栃木県内で検出された新型コロナウイルスの全ゲノム解析

微生物部
関川麻実　江原栞　齋藤明日美[1]　若林勇輝　赤松玲子　人見美子
（[1]現食肉衛生検査所）

1 はじめに

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）によって引き起こされる感染症で、2019 年 12 月に中国の武漢市で報告されて以来、塩基配列を変異させることで抗原性や病原性を変化させ、感染拡大を繰り返してきた。そのため、変異株の出現状況や流行動向を把握することを目的としてウイルス遺伝子を解析することは、感染拡大防止に必要不可欠であり、当センターでは 2021 年度から SARS-CoV-2 の全ゲノム解析を実施し、変異株の出現を監視している。

2023 年 5 月に COVID-19 が 5 類感染症に移行されてからは、全ゲノム解析を実施する検体数が減少し、遺伝子型推移の解析が十分に実施できず、加えて検体が搬入される地域の偏りも課題となっていたが、今年度より導入された急性呼吸器感染症（ARI）サーベイランスにて搬入された検体を活用することで、全ゲノム解析に係る検体数や地域の偏りにおいて改善が見込まれた。本稿では、栃木県内で検出され、栃木県保健環境センターおよび宇都宮市衛生環境試験所における SARS-CoV-2 陽性検体について、全ゲノム解析を実施し、Clade および Lineage 分類を行い、分子疫学的に考察したので報告する。

2 材料と方法

2.1 対象

2025 年 4 月から 2025 年 12 月までに ARI サーベイランス検体として搬入された 1416 検体を対象とした。このうち、SARS-CoV-2 が陽性となった 215 検体について次世代型シークエンサーによる全ゲノム解析を実施した。全ゲノム解析できた 134 検体について Clade および Lineage を判定し、完全に全ゲノム配列が取得でき、Clade 25B に分類された 42 検体についてはハプロタイプネットワーク解析を実施した。

2.2 全ゲノム解析

咽頭ぬぐい液等の検体から、QIAamp Viral RNA Kits(QIAGEN)を用いて RNA を抽出し、RNA を逆転写反応し、Multiplex PCR によって SARS-CoV-2 の遺伝子を増幅させた。それらの PCR 産物を精製した後、NGS ライブラリとして調整した（フラグメント処理、アダプターライゲーションなど）。ライブラリを精製後、新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル-Qiagen 社 QiaSEQ FX 編および Oxford Nanopore Mk1c & NEB 社 AR および TIC SARS-CoV-2 Companion Kit(ONT)編[1)]に従ってゲノムを解読した。

得られた FASTQ データは、QIAGEN CLC Genomics Workbench（Filgen,Inc.）を用いて、SARS-CoV-2 の塩基配列を構築・決定した。なお、Read Depth や Coverage などを確認し、Quality の低いデータを除外した。

2.3 Lineage 及び Clade の分類

全ゲノム解析できた 134 検体について、Nextclade(version 3.5.0)[2)]の web tool で解析し、Lineage および Clade 分類を行った。

2.4 ハプロタイプネットワーク図の作成

解析するゲノム配列は、MAFFT[3)]でアライメントし、ORF1a から N 遺伝子までの領域（参照株 MN908947:266～29533nt の領域に相当）の塩基配列をトリミングした。MEGA11[4)]で FASTA ファイルを NEXUS ファイルに変換後、PopART[5)]を用いてハプロタイプネットワーク図を作成した。

3 結果および考察

3.1 栃木県内の COVID-19 発生状況および全ゲノム解析実施状況

2023 年第 19 週から 2026 年第 4 週までの COVID-19 の定点医療機関あたりの患者報告数を図 1 に示した。夏季と冬季に流行のピークがあり、2025 年夏季は第 29 週から第 41 週（7 月～9 月）にかけて報告数が増加した。

2024 年 4 月から 2025 年 12 月までに全ゲノム解析を実施した検体数の推移を図 2 に示した。報告数が増加した 2025 年 7 月～9 月は毎月 20 検体以上を解析することができた。これら全ゲノム解析検体の保健所別割合を図 3 に示した。定点医療機関数が異なることにより偏りはあるものの、すべての地域から検体を収集することができた。

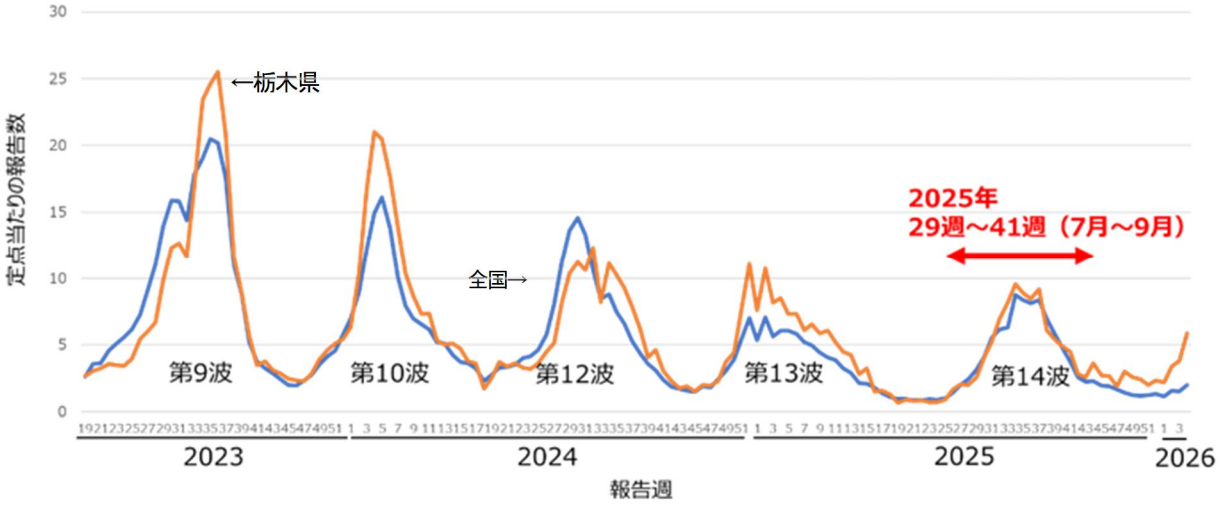


図 1　定点医療機関あたりの COVID-19 患者報告数

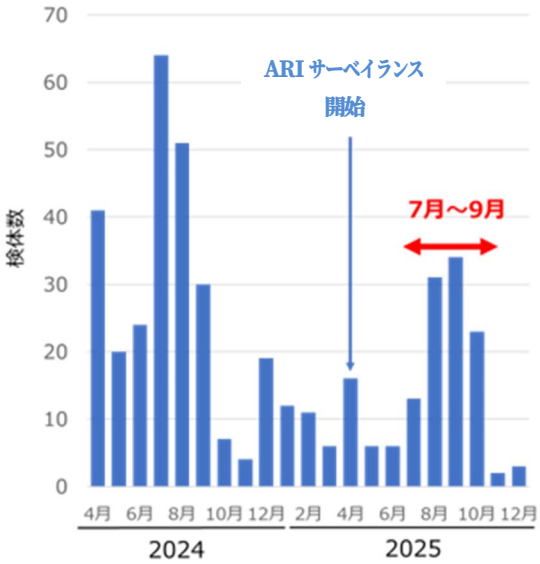


図 2　全ゲノム解析を行った検体数の推移

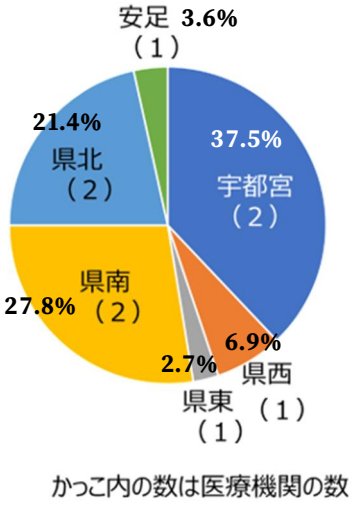


図 3　全ゲノム解析を行った検体の保健所別割合

3.2 Clade および Lineage の推移

解析対象株の Clade および Lineage の推移について、図 4 に示した。

2025 年 1 月からは Clade 24F（Lineage XEC 系統）が多く検出された。6 月以降 Clade 25B（Lineage NB.1.8.1 系統）が急激に増加し、それまで主流であった Clade 24F から置き換わった。7 月以降は、Clade 25B がほぼ全てを占めるようになった。この Clade 24F から Clade 25B へ移行した時期と、患者報告数が増加した時期が一致していることから、2025 年夏季の流行は、Clade 25B の感染拡大が関与した可能性が示唆された。

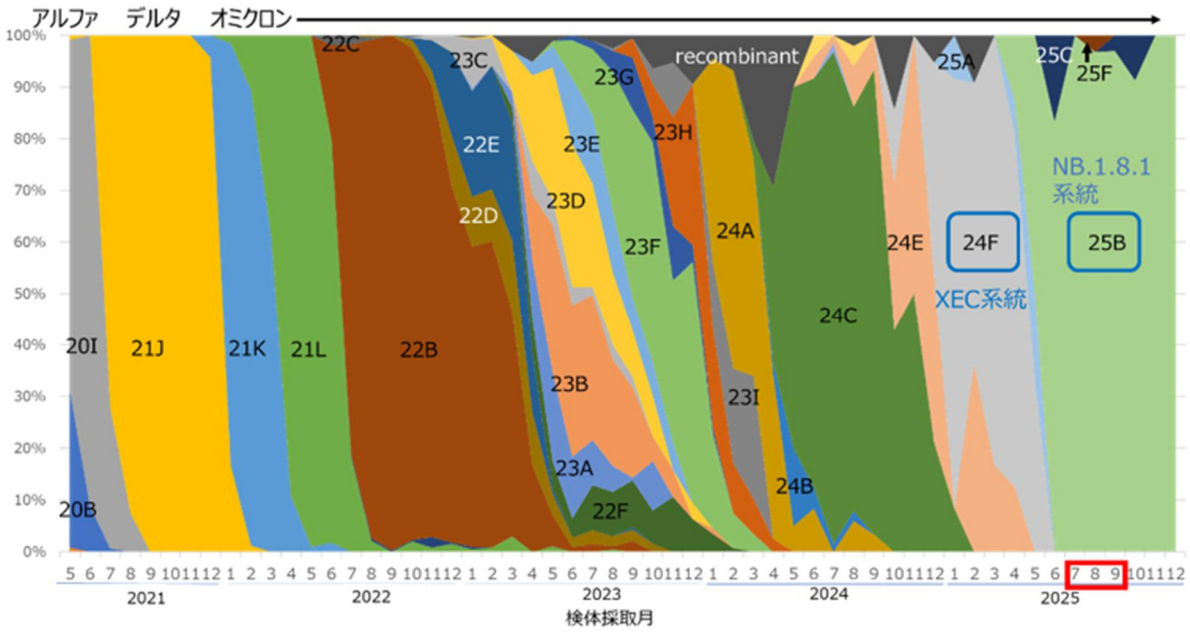


図 4　SARS-CoV-2 全ゲノム解析における Clade 分類割合の月別推移

3.3 ハプロタイプネットワーク図による分子疫学解析

2025 年 4 月から 8 月までに検出された Clade 25B（42 検体）についてハプロタイプネットワーク解析を行い、その結果を図 5 に示した。宇都宮市の検体を基点として各地域に放射状に分布していた。このことから、共通祖先を有するウイルスが、短期間の間に変異を蓄積しながら伝播し、急速に感染拡大したことが推察された。一方、図右下には複雑なネットワーク構造が認められた。これはウイルスの変異パターンが複雑であり、解析において変異方向が定まらなかったことなどが考えられた。

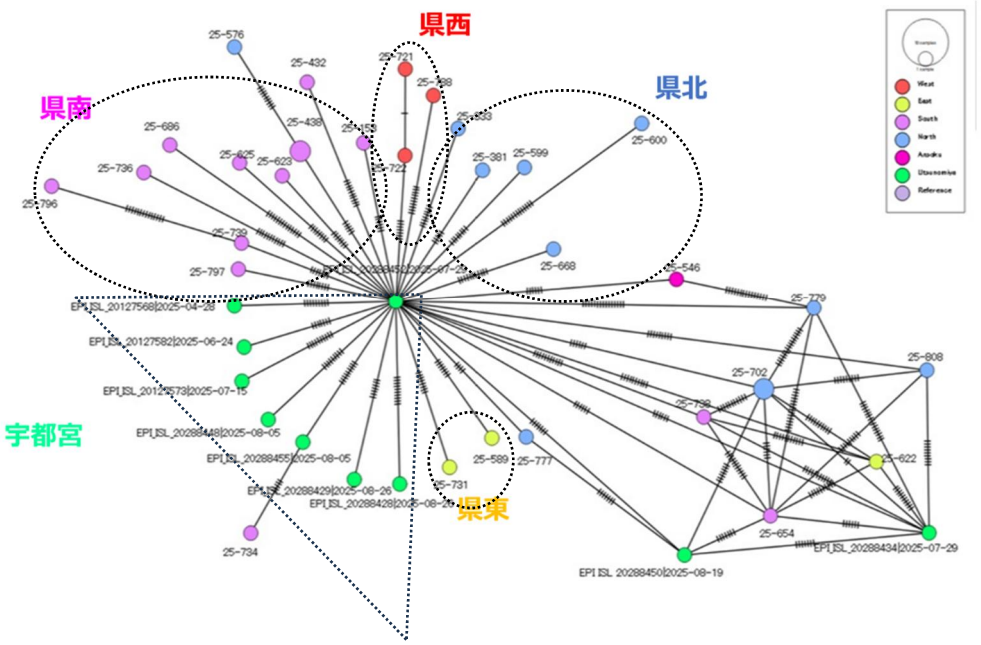


図 5　栃木県内における Clade 25B のハプロタイプネットワーク図

4 まとめ

COVID-19 の 5 類感染症移行に伴い搬入される検体が減少し、十分なサーベイランスが実施できない状況であったが、2025 年度より開始された急性呼吸器感染症（ARI）サーベイランスで搬入された検体の活用により、全ゲノム解析に係る検体数や地域の偏りにおいて大幅な改善が認められた。

SARS-CoV-2 の全ゲノム解析による Clade 分類の推移について、栃木県内で確認された 2025 年 7 月から 9 月にかけての COVID-19 の流行は、Clade 25B の感染拡大によるものであると考えられた。新たな変異株の出現が流行を引き起こす要因となるため、栃木県内で採取され、SARS-CoV-2 陽性となった検体については、積極的に全ゲノム解析し、常に変異株の発生動向を把握しておくことが極めて重要である。今後も引き続きゲノムサーベイランスを実施し、データを蓄積して、栃木県内における新規変異株の出現の監視や、感染経路の追跡等に活用していきたい。

5 謝辞

SARS-CoV-2 のゲノム解析を実施するにあたり、多大な御協力、御助言、検体収集などに御尽力を頂いた国立感染症研究所、宇都宮市衛生環境試験所、栃木県感染症対策課（現感染症・疾病対策課）、栃木県内の各健康福祉センター、医療機関の皆様に心より深謝いたします。

6 参考文献

1) 新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編、Oxford Nanopore Mk1c&NEB 社 ARTIC SARS-CoV-2 Companion Kit(ONT)編 (国立感染症研究所病原体検出マニュアル).
2) Nextclade (https://clades.nextstrain.org/).
3) Katoh K *et al.*, MAFFT multiple sequence alignment software version 11: improvements in performance and usability, Mol Biol Evol, 30, 772-780, 2013.
4) Tamura K *et al.*, MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology and Evolution, 38, 3022-3027, 2021.
5) Leigh, JW *et al.*, PopART: Full-feature software for haplotype network construction, Methods Ecol Evol, 6, 1110–1116, 2015