

ノート

## 三重県におけるアミノ酸変異(N501Y, L452R)を有する新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の経時的検出状況とその他のアミノ酸変異 (E484K, F490S, L452Q) の動向

### Detection of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) with Amino Acid Mutations (N501Y and L452R) and trends in other Amino Acid Mutations (E484K, F490S, L452Q) in Mie Prefecture, Japan

矢野拓弥, 永井佑樹, 楠原 一, 小林章人, 北浦伸浩, 中井康博

Takuya YANO, Yuhki NAGAI, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI,  
Nobuhiro KITAURA and Yasuhiro NAKAI

キーワード：新型コロナウイルス, SARS-CoV-2, Spike 蛋白質, アミノ酸変異, N501Y, L452R

2021年1月～2021年10月に本県で検出されたSARS-Cov-2陽性者のSpike蛋白質におけるN501Y, L452R, E484K, L452Q, F490S変異の有無について調査した。2021年1～5月までの間に E484Kの変異を有するR.1系統の特徴を有するウイルスが少数ながら確認された。N501Y変異を有するSARS-Cov-2は、全国の流行状況と同様に、本県の各地域においても2021年3月中旬から4月を境に、流行状態へとシフトしていた。さらには2021年7月中旬を境に県内全域でN501Y変異ウイルスからL452R変異ウイルスへと流行ウイルスに変遷がみられた。次期流行ウイルスの候補と懸念されているラムダ株の動向把握では、2021年6～10月末までF490SおよびL452Q変異を有するウイルスは確認されなかった。

#### はじめに

2019年12月以降に中国湖北省武漢市で Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) が感染拡大し、その後、日本国内においても患者が発生した<sup>1-2)</sup>。

三重県内においては2020年1月下旬に、武漢市に滞在歴のあった患者(国内10例目)<sup>3)</sup>より同ウイルスが検出され、国内では同時期に武漢市への渡航歴の無い患者やヒトからヒトの感染が報告<sup>4)</sup>されはじめ、以後、世界的な流行に至った<sup>5-7)</sup>。

英国では、2020年12月上旬頃から、SARS-CoV-2感染者が急速に増加した<sup>8)</sup>。これらの感染者から検出された SARS-CoV-2 は Spike 蛋白質に特徴的なアミノ酸変異である501番目のアミノ酸が N (Asparagine) から Y (Tyrosine) への変異 (N501Y) を有するアルファ株(B.1.1.7系統)に属していた<sup>9)</sup>。その後も、SARS-CoV-2 の世界的な流行拡大が進むにつれ

て、Spike 蛋白質の452番目のアミノ酸が L (Leucine) から R (Arginine) へ変化 (L452R) した変異ウイルス (デルタ株)<sup>10)</sup> やワクチン接種者および感染者の血清中の中和抗体の活性低下が報告されている484番目のアミノ酸が E (Glutamic Acid) から K (Lysine) へ変化 (E484K) したウイルス (R.1系統) が報告された<sup>11,12)</sup>。

そこで、本県で検出された SARS-CoV-2 の Spike 蛋白質にみられる変異のうち N501Y および L452R の経時的検出状況を調べた。

また、2021年1月以降に関東で多数確認された R.1 系統 (E484K)<sup>13,14)</sup> の動向を調査した。

さらには国内における次期流行ウイルスの候補の1つとしてペルーなどの南米で流行していたラムダ株<sup>15)</sup> が有する特徴的なアミノ酸変異 (F490S, L452Q) の動向についても報告する。

## 対象と方法

### 1. 調査対象

2021年1月～2021年10月末に当所に依頼された新型コロナウイルス行政検査において、SARS-CoV-2陽性となった患者検体（鼻汁、鼻咽頭拭い液、唾液等）、4,297件を対象とした（表1）。

調査期間中の地域別の対象者数の内訳は、北勢地域2,481件、中勢・伊賀地域1,287件、伊勢志摩・東紀州地域529件であった。

なお、変異ウイルスの発生状況および流行状況を鑑み、各アミノ酸変異（N501Y, L452R, E484K, F490S, L452Q）を有するウイルスの検出を行った。

SARS-CoV-2陽性者の検体は、新型コロナウイルス感染症患者に対する積極的疫学調査実施要領に基づき採取され、医療機関において記入された調査票（患者情報）の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護などに留意した。

表1 地域別検体採取月別調査対象者数

検体採取月	調査数	北勢地域	中勢・伊賀地域	伊勢志摩・東紀州地域	計
2021年1月	90	50	19	21	90
2月	142	39	42	61	142
3月	144	95	44	5	144
4月	618	456	111	51	618
5月	532	366	98	68	532
6月	188	101	49	38	188
7月	262	168	82	12	262
8月	1863	981	653	229	1863
9月	401	177	180	44	401
10月	57	48	9	0	57
計	4297	2481	1287	529	4297

### 2. Spike蛋白質の各種アミノ酸変異（N501Y, L452R, E484K, F490S, L452Q）の検出

SARS-CoV-2のSpike蛋白質にみられる変異のうちN501Y, L452R, E484K, F490SおよびL452Q変異の検出にはタカラバイオ社のSARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kitおよび各種変異に対応したPrimer/ProbeセットによるリアルタイムRT-PCRを実施した。

なお、N501Y変異検出の一部は、国立感染症研究所から示されたリアルタイムRT-PCRによる検出を実施した<sup>16)</sup>。

## 結果

### 1. SARS-Cov-2のアミノ酸変異（N501Y, L452R, E484K, F490S, L452Q）の検出状況

2021年1月～2021年10月に検出されたSARS-Cov-2陽性者のSpike蛋白質におけるアミノ酸変異（N501Y, L452R, E484K, F490S, L452Q）の有無について調査結果を下記に示す。

表2 地域別検体採取月別 陽性者数（N501Y変異）

検体採取月	調査数	北勢地域	中勢・伊賀地域	伊勢志摩・東紀州地域	計
2021年1月	90				0
2月	142				0
3月	144	45	30	3	78
4月	598	379	94	48	521
5月	532	329	81	66	476
6月	188	54	19	11	84
7月	107	39	30	2	71
8月	1				0
9月	0				0
10月	0				0
計	1802	846	254	130	1230

#### 1.1 N501Y変異の検出状況（採取月別、地域別）

2021年1月～2021年8月にSARS-Cov-2が検出された1,802件中、1,230件（68.3%）のN501Y変異を有するウイルスが検出された（表2）。

採取月別のN501Y変異を有するSARS-Cov-2の検出数は以下のとおりであった。

2021年1月（0件）、2月（0件）、3月（78件）、4月（521件）、5月（476件）、6月（84件）、7月（71件）であったが、2021年8月以降はN501Y変異を有するウイルスは検出されなかった。

検体採取地域別では、2021年3月に北勢、中勢・伊賀、南勢・東紀州のすべての地域で、N501Y変異を有するウイルスが検出された。4月には北勢地域で379件、中勢・伊賀地域で64件、伊勢志摩・東紀州地域で48件検出され、5月も全地域で同様の検出傾向がみられ、6月以降は各地域で減少していた（表2）。

#### 1.2 L452R変異の検出状況（採取月別、地域別）

2021年10月末までにSARS-Cov-2が検出された2,719件中、2,288件（84.1%）のL452R変異を有するウイルスが検出された（表3）。

L452R変異を有するSARS-Cov-2の検出数は2021年4月（0件）、5月（2件）、6月（1件）、7月（125件）、8月（1,718件）、9月（386件）、10月（56件）であった。

なお、2021年4月以降は、遡り調査を含めて段階的にN501Y変異からL452R変異の検出系へと切り替えた。

検体採取地域別では、2021年5月に2件、6月には1件、北勢地域でのみ散発的に確認されたが、7月には北勢、中勢・伊賀、南勢・東紀州のすべての地域で、計125件検出された。その後、8～9月においても、全地域で検出されていた（表3）。

表3 地域別検体採取月別 陽性者数(L452R変異)

検体採取月	調査数	北勢地域	中勢・伊賀地域	伊勢志摩・東紀州地域	計
2021年1月	0				0
2月	0				0
3月	0				0
4月	5				0
5月	30	2			2
6月	101	1			1
7月	262	98	24	3	125
8月	1863	901	618	199	1718
9月	401	172	175	39	386
10月	57	47	9		56
計	2719	1221	826	241	2288

### 1.3 E484K変異の検出状況（採取月別，地域別）

E484K変異を有するSARS-Cov-2は2021年1月～5月までに計60件検出された。検体採取月別の検出数は2021年1月（6件），2月（3件），3月（24件），4月（15件），5月（12件）であった。

検体採取地域別では，2021年1～5月に北勢地域で56件確認された。他の地域は，2021年3～5月に中勢・伊賀地域で，各月1件の計3件で，南勢・東紀州では4月に1件検出された。

### 1.4 F490SおよびL452Q変異の検出状況

ラムダ株の動向把握の目的で，2021年6～10月末までのL452R変異を有しないウイルス検体を中心に選定し調査したが，F490S変異を有するウイルスは確認されなかった。また，ラムダ株の特徴的なアミノ酸変異であるL452Q変異も並行して実施したが，検出されなかった。

## 考 察

現在の国立感染症研究所による国内における変異株の分類では，特に重要な変異を持つSARS-CoV-2はvariant of concern（VOC）と呼称され，「懸念される変異株」として，N501Y変異を有するベータ株（B.1.351系統）<sup>17)</sup>とガンマ株（P.1系統）<sup>18)</sup>，そして，L452R変異を有するデルタ株（B.1.617系統）<sup>19)</sup>の3種が挙げられている（2021年10月末現在）<sup>20)</sup>。2020年に検出したSARS-CoV-2のSpike蛋白質は特徴的なアミノ酸変異（D614G）を有するウイルス<sup>21)</sup>であったが，2020年末以降，このD614G変異に加えて，VOCに該当する新たなSARS-CoV-2の変異ウイルスが出現し，その動向が注目された。本県では2021年1月までは，E484K，N501YおよびL452R変異を有しない「従来型」とされるD614G変異を有するウイルスの検出であったが，2021年1～5月までの間にE484Kの変異を有するR.1系統の特徴を有するウイルスが少数ながら

確認されたが，6月以降は認められなくなった。一方で，N501Y変異を有するSARS-Cov-2は，本県の各地域においても，全国の流行状況と同様<sup>22)</sup>に，2021年3月中旬から4月を境に，アルファ株と推察されるN501Y変異ウイルスの流行へとシフトしていた。この世界的な流行となった（アルファ株（B.1.1.7系統）<sup>23)</sup>は，現在は終息しVOCには該当しないが監視下の変異株（VUM；Variants Under Monitoring）に分類されている。

さらには2021年7月中旬を境に県内全域でN501Y変異ウイルスからデルタ株と推察されるL452R変異ウイルスへと流行ウイルスに変遷がみられたが，現在，国内では，終息に向かっているものの依然としてVOCに分類され動向が注視されている。

今回，使用したリアルタイムRT-PCRによる各種変異ウイルスの検出系は，迅速性と多検体を同時に検出可能で，非常に利便性が高い。また，変異ウイルスの発生状況および流行状況を鑑み，適切な変異検出系の選定のために複数の検出系を実施することも可能で，特に陽性検体の多い流行期には有用であった。このことは，本県における変異を有するSARS-Cov-2の動向を伺うことができ，本調査結果を基にした感染症対策の一助となりえたものと思われた。今回，ラムダ株の動向把握の目的で，F490S変異およびL452Q変異を調査したが両変異は確認されていないが，今後においても，新たな変異ウイルス（B.1.1.529系統；オミクロン株）<sup>24,25)</sup>の動向に備え，迅速性を有した検査体制維持に努めることが重要であると考え。

## 謝 辞

新型コロナウイルス感染症に対する積極的疫学調査において検体採取を担当された医療機関の諸先生方，保健所等の関係各位にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所：日本国内の新型コロナウイルス感染症第一例を契機に検知された中国武漢市における市中感染の発生，病原微生物検出情報，**41**，143-144(2020)。
- 2) 国立感染症研究所：国内で報告された新型コロナウイルス感染症確定例12例の記述疫学（2020年2月3日現在），病原微生物検出情報，**41**，48-49(2020)。
- 3) 厚生労働省：新型コロナウイルスに関連した肺炎の患者の発生について(10例目)  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_09236.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_09236.html) (2021.11.13 access)
- 4) 国立感染症研究所：国内初の新型コロナウイルスのヒト-ヒト感染事例，病原微生物検出情

- 報, **41**, 63-64(2020).
- 5) Holshue M. L, DeBolt C, Lindquist S, et al : First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States, *N. Engl. J. Med*, **382**, 929–936 (2020).
  - 6) Florian Götzinger, Begoña Santiago-García Antoni Noguera-Julían, et al : COVID-19 in children and adolescents in Europe:a multinational, multicentre cohort study, *Lancet Child Adolesc Health*, **4**(9):653-661 (2020).
  - 7) 国立感染症研究所：海外におけるCOVID-19の流行状況について (2020年6月4日時点) 病原微生物検出情報, **41**, 105-106(2020).
  - 8) European Centre for Disease Prevention and Control.Riskassessment : SARS-CoV-2-increased circulation of variants of concern and vaccine rollout in the EU/EEA. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-risk-assessment-variants-vaccine-fourteenth-update-february-2021> (2021.11.06 access)
  - 9) Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2variants of concern : Technical briefing documents on novel SARS-CoV-2variants. <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sarscov-2-variant-variant-of-concern-20201201>(2021.10.06 access)
  - 10) Cherian S, Potdar V, Jadhav S, Yadav P, Gupta N, Das M, et al.: Convergent evolution of SARS-CoV-2spike mutations, L452R, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2021.04.22.440932, (2021).
  - 11) Jangra S, Ye C, Rathnasinghe R, Stadlbauer D, Krammer F, Simon V, et al.: The E484K mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces but does not abolish neutralizing activity of human convalescent and post-vaccination sera, *medRxiv*, doi: 10.1101/2021.01.26.21250543,(2021).
  - 12) Jangra S, Ye C, Rathnasinghe R, Stadlbauer D, Krammer F, Simon V, et al.: SARS-CoV-2 spikeE484K mutation reduces antibody neutralization, *Lancet Microbe*, doi: 10.1016/S2666-5247(21)00068-9, (2021).
  - 13) 関塚剛史, 糸川健太郎, 谷津弘仁 他: 新型コロナウイルスSARS-CoV-2 Spikeタンパク質E484K変異を有するB.1.1.316系統の国内流入 (2021年2月2日現在), 病原微生物検出情報, **42**, 79-81(2021).
  - 14) 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) の新規変異株について (第8報) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2484-idsdsc/10280-covid19-41.html> (2021.11.10 access)
  - 15) 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) の新規変異株について (第13報)
  - 16) 国立感染症研究所：リアルタイムone-step RT-PCR 法によるSARS-CoV-2 Spike N501Y 変異の検出 (暫定版v2.1.1) 2021年2月24日.
  - 17) Houriiyah Tegally, Eduan Wilkinson, Marta Giovanetti, et al : Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa *medRxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640> (2021.11.10 access)
  - 18) NIID J, Brief report: New Variant Strain of SARS-CoV-2 Identified in Travelers from Brazil <https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/corona/covid19-33-en-210112.pdf> (2021.11.10 access)
  - 19) Latif AA, et al., India Mutation Report <https://outbreak.info/location-reports?loc=IND> (2021.11.10 access)
  - 20) 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) の新規変異株について (第14報) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10743-covid19-62.html> (2021.11.10 access)
  - 21) 矢野 拓弥, 永井 佑樹, 楠原 一 他: 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) におけるアミノ酸変異 (D614G) を有するウイルスの動向について-三重県- (2020年1月~2020年9月, 三重保環研年報 **22** (65), 57-62 (2020).
  - 22) 小林祐介, 新城雄士, 大塚美耶子 他:国内における新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) N501Y変異株置き換わりに関する分析, 病原微生物検出情報, **42**, 174-175(2021).
  - 23) Nicholas G Davies, Sam Abbott, Rosanna C Barnard et al., *Science* 2021, DOI: 10.1126/science.abg3055 <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abg3055> (2021.11.10 access)
  - 24) 国立感染症研究所：SARS-CoV-2の変異株 B.1.1.529系統について (第1報) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10790-cepr-b11529-1.html> (2021.11.26 access)
  - 25) 国立感染症研究所：SARS-CoV-2の変異株 B.1.1.529系統について (第2報) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus.html> (2021.11.29 access)