

東京都における新型コロナウイルスの全ゲノム解析（2023年6月～2024年5月）

根岸 あかね^a, 伊藤 仁^a, 九澤 香織^a, 岡田 若葉^a, 糟谷 文^b, 北村 有里恵^a, 林 志直^a, 原田 幸子^a,
熊谷 遼太^a, 天野 有紗^a, 黒木 絢士郎^a, 横田 翔太^a, 磯貝 まや^a, 浅倉 弘幸^a, 矢尾板 優^a,
小泉 美優^a, 岩崎 直哉^a, 赤瀬 悟^a, 高橋 久美子^a, 三宅 啓文^b, 長島 真美^a, 貞升 健志^c

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は2019年12月に中国で初めて確認され、これまでに数多くの新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）変異株が世界中で報告された。2023年の第9波以降に流行したオミクロン株は、BA.2系統内の組み換えにより生じたXBB系統とBA.2系統から派生したBA.2.86系統に大きく分類され、各系統はさらに多くの亜系統に細分化している。東京都では変異株サーベイランスを目的に、SARS-CoV-2の全ゲノム解析を実施してきた。今回、2023年6月1日から2024年5月31日の間に次世代シーケンサー（NGS）により2,733件の解析を実施した結果、2023年11月まではXBB系統のEG.5.1系統が主流であり、2023年12月から2024年5月まではBA.2.86系統のJN.1の亜系統が主流となっていた。都内で検出されたBA.2.86系統の系統樹解析では、JN.1, JN.1.1, JN.1.4のクレードと、KP.2, KP.3およびKP.3.3のクレードの大きく2つに分けることができ、それぞれ海外においても類似株が存在した。以上の結果より、全ゲノム解析で亜系統の分類を時系列的に集計することは、COVID-19の流行状況の詳細な把握に有用と考えられた。

キーワード： COVID-19, SARS-CoV-2, 次世代シーケンサー（NGS）, 亜系統, 系統樹解析

はじめに

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、中国で2019年12月に初めて確認され、瞬く間に世界中に広がった¹⁾。2020年1月に国内で最初の患者が確認されて以降、2024年5月までに10回の感染の波を繰り返して流行が継続している。新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は、これまで数多くの変異株が世界中で報告されてきた²⁾。国内では、2021年4月頃の第4波ではアルファ株が流行し、同年8月頃の第5波ではデルタ株が流行した³⁾。さらに、2022年1月から始まった第6波以降はオミクロン株が流行している。

2023年の第9波以降に流行したオミクロン株は、BA.2系統内の組み換えにより生じたXBB系統とBA.2系統から派生したBA.2.86系統に大きく分類され⁴⁾、さらに各系統は多くの亜系統や子孫系統に細かく分類されている。また、世界保健機構（WHO）は、SARS-CoV-2の病原性や感染性等の観点から危険性についての分類を行っており、2024年6月28日時点で注目すべき変異株（Variants Of Interest : VOI）として、BA.2.86系統とJN.1系統を指定している⁵⁾。さらに、監視下の変異株（Variants Under Monitoring : VUM）として、JN.1.7, KP.2, KP.3, JN.1.18, LB.1の5系統を指定している⁶⁾。

VUMに含まれる5系統は孫系統まで指定されているが、孫系統まで細かく分類し監視するためには次世代シーケンサー（NGS）による全ゲノム解析が必要である。また、全ゲノム解析は変異株の監視だけでなく、得られた遺伝子情報を国際的なデータベースであるGlobal Initiative on

Sharing Avian Influenza Data（GISAID）に登録することにより世界中で遺伝子情報が共有され、遺伝子検査法の設計⁶⁾や系統樹解析⁷⁾等でも国際的に活用されている。

東京都では、都内でSARS-CoV-2が陽性となった検体のNGSによる全ゲノム解析を、健康安全研究センターおよび民間検査機関（委託）において実施している。今回は2023年6月から2024年5月に行った全ゲノム解析の結果の集計と系統樹解析を行い、都内のSARS-CoV-2変異株による流行状況を詳細に解析したので報告する。

実験方法

1. 材料

2023年6月1日から2024年5月31日の間に、当センターに搬入されSARS-CoV-2陽性と判断された検体のうち、リアルタイムPCR検査によるCt値が30未満の検体から抽出したRNA71件をNGS解析の試料とした。また民間検査機関において、同期間に委託によりNGS解析を実施し、当センターにデータ（FASTAファイルまたはFASTQファイル）として送られた2,662件と合わせて、2,733件を集計の対象とした（2024年6月27日現在）。

2. NGS解析

試料の核酸抽出物からNGSのライブラリーを作製し、全ゲノム配列を決定した。ライブラリー調製はItokawaらの手法⁷⁾に従って行った。すなわち、試料中のSARS-CoV-2の全長RNAを98領域⁸⁾（各約400 bp長）のマルチプレック

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科

^c 東京都健康安全研究センター微生物部

スPCR産物として増幅したものを、AMPure XP（ベックマン・コールター）を用いて精製し、QIAseq FX DNA Library Kit（QIAGEN）を用いてライブラリーを作製した。NGS装置としてMiSeq® システム（Illumina）またはiSeq™ 100システム（Illumina）を使用して全ゲノム解析を行った。得られたデータはUbuntu（Canonical Ltd.）上でPythonプログラム⁸⁾を使用して各リード末端に存在するプライマー配列部分を除去し、CLC Genomics Workbench（CLC bio）を用いて参照株へのマッピングによりコンテイングを作成し、バリエーション検出を行った。参照株にはWuhan-Hu-1（NCBI reference sequence: NC_045512.2）を用いた。得られた配列のうち、BA.2.86系統の8系統（BA.2.86, BA.2.86.1, JN.1, JN.1.1, JN.1.4, KP.2, KP.3, KP.3.3）を使用し、MEGA-Xを用いた近隣結合法（Neighbor-Joining, NJ）⁹⁾による系統樹解析を行った。

3. データ解析

FASTA 形式によるファイルを用いて、Nextclade（<https://clades.nextstrain.org>）で変異解析と配列のクオリティを確認した。クオリティの低いデータを除外したのち、配列を GISAID（<https://www.gisaid.org>）に登録し、各配列に固有の番号である Accession ID の付与を受けた。登録後、GISAID のサーチ機能を使用し各亜系統の集計をした。

結果と考察

1. 各変異株の月別検出数

全2,733件のGISAIDの亜系統分類による集計結果を表に示す（表1）。各月の検出数は最少が2023年11月の73件、最多が2023年6月の431件であり、月により検出数にばらつきが見られた。検出数が多い月（2023年6～9月、2024年1～2月）は、それぞれ第9波と第10波の患者数が多い月と重なることから¹⁰⁾、検出数の増加は患者数の増加によるものである。また、東京都のGISAID登録数は、国内の登録総数の約5%を占めていた。

検出された変異株を大きく5系統〔BA.2, BA.2.86, BA.5, XBB, recombinant（XBBを除く）〕に分類し、月別に集計した（図1）。XBB系統は2023年3月に主流株となり¹¹⁾、その後11月まで9か月間にわたり主流株となった。2023年12月よりBA.2.86系統がXBB系統を上回り、2024年5月まで6か月間にわたり主流株となっている。

2. XBB系統の解析結果

XBB系統は、BJ.1系統（BA.2.10系統の亜系統）とBM.1.1.1系統（BA.2.75.3系統の亜系統）の組換え体であり、2022年8月にインドで初めて報告された¹²⁾。都内においては2022年9月に検出された後¹¹⁾、徐々に検出数が増加し、2023年3月から11月まで主流株となった。

XBB系統は1,803件検出され、41種類の亜系統に大きく分類された。最も多く検出されたのはEG.5.1系統（EG.5.1.1系統やHK系統を含む）、XBB.1.16系統、次の

でXBB.1.5系統であった。2023年5月¹¹⁾～7月は、XBB.1.16系統が主流となった（図2）。XBB.1.9.2系統から派生したEG.5.1系統とEG.5.1.1系統が7月より増加し始め、7月～10月まで主流であった。その後EG.5.1.1系統から派生したHK系統（特にHK.3系統）が10月より増加し始め、2023年11月～2024年3月まで主流となった。2024年4月以降、XBB系統は検出されなくなった。

EG.5系統は、2023年8月9日にWHOによりVOIに指定されたことから⁵⁾、世界的に流行していた系統が都内でも流行していたことがわかった。都内では第9波は、2023年第35週（8月下旬から9月初め）に定点医療機関あたりの患者報告数が17.01人でピークを迎えた¹³⁾。このことから、この時期に最も多く検出されていたEG.5.1系統およびEG.5.1.1系統が、第9波の主な起因ウイルスと考えられた。

3. BA.2.86系統の解析結果

BA.2.86系統は、過去に報告されたBA.2系統からスパイクタンパク質に30以上のアミノ酸変異を有するBA.2系統の亜系統で、2023年7月にイスラエルとデンマークで報告された¹⁴⁾。さらに、BA.2.86系統からスパイクタンパク質にL455S変異を獲得した亜系統であるJN.1系統が10月に欧州で報告された¹⁴⁾。WHOは、2023年8月17日にBA.2.86系統を、2023年12月18日にJN.1系統をVOIに指定した⁵⁾。

BA.2.86系統は768件検出され、51種類の亜系統に大きく分類された。最も多く検出されたのはJN.1系統、次いでJN.1.4系統およびJN.1.11系統（KP系統）であった。また、VUM に指定されている5系統の検出状況は、JN.1.7系統が22件、KP.2系統が20件、KP.3系統が91件、JN.1.18系統が14件、LB.1系統が1件であった。

BA.2.86系統は、2023年8月に都内で初めてGISAIDに登録され（EPI_ISL_18233521）、これが国内においても初めてGISAIDに登録された検体であった。その後、JN.1系統が11月に都内で初めて検出された後に増加していき、2024年2月まで流行の主流となった（図3）。KP系統は2024年2月に都内で初めて検出された後、4月と5月は特にKP.3系統が主流となっていた（表1）。

BA.2.86系統で検出数が多かった6系統（JN.1, JN.1.1, JN.1.4, KP.2, KP.3, KP.3.3）の都内検出株と海外検出株を用いて、系統樹解析を行った。その結果、各系統において海外検出株が都内検出株と同じクラスターに属し、海外株との関連性が示唆された（図4）。系統樹は、JN.1, JN.1.1, JN.1.4のクレードと、KP.2, KP.3およびKP.3.3のクレードの大きく2つに分かれた。また、KP.3系統とKP.3.3系統は系統樹上では同じクレードに属した。KP.3.3系統は、都内では4月に2件検出された後、5月に69件と急増している系統である。KP.3.3系統のGISAID登録数の55%が日本の登録株であり、GISAIDに初めて登録された株（EPI_ISL_19214713）も日本の登録株であることから、KP.3系統が国内で変異した結果、感染を急拡大さ

せた可能性が高いと考えられた。

4. BA.2系統, BA.5系統, recombinantの解析結果

BA.2.86系統を除くBA.2系統は, 2022年4～6月に主流であった^{15), 11)}。2022年8月以降はBA.2.75系統が断続的に検出されていたが, 2023年9月を最後に都内では検出されなくなった。BA.5系統は, 2022年7月～2023年2月まで主流株であったが¹¹⁾, その後検出数は激減し2023年9月を最後に都内では検出されなくなった。

XBB系統を除くrecombinant (組み換え体) は, 8系統94件が検出された。そのうちXDQ系統が61件で64.9%を占めていた。XDQ系統は, BA.2.86.1系統とFL.15.1.1系統 (XBB.1.9.1の亜系統) の組み換え体で, GISAIDに初めて登録されたのは2023年11月のイギリス株である。都内では

2024年1月に初めて検出され, その後3月～5月にかけて増加傾向にあり, BA.2.86系統に次ぐ主流株となっている (表1)。XDQ系統は現在, XDQ, XDQ.1, XDQ.1.1, XDQ.2, XDQ.3の5種類の系統がGISAIDに登録されている。都内では, XDQが10件, XDQ.1が47件, XDQ.1.1が4件検出された。GISAIDに登録されているXDQの全系統のうち, 日本の登録株が8割近くを占めていることから, XDQ系統は国内で変異を続けながら流行している可能性がある。

表 1. 東京都内で検出された各変異株の月別検出数 (2023 年 6 月～2024 年 5 月)

系統	亜系統・孫系統	2023年							2024年					小計
		6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	
BA.2	BA.2.3.20 (FV.1)	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	BA.2.75	22	12	12	8	0	0	0	0	0	0	0	0	54
	JN.1 (BA.2.86.1系統)	0	0	0	0	0	2	30	77	71	29	9	2	220
	JN.1.1	0	0	0	0	1	3	14	25	9	1	1	3	57
	JN.1.4	0	0	0	0	0	1	14	48	40	17	4	0	124
	JN.1.7	0	0	0	0	0	0	1	1	9	7	2	2	22
	JN.1.11.1系統 (KP.1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	3	11
	JN.1.11.1系統 (KP.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	7	8	20
	JN.1.11.1系統 (KP.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14	75	91
	JN.1.11.1系統 (KP.4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	JN.1.11.1系統 (KP.5)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	JN.1.18	0	0	0	0	0	0	0	3	5	4	2	0	14
	JN.1系統その他	0	0	0	0	0	3	10	36	27	20	22	8	126
	JN系統その他	0	0	1	4	0	1	13	17	18	3	0	0	57
	BA.2.86その他	0	0	0	1	1	2	6	7	3	4	0	0	24
BA.5	CK, BQ, FQ等	3	4	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	11
XBB	XBB.1.5	59	34	36	52	23	9	6	6	4	0	0	0	229
	XBB.1.9.1 (FL)	63	37	27	15	10	0	0	1	1	0	0	0	154
	XBB.1.9.2	3	5	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	18
	EG.5.1 (XBB.1.9.2.5.1)	12	28	68	50	19	2	3	1	0	0	0	0	183
	EG.5.1.1	6	38	62	58	37	8	8	9	0	0	0	0	226
	EG.5.1.1 (HK.1)	0	0	1	0	0	0	1	2	2	1	0	0	7
	EG.5.1.1 (HK.2)	0	0	0	0	0	1	2	5	0	0	0	0	8
	EG.5.1.1 (HK.3)	0	0	2	28	37	29	34	30	12	1	0	0	173
	EG.5.1.1 (HKその他)	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	6
	EG系統その他	32	33	21	38	22	9	21	15	4	1	0	0	196
	XBB.1.16	128	66	51	30	7	2	2	1	0	0	0	0	287
	XBB.2.3	63	50	32	24	3	1	1	1	0	0	0	0	175
	XBBその他	34	31	37	29	10	0	0	0	0	0	0	0	141
recombinant	XBC	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	5
	XBL	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	XCF	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	XDD	0	0	0	0	0	0	1	3	3	1	0	0	8
	XDK	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
	XDQ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	22	25	13	61
	XDS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	2	6
	XDV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
都内合計		431	342	358	347	178	73	167	289	211	124	93	120	2,733
国内登録数		5,881	8,264	9,748	7,645	3,383	2,092	2,831	4,795	3,743	2,758	1,398	1,120	53,658

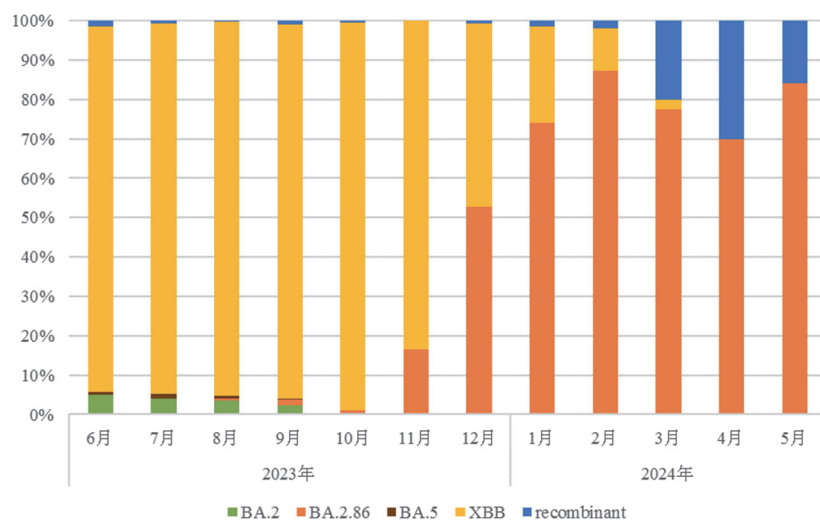


図 1. 主な変異株 5 系統 (BA.2, BA.2.86, BA.5, XBB, recombinant) の月別検出割合 (東京都: 2023 年 6 月～2024 年 5 月)

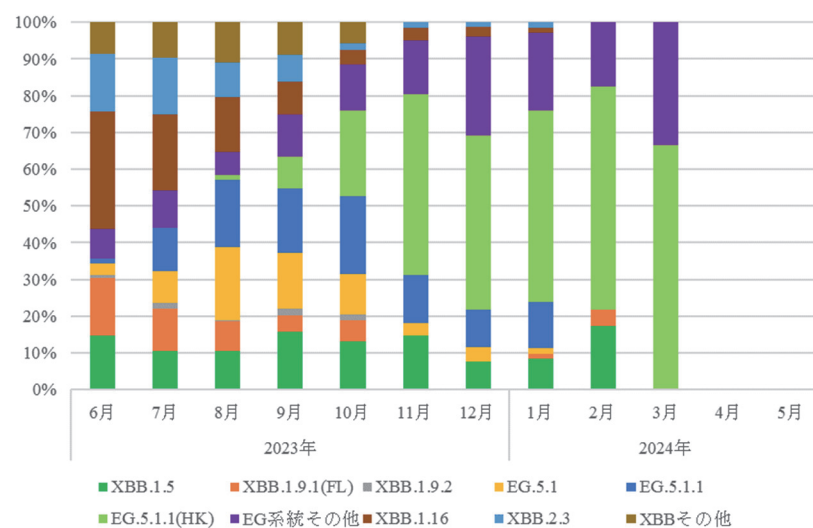


図 2. XBB 系統の月別検出割合 (東京都: 2023 年 6 月～2024 年 5 月)

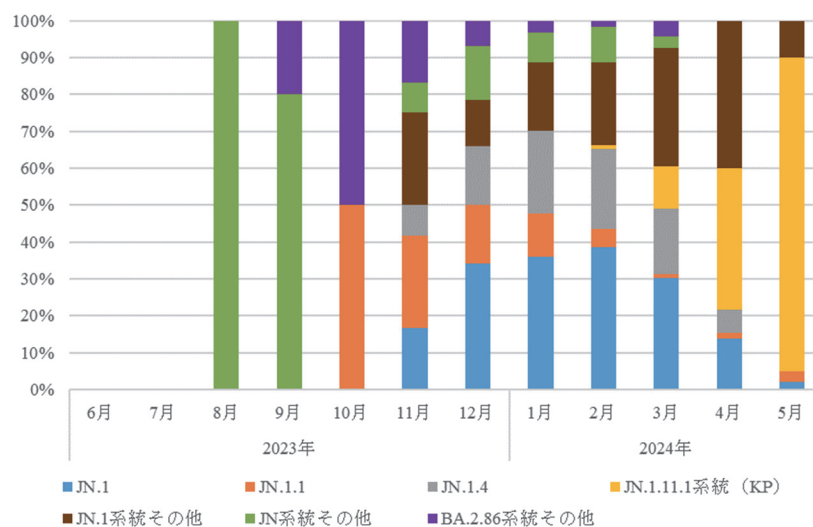


図 3. BA.2.86 系統の月別検出割合 (東京都: 2023 年 6 月～2024 年 5 月)

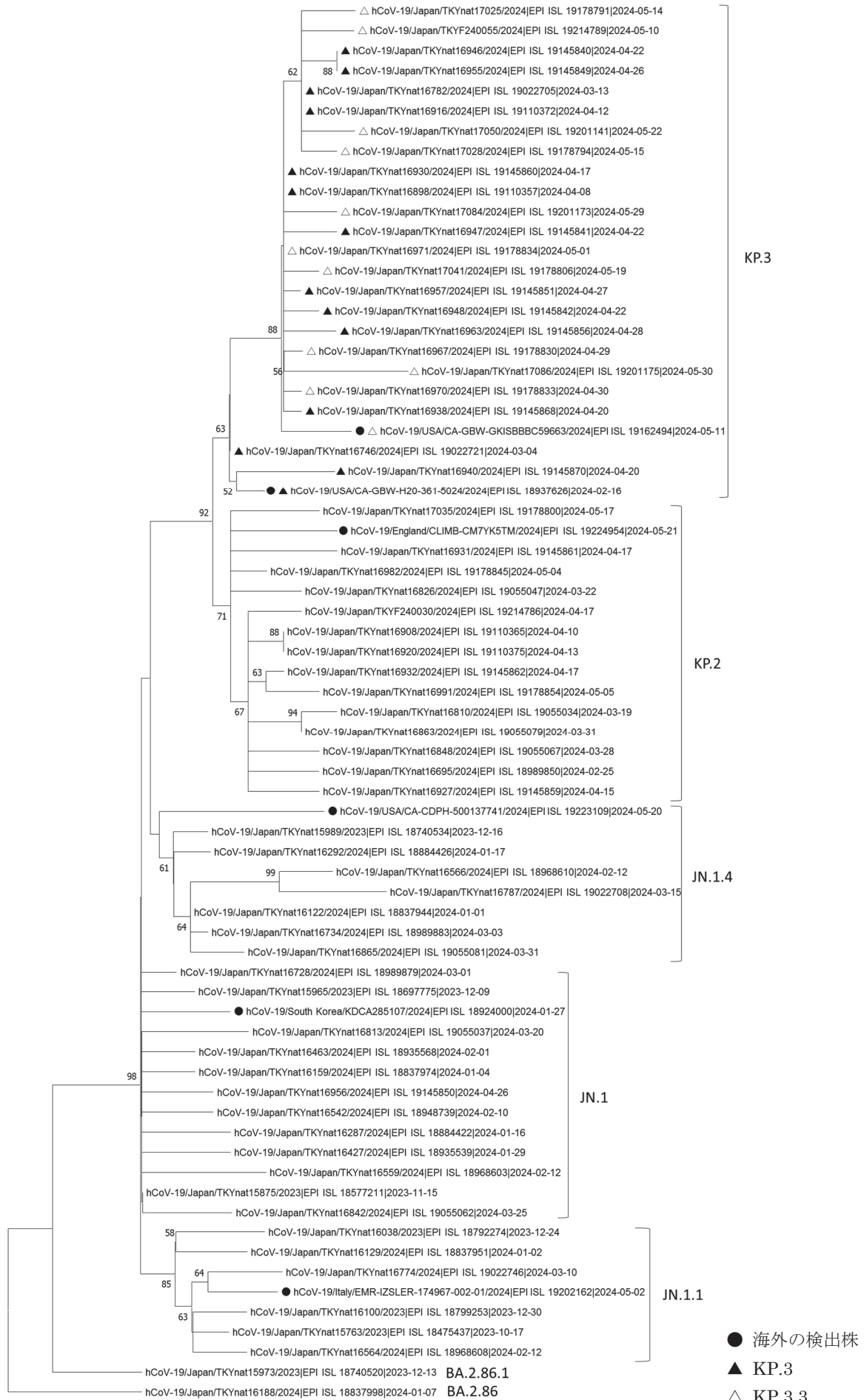


図 4. 東京都内で検出された BA.2.86 系統の遺伝子系統樹

ま と め

2023年6月1日から2024年5月31日の間に、当センターおよび民間検査機関において都内のCOVID-19陽性検体2,733件のNGS解析を実施し、GISAIDへ登録した。その結果を集計したところ、2023年11月まではXBB系統が主流であり、2023年12月から2024年5月まではBA.2.86系統が主流となっていた。また、recombinantのXDQ系統が2024年3月～5月にかけて増加傾向にあった。亜系統を集計すると、XBB系統はEG.5.1系統の検出数が最も多く、BA.2.86系統はJN.1系統が最も多く検出された。BA.2.86系統の系統樹解析では、JN.1, JN.1.1, JN.1.4のクレードと、KP.2, KP.3およびKP.3.3のクレードの大きく2つに分かれた。今後も、SARS-CoV-2の新たな変異株や亜系統の出現が懸念されるため、引き続きNGS解析を行い変異株の動向をモニタリングし、都内のCOVID-19流行状況を詳細に把握することが重要と考えられた。

謝 辞

海外株の代表として系統樹解析に使用させて頂いたデータ (hCoV-19/USA/CA-GBW-GKISBBBC59663/2024, hCoV-19/USA/CA-GBW-H20-361-5024/2024, hCoV-19/England/CLIMB-CM7YK5TM/2024, hCoV-19/USA/CA-CDPH-500137741/2024, hCoV-19/South Korea/KDCA285107/2024, hCoV-19/Italy/EMR-IZSLER-174967-002-01/2024) を登録された Rothstein, Andrew 氏 (Ginkgo Bioworks Concentric), Lackenby, Angie 氏 (UK Health Security Agency (UKHSA)), Doughty, Emma 氏 (California Department of Public Health), Kim, Jun-Sub 氏 (Division of Emerging Infectious Diseases, Bureau of Infectious Diseases Diagnosis Control, Korea Disease Control and Prevention Agency), Scaltriti, Erika 氏 (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), Risk Analysis and Genomic Epidemiology Unit) にこの場をお借りして深謝いたします。

文 献

- 1) Wu, F., Zhao, S., Yu, B., *et al.*: *Nature*, **579**, 265–269, 2020.
- 2) Abbas, K., Taimoor, K., Shughla, A., *et al.*: *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **143**, 112176, 2021
- 3) 三宅啓文, 黒木絢士郎, 磯貝まや, 他: 東京健安研七
年報, **72**, 93–99, 2021.

- 4) Cov-lineages: lineagelist
https://cov-lineages.org/lineage_list.html
(2024年7月5日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 5) WHO Tracking SARS-CoV-2 variants.
<https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
(2024年7月5日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 6) Peñarrubia, L., Ruiz, M., Porco, R., *et al.*: *Int. J. Infect. Dis.*, **97**, 225–229, 2020.
- 7) Itokawa, K., Sekizuka, T., Hashino, M., *et al.*: nCoV-2019 sequencing protocol for illumina V.5, 2020.
<https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-for-illumina-eq2ly398mgx9/v5>
(2024年7月5日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) Itokawa, K.: Alternative primers for the ARTIC Network's nCov2019 multiplex PCR. 2022.
https://github.com/nasasaki/Alt_nCov2019_primers
(2024年7月5日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 9) Kumar, S., Stecher, G., Michael, L., *et al.*: *Mol Biol Evol.*, **35**, 1547–1549, 2018
- 10) 東京都感染症情報センター: WEB感染症発生動向調査定点報告疾病 週報告分 推移グラフ
<https://survey.tmph.metro.tokyo.lg.jp/epidinfo/weeklychart.do>
(2024年7月5日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 11) 根岸あかね, 三宅啓文, 原田幸子, 他: 東京健安研七
年報, **74**, 99–106, 2023.
- 12) 国立感染症研究所: 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の変異株について (第27報)
- 13) 東京都感染症情報センター: 東京都感染症発生動向調査2023年第35週
- 14) 国立感染症研究所: 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の変異株 JN.1系統について
- 15) 根岸あかね, 林 真輝, 山崎貴子, 他: 東京健安研七
年報, **73**, 115–121, 2022.

Whole-Genome Sequencing Analysis of SARS-CoV-2 in Tokyo (June 2023–May 2024)

Akane NEGISHI^a, Hitoshi ITO^a, Kaori KUZAWA^a, Wakaba OKADA^a, Fumi KASUYA^b, Yurie KITAMURA^a, Yukinao HAYASHI^a, Sachiko HARADA^a, Ryota KUMAGAI^a, Arisa AMANO^a, Kenshiro KUROKI^a, Shota YOKOTA^a, Maya ISOGAI^a, Hiroyuki ASAKURA^a, Yuu YAOITA^a, Miyu KOIZUMI^a, Naoya IWASAKI^a, Satoru AKASE^a, Kumiko TAKAHASHI^a, Hirofumi MIYAKE^b, Mami NAGASHIMA^a, and Kenji SADAMASU^c

Many variants of the coronavirus disease 2019 (COVID-19), which first occurred in China in December 2019, have been reported worldwide. The Omicron strains that have been prevalent since the 9th wave in 2023 are broadly classified into the XBB lineage, which arose from the recombination within the BA.2 lineage, and the BA.2.86 lineage, which mutated from the BA.2 lineage, with each variant having been further classified into several sublineages. To investigate and classify the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) sublineages in Tokyo, whole-genome analysis via next-generation sequencing (NGS) has been performed. In this study, 2,733 SARS-CoV-2 genome data were analyzed between June 1, 2023, and May 31, 2024, subsequently aggregating the results. From March 2023 to November 2023, EG.5.1 of the XBB strain was dominant. From December 2023 to May 2024, JN.1 of the BA.2.86 strains was dominant. The BA.2.86 strain detected in Tokyo was classified into JN.1, JN.1.1, JN.1.4, KP.2, KP.3, and KP.3.3 lineages, which are similar to overseas variants. Based on these results, the surveillance in sublineage classification using next-generation sequencer analysis is believed to be useful for understanding the COVID-19 epidemic situation in detail.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, next-generation sequencing (NGS), sublineage, phylogenetic tree analysis

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan