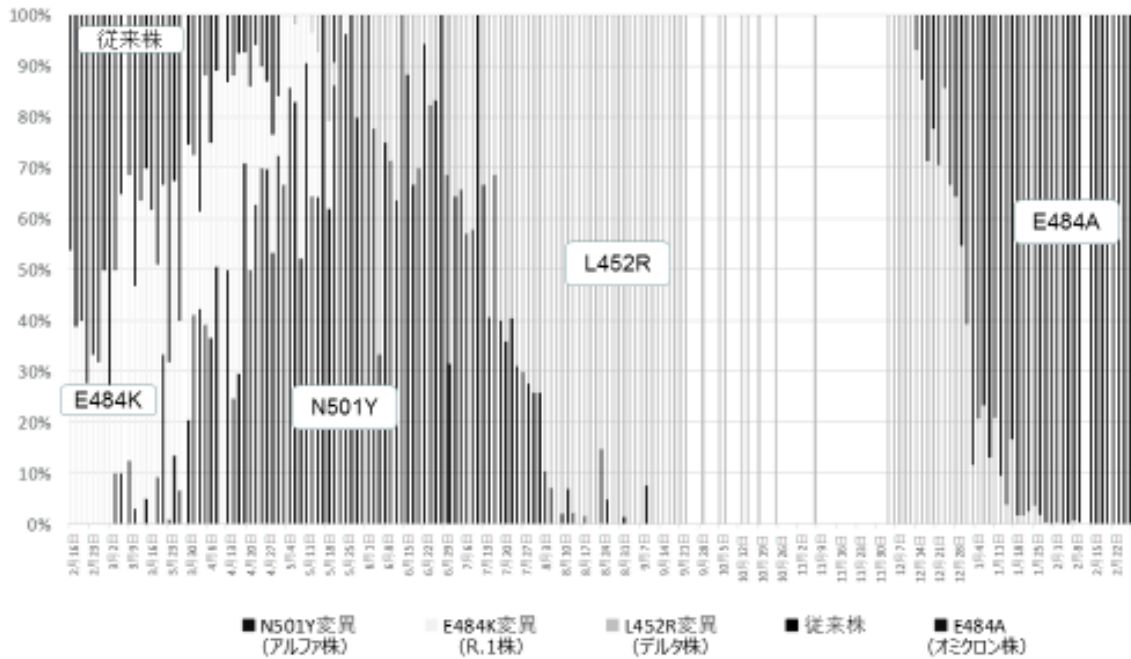


図2 SARS-CoV-2変異株スクリーニング検査  
（東京都健康安全研究センター検査分）

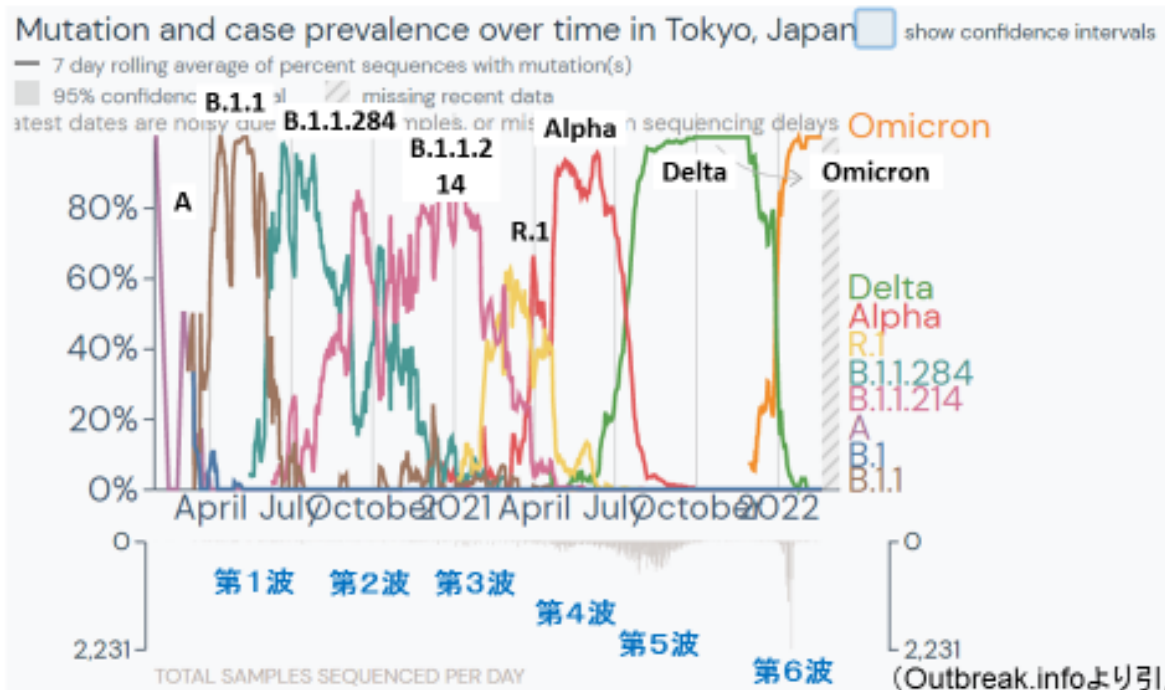


図3 東京都における変異株の推移（全ゲノム解析による）

株名 系統名 (Accession No.)	TKYE641838_2020 B.1.1.214 (LC606020)				TKYT76080_2021 R.1 (LC623948)				TKYT78062_2021 B.1.1.7 (LC606022)				TKYTK1734_2021 B.1.617.2 (LC632066)				TKYTK5356_2021 B.1.617.1 (LC632067)			
	希釈倍率	100	250	500	1,000	100	250	500	1,000	100	250	500	1,000	100	250	500	1,000	100	250	500
試薬A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
試薬B	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	±	-	+	+	±	±	+	+	-	-
試薬C	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	±	-	-	+	-	-	-
試薬D	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	+	+	+	-
試薬E	+	-	-	-	+	-	-	-	+	±	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
試薬F	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
試薬G	+	+	±	-	+	+	±	-	+	+	±	-	+	+	±	-	+	+	-	-
試薬H	+	±	-	-	+	±	±	-	+	-	-	-	+	±	-	-	+	-	-	-
試薬I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
試薬J	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
試薬K	+	-	-	-	+	-	-	-	+	±	-	-	+	±	-	-	+	±	-	-

判定基準 + : テストラインが明瞭に出現 ± : テストラインがわずかに出現 - : テストラインが認められない

表1 SARS-CoV-2 (変異株) を用いた市販新型コロナウイルス簡易抗原試薬の検討