

特集：新型コロナウイルス感染症の教訓
ーパンデミックにいかに対峙し何を学んだかー

<解説>

新型コロナウイルス感染症に対する検査・診断

貞升健志, 吉村和久

東京都健康安全研究センター

Testing and diagnosis for COVID-19

SADAMASU Kenji, YOSHIMURA Kazuhisa

Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

抄録

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の検査は、全国の地方衛生研究所（地衛研）を中心に2020年1月末にはほぼ整備された。当初は国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに準じたコンベンショナルPCR法と塩基配列解析を組み合わせた核酸増幅検査法であったが、直ぐにリアルタイムPCR法による方法（感染研法）に変更となり、検査試薬も感染研から配布された。3月以降、民間検査機関での新型コロナウイルス検査が開始され、地衛研としても、民間検査機関における検査の立ち上げに協力した。その後、感染研法に変わる種々の検査試薬が厚生労働省で体外診断用医薬品として承認されるようになった。

2020年12月には、感染力が強いSARS-CoV-2の変異株が出現した。WHOの懸念される変異株（Variants of Concern; VOC）に指定されたアルファ株等の変異株の同定や解析のために、地衛研においても、変異株スクリーニング検査やゲノム解析に関与することとなった。その後の流行は、変異株の変遷とともにあり、地衛研の業務としても、次世代シーケンサーによるゲノム解析や変異株サーベイランスが加わった。

本稿では、地方衛生研究所での検査体制の構築から変異株に対する対応を含めて、この3年間の出来事を記述する。

キーワード：新型コロナウイルス、核酸増幅検査、変異株、次世代シーケンサー

Abstract

Nucleic acid amplification tests for coronavirus diseases (COVID-19) were nearly established by the end of January 2020, mainly at regional Public Health Laboratories (PHLs) nationwide. Initially, the nucleic acid amplification test was a combination of conventional PCR and sequencing, in accordance with the pathogen detection manual of the National Institute of Infectious Diseases (NIID). However, this was soon changed to a real-time PCR method (NIID method), and test reagents were distributed by the NIID. In order to cope with the further increase in the number of tests, private laboratories began testing for novel coronaviruses in March, and PHLs cooperated with the launch of testing by private laboratories. Subsequently, a large variety of test reagents that replaced the NIID method were approved by the Ministry of Health, Labour and Welfare as in vitro diagnostic products.

連絡先：貞升健志

〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

3-24-1 Hyakunin-cho, Shinjuku, Tokyo 169-0073, Japan.

E-mail: Kenji_Sadamasu@member.metro.tokyo.jp

[令和4年8月29日受理]

In December 2020, highly infectious variants of SARS-CoV-2 emerged, and the PHL also became involved in screening tests and genome analysis to identify and analyze the alpha strain and other strains specified as Variants of Concern (VOC) by the World Health Organization (WHO). The epidemic that followed was characterized by a replacement of the initial variant with new variants, and the PHL also added SARS-CoV-2 whole-genome analysis using next-generation sequencers (NGS) and variant surveillance via real-time PCR to its work. This manuscript outlines the events of the past three years, including the establishment of Nucleic acid amplification tests at PHLs and our response to new variants.

keywords: SARS-CoV-2, nucleic acid amplification test, variant, next-generation sequencers (NGS)

(accepted for publication, August 29, 2022)

I. はじめに

2020年1月から始まった新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症との闘いは3年目を終えようとしている。この間に、我が国の新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は第1波～第7波の流行となった。本稿では、新型コロナウイルス感染症の感染者数が最も多い都市に存在する地方衛生研究所（地衛研）の立場で、新型コロナウイルス検査・診断の観点から、時系列毎、項目毎にこの3年間の経過を記述してみたい。

II. 新型コロナウイルス感染症検査

1. 我が国における新型コロナウイルス患者発生と検査体制の整備

2020年1月6日に、厚生労働省より、中華人民共和国湖北省武漢市内で原因病原体が特定されていない肺炎の発生が報告されているとの発表があった。その後、1月12日に国際ゲノムデータベースGlobal Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID) [1], 1月14日にはGenBank/DBJ/EMBLで本疾患の原因ウイルスとして、新種のコロナウイルス（後にSARS-CoV-2と確定）の全ゲノム配列（29,903塩基）が公開された[2]。

1月15日には、国内1例目の新型コロナウイルス感染者が報告され、1月17日には国立感染症研究所（感染研）のコンベンショナルPCR法と塩基配列解析法を組み合わせたSARS-CoV-2検査法がドラフト版として公開された[2,3]。その後、1月28日前後に感染研からリアルタイムPCR用の検査プロトコルが提示され（その後、逐次改訂された）、さらに全国の地衛研にリアルタイムPCR用の試薬が送付されたことで、全国の地衛研でリアルタイムPCRによる新型コロナウイルス検査の準備は1月中にほぼ整った。

2. 薬事承認の新型コロナウイルス検査試薬

新型コロナウイルス検査のうち、主たる検査法は核酸増幅法であり、2020年3月27日～8月31日までに11種類の核酸増幅検査試薬が薬事承認された[4]。2020年8月31日付の厚生労働省の事務連絡で、薬事承認を得た試薬を検査として使用する旨が通知されたことから、感染研の

検出マニュアルに準じた方法は、その後、検査では使用されなくなる。以降、2022年4月8日まで48種類の核酸増幅検査試薬が体外診断用医薬品として薬事承認されている[5]。薬事承認された核酸増幅試薬は、リアルタイムPCRを原理としたものが最も多いが、LAMP法やTMA法等の等温核酸増幅法のもの等、様々な種類がある。これら核酸増幅検査試薬は同一の感度・特異性を有するものとして扱われているが、個々の試薬の評価は限定的にあるだけであり[6]、外部精度管理の評価でも一部で指摘されているに過ぎない[7]。

抗原検査法は2020年5月13日以降、2022年8月18日までに57種類の試薬が薬事承認されている。抗原検査法には、定量、簡易、定性試薬とあるが、この中で感度は定量試薬の感度が高い。検査指針上では[8]、抗原定量試薬と核酸増幅検査試薬の用途は同等である（ただし、鼻腔拭いを除く）。しかしながら、感度は核酸増幅検査試薬の方が高く、検査時間が短いのは抗原定量試薬である。また、2021年9月以降は、抗原定性試薬の利用が増して行く。SARS-CoV-2には様々な変異株が出現してきたが、スパイク領域の遺伝子変異が多いため、スパイク領域を検出する試薬を除き、変異株により核酸増幅検査試薬や抗原検査試薬[9,10]の感度の低下は認められていない。

抗体検査試薬については、多くの研究用試薬は販売されているが、我が国で薬事承認された抗体検査試薬はない。スパイク蛋白に対する抗体（抗S抗体）やヌクレオカプシド蛋白（抗N抗体）を検出する試薬があり、抗S抗体はワクチン接種者で上昇が認められ[11]、抗N抗体は感染者で測定される指標に用いられることが多い。

3. ゲノム解析と変異株スクリーニング検査による第7波までの変異株の追跡

SARS-CoV-2は29,900塩基からなるRNAウイルスであり、1カ月に2塩基程度、変異するウイルスである[12]。我が国では2020年1月に中国武漢由来のA、B、2種類のプロトタイプの感染者が報告された[13]。その後、D614G変異のあるB.1.1が欧州型として国内でも検出され、第1波（2020年2月15日～5月25日頃）を形成した（図1、図2）。

B.1.1の変異型であり、我が国特有の株であるB.1.1.284

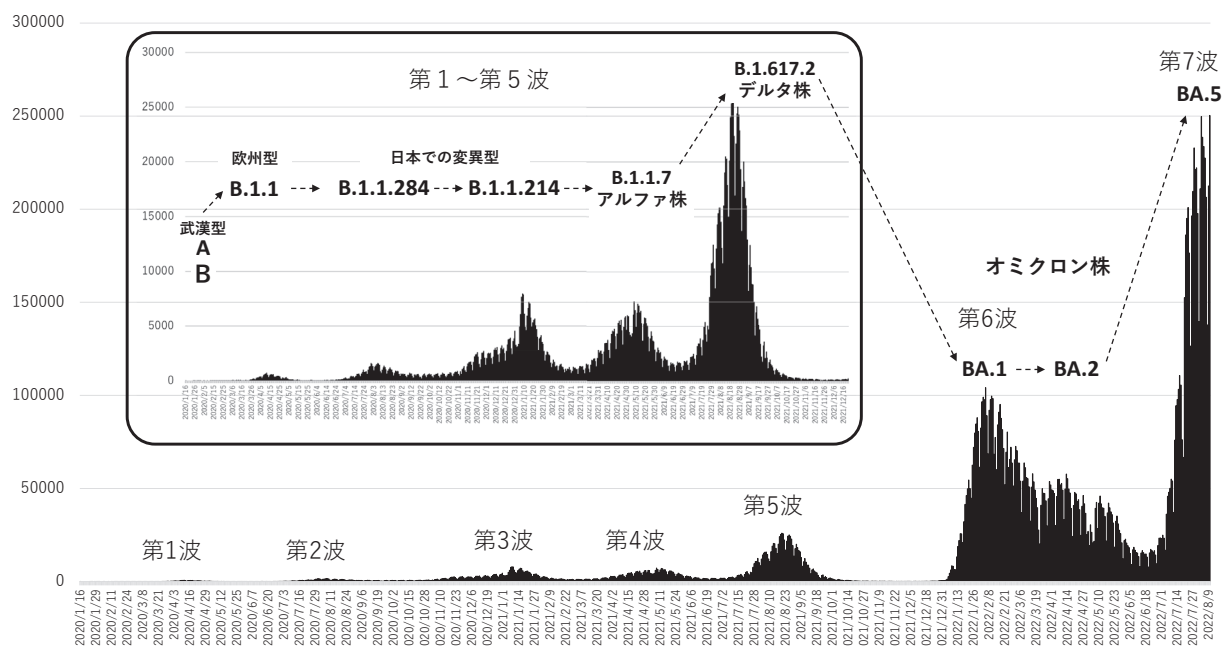


図1 我が国における新型コロナウイルス感染者数とSARS-CoV-2変異株の推移 (第1～7波)



図2 日本におけるSARS-CoV-2変異株の推移 (Outbreak.info¹⁸⁾より引用)

が第2波(2020年6月4日～10月2日頃)を形成し、さらに、B.1.1.214が第3波(2020年11月1日～2月11日頃)の主な原因ウイルスとなった。このような遺伝子型はPangolin系による分類に基づき、次世代シーケンサー(NGS)による全ゲノム解析で判明する[14]。全ゲノム配列は、臨床検体からウイルス分離後、NGS解析する方法もあるが[13]、ウイルス量の多い臨床検体(Ct値30未満)を98対のプライマーを用いたPCRで増幅後、NGSで解析し、プライマー部分を除去することによって得る方法が世界的に用いられている。なお、ゲノム配列の遺伝子型は型別用のホームページ(Pangolin: <https://pangolin.cog-uk.io/>、Nextclade: <https://clades.nextstrain.org/>)や、GISAID[1]への登録により付与される。

地衛研の職務は、検査以外にはレファレンス機能があり、病原体の分離や解析等を実施している。例えば、腸管出血性大腸菌や結核菌等はMLVAまたはVNTRと呼ばれる手法により、型別を行い、その菌が集団感染と関連性があるか否かを分子疫学的に調査している。ウイルスの変異を見る場合には、インフルエンザウイルスやHIVのように、変異が激しい領域をPCR法で増幅後、系統樹解析により塩基配列を解析することが多いが、SARS-CoV-2についてはスパイク蛋白のみではウイルスの全貌

地衛研の職務は、検査以外にはレファレンス機能があり、病原体の分離や解析等を実施している。例えば、腸管出血性大腸菌や結核菌等はMLVAまたはVNTRと呼ばれる手法により、型別を行い、その菌が集団感染と関連性があるか否かを分子疫学的に調査している。ウイルスの変異を見る場合には、インフルエンザウイルスやHIVのように、変異が激しい領域をPCR法で増幅後、系統樹解析により塩基配列を解析することが多いが、SARS-CoV-2についてはスパイク蛋白のみではウイルスの全貌

がわからないため、世界的に全ゲノム解析が実施されるようになり、2020年当初よりGISAIDでSARS-CoV-2のゲノムデータベースが立ち上がった。

我が国においても、初期には各地衛研から感染研に臨床検体から抽出したRNAを送付し、全ゲノム解析を依頼していたが、第2波以降は徐々に、地衛研が自力で全ゲノム解析が行えるようになってきており、当センターも2021年3月以降、2022年8月28日までに46,545株の登録を行っている。特に、施設内感染や集団感染事例の場合には、疫学調査として単一の感染源か否かを検討する必要がある、そのような調査に全ゲノム解析はとても有効となった。我々の調査ではゲノムの変異が5か所以内であれば、同一の感染源である可能性が示唆されるデータが得られている[15]。

一方で、全ゲノム解析は検査単価が高く、1回に処理可能な検体数は少なく（20検体程度）、ウイルス量の多い検体（Ct値30未満）でしか解析ができない。さらに、検査結果が得られるまでに1週間程度を費やさなければならないのが難点である。

2020年末には、我が国でもアルファ（B.1.1.7系）、ベータ（B.1.351系）、ガンマ株（P.1系）といった感染力の強い変異株が問題となり始めた。これらの株はスパイク蛋白に特有の変異を持つウイルスであり（N501YやE484K）、WHOでは懸念される変異株（Variants of Concern; VOC）[16]に指定されていた。日本においても2020年12月中旬に日本への侵入が危惧され、陽性例の遺伝子型を特定するために全ゲノム解析が必要となった。アルファ株の全ゲノム解析は、地衛研から感染研に臨床検体由来の核酸RNAを送付することになったが、やみくもにウイルス量の多い検体を全て送付するのは、コスト的にも効率の良い方法とは言えなかった。そこで、東京都では12月28日からリアルタイムPCRのGenotyping modeによる変異株スクリーニング検査法を構築し[17]、N501Yのスクリーニング検査を開始した（全国の地衛研では1月22日より開始）。N501Yスクリーニング検査で陽性の場合には、感染研に搬入することとし、NGSによる確定検査を依頼した。

リアルタイムPCR（Genotyping mode）による変異株スクリーニング検査は、スパイク蛋白のN501Y変異の有無を検出し、Nであれば従来株、Yであればアルファ株疑いとした。リアルタイムPCRを用いた方法は感度が高く（Ct値40程度）、96welマイクロプレートを使用するために大量処理も可能で、数時間で結果が得られた。一方で、Ct値30～40であった場合には、変異株スクリーニング検査で陽性であっても、全ゲノム解析での陽性判定が得られない場合があった。

第4波（2021年3月1日～6月20日頃）では、主流のウイルスはアルファ株であった。ちょうどその頃、関東近県ではR.1株（E484K）も検出されていたが、アルファ株の置き換えにより消失していった。Outbreak.info[18]によると（図3）、関東地区では12月末に（矢印A）、関西地区では1月以降にアルファ株が検出されて

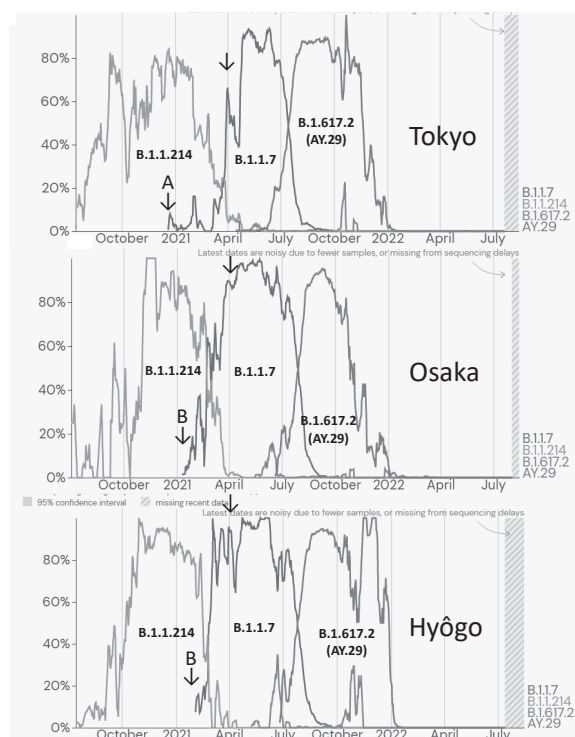


図3 2020年末～2022年におけるSARS-CoV-2変異株の推移（Outbreak.info¹⁸⁾より引用）

いた（矢印B）。にもかかわらず、関西地区では4月には80%置き換え（矢印）、その時の東京都での置き換えは50%程度に過ぎなかった。この理由として考えられるのは、東京都が国に先駆けて12月末から変異株スクリーニング検査を開始し、事前にアルファ株の芽を摘んでいたとしか思えない。それ以降の変異株についても、東京都は早めに変異株スクリーニング検査を開始したが、同様の現象は見られなかった。つまり、感染を遅らせることができたのは、アルファ株のみであったと推定される。

第5波（2021年6月30日～10月27日頃）の主流のウイルスはデルタ株（B.1.617.2系）であった。デルタ株はスパイク蛋白にL452Rの変異を有したことから、東京都ではL452Rの変異株スクリーニング検査を4月30日から開始し、全国では5月21日に開始された。デルタ株は感染力が強く、感染者数も今まで以上に増加した。また、ワクチン接種者（2021年2月17日から開始）でブレイクスルー感染することが判ったが、ワクチン接種により重症化予防が可能なのは確かであり、ワクチン推奨は引き続き継続されていた。この頃には保健所を中心としたクラスター対策は少しずつできなくなったと考えられ、当センターに搬入された件数も第3波よりも少ないことが判る（図4）。

第6波（2022年1月6日～2022年6月22日頃）以降の国内主流のウイルスはオミクロン株（B.1.1.529系）であり、スパイクタンパク質に30か所程度のアミノ酸置換を

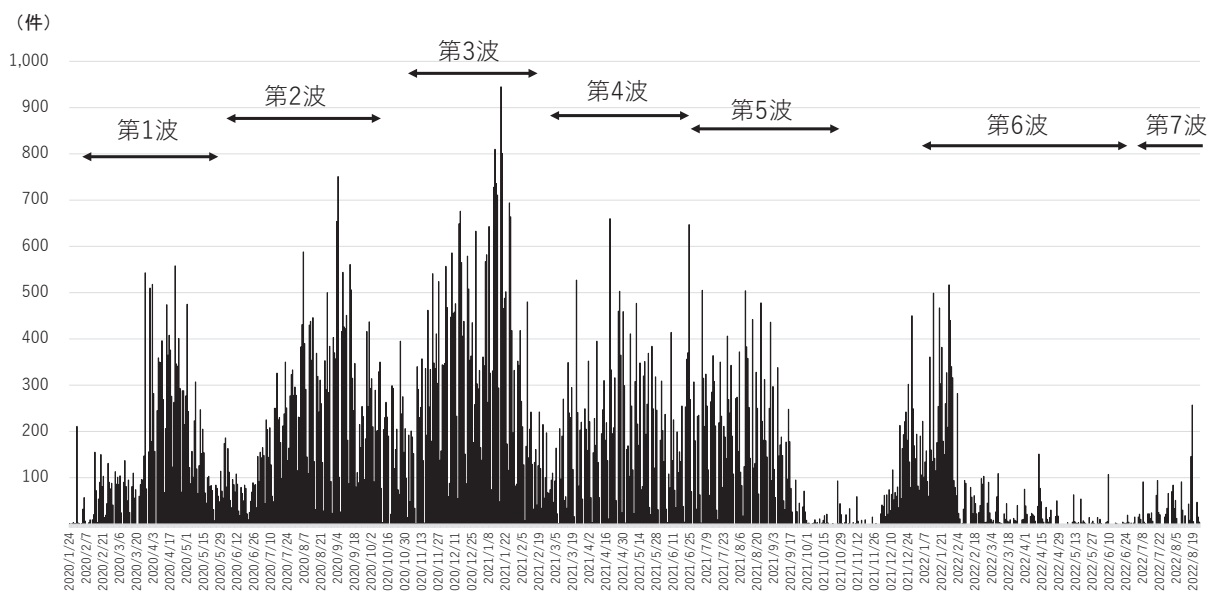


図4 保健所等からのSARS-CoV-2検査数の推移（第1～7波）（東京都健康安全研究センター）

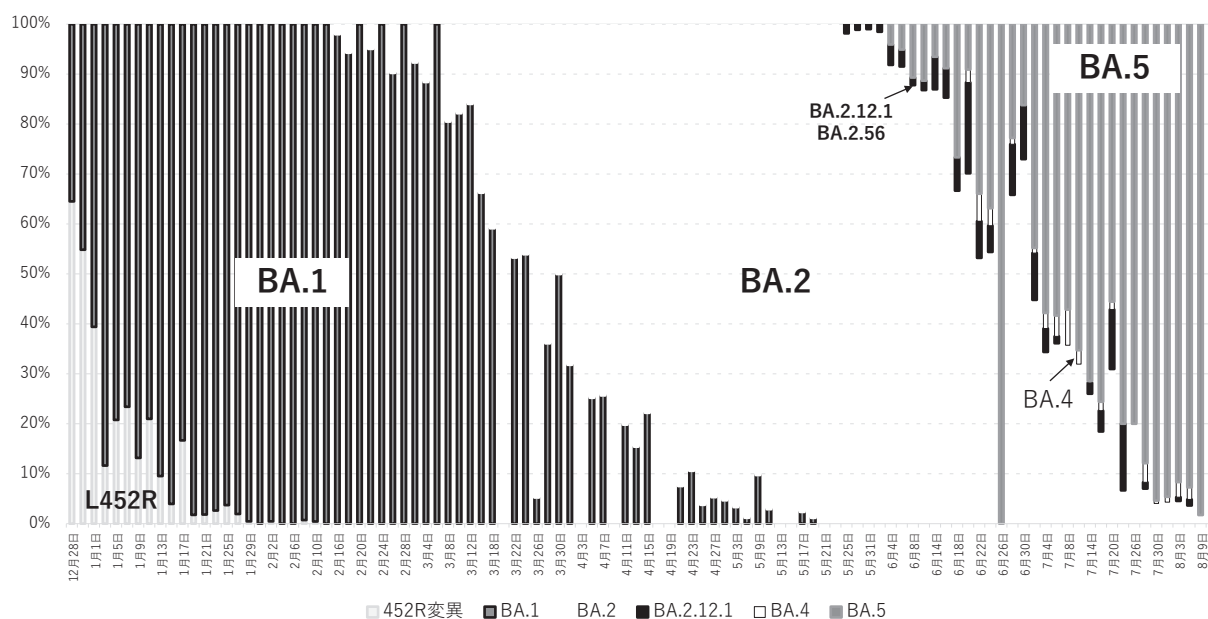


図5 東京都におけるSARS-CoV-2変異株スクリーニング検査

有するBA.1であった。2021年12月9日には、厚労省から要請が出され、オミクロン株をターゲットとした変異株スクリーニング検査やゲノム解析後のGISAID登録の要請が出された。東京都ではE484Aの変異株スクリーニング検査を12月3日から開始していたが（図5）[19]、国立感染症研究所より地衛研に対し、12月24日に一斉メールでG339Dの変異株スクリーニング検査プロトコルが共有された。しかしながら、通知法には至らず、既存のL452R陰性（デルタではない事）を利用したスクリーニング検査が国として推奨された。さらに、オミクロン株の確定はゲノム解析との事務連絡があり、オミクロン

株の特定には地衛研におけるゲノム解析が必須となった。他県ではオミクロン株の流行が報道され、地衛研におけるゲノム解析による確認が間に合わなくなったとの情報が入った。確かに変異株の確定にNGSは有用であるが、件数が多くなると、ゲノム解析による確定は物理的に困難となり、ある程度のところで変異株スクリーニング検査にシフトすべきであったと思っている。東京都における変異株スクリーニング検査では2022年1月末にはほぼBA.1に置き換わった（図5）。

第6波は2峰性の波となったが、2月中旬からBA.2が検出され始め、5月中旬にはBA.1からBA.2に完全に置き

換わった(図1,5)。また、この時期には、段々と保健所からの検査検体が当センターに来なくなり(図4)、そのため、変異株のモニタリングを行うために、首都圏の地衛研では民間検査所を活用し、陽性例を集めたり、民間検査所に全ゲノム解析そのものを依頼し、都内の変異株に係るデータとして、本庁や地衛研に送付されることとなった。

その後、感染者数が高止まりのまま、7月1日頃より第7波に突入した。変異株スクリーニング検査でウイルスはBA.2の他、BA.4、BA.5、またはL452M変異を有するBA.2.56やL452Q変異を有するBA.2.12.1が検出され始めたが、8月上旬にはほぼBA.5に置き変わった(図5)。

III. 当初からの検査関連の方針とその後の推移

1. 採取検体の優先順位

2020年1月22日の時点の採取検体は、必ず必要であったのが「咽頭拭い液」であり、できる限りの採取が「喀痰もしくは気管吸引液」「血清(急性期、回復期)」「全血」「尿」の順で、多項目であった。その後、喀痰検体の方が感度的に高いという情報があり、1月31日には採取検体は「喀痰もしくは気管吸引液」「咽頭拭い液」の順となった。2月21日には咽頭拭いは「鼻咽頭拭い液」となり、2020年6月2日の厚生労働省からの通知で、より採取が簡単な検査対象として「唾液」が3番目の採取検体として追加された。希少感染症の場合には、多くの種類の検体採取が必要となる場合が多いが、複数検体は検査数増に直接関係するため、必ずしも検査現場では好まれなかった。東京都では3月上旬には、1検体につき検体採取を1本として、対応することとなった。

2. クラスター対策の変遷

前述のように、当初より積極的疫学調査として、保健所から臨床検体が搬入され、各地衛研では臨床検体から核酸RNAを抽出後、リアルタイムPCRにより検査を実施していた。陽性結果が得られた場合には、陽性者の濃厚接触者を中心に検査を実施するクラスター対策が開始された。しかしながら、2021年8月頃、特に首都圏の保健所では、積極的疫学調査の対象は、感染者と同居する家族のほか、学校、医療機関、それに高齢者施設などにとどめ、職場や会食などで感染した場合には、濃厚接触者の調査は行わなくなった。そのため、当センターにおいても保健所からの検体搬入数は著しく減少した(図4)。薬局での医療用抗原検査キットの取り扱いが可能となったことも(事務連絡、2021年9月27日)、要因としてある。以降、第6、7波も当センターにおける検査件数についても少なくなった。

3. 変異株を追う

一方で、変異株のサーベイランスは、強化されていった。変異株はアルファ株から始まったが、その後、デルタ、

オミクロン株と変遷していく。我が国では適宜地域における変異株の推移をモニタリング可能なデータベースがないため、国際ゲノムデータベースに登録したデータの国・都市毎の解析結果を他国のインターネットサイトで利用するとともに(図2,3)[1,18]、都道府県毎においても様々な手法で変異株の推移をモニタリングしていた。

東京都では、オミクロン株以降もBA.1[19]、BA.2(BA.2.56、BA.2.12.1やBA.2.75含む)、BA.1/2組み換え体、BA.4、BA.5対応の変異株スクリーニング検査を構築し(図5)、リアルタイムでの変異株調査やゲノム解析によるモニタリングに取り組んでいるが、国としてはオミクロン株(BA.1)以降、L452R検査系で代用し、変異株スクリーニング検査法の構築をしなくなった。

IV. 検査体制の確保に向けた取り組み

1. 所内検査体制の確保・増強

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の扱いは、感染症法上ではBSL3実験室内となっているが、臨床検体の検査については、ディスプレイブルガウンやマスク等の個人予防具(PPE)をした上でのBSL2実験室(+)対応となっている。我々は、比較的広いBSL3実験室を利用し、BSL3実験室内でバイオパウチから検体を出し、検体数、検体番号を確認後、臨床検体空一部を抜き取り、ウイルス不活化溶液を添加後、BSL3実験室外の核酸抽出機器に設置し、核酸抽出作業を行ってきた[2]。

通常の検体受付作業は、各担当の実験室前の机で行ってきたが、新型コロナウイルスの検体数が増加するにつれて、手狭になり、密な状況になりかねなかった。そのため、受付自体もBSL3実験室前の廊下スペースに移動させることとした。

さらに、2020年4月以降、検査検体は土日を問わずほぼ毎日搬入されるようになったため、検査チームを1日交代の3班に分けて対応することとし、微生物部内のみならず、当センター研究部門から応援部隊を得て対処した。応援部隊は検査受付、検査機器等に配置し、BSL3実験室内の検体処理は微生物部内の応援から充てた。また、種々の教育訓練や研修は適宜実施した。

2. 入手困難時の検査関連試薬・機器への対応

感染研法のリアルタイムPCRを実施するためには、臨床検体から核酸RNAを抽出、マイクロプレート(96ウェル)への試薬の分注、リアルタイムPCR機器にかける操作、データ解析の工程がある。この中で、2020年3月末頃から核酸RNA抽出試薬(外国製品)が入手困難になった[2]。全世界で一斉にPCRが行われることになったことによる品薄と、海外でのロックダウン等で流通が停滞したことも理由としてあった。当初は、新型インフルエンザ対策で備蓄していた10,000件分の検査に関わる消耗品を切り崩していたが、在庫がなくなってくると、物理的に感染研法を継続することが困難となったため、当セ

センターの検査体制にもマッチングすることを事前に検討した上で、5月上旬に抽出試薬を使用しない国産の検査試薬への切り替えを行った。国産検査試薬は、抽出試薬を使用しない代わりに熱処理課程があり、BSL3実験室内で熱処理を行う等、検査工程を大幅に変更することになった。

さらに、当センターは、検査数増への対応とコンタミネーション防止のため、新たな全自動機器を導入する検討を模索していたが、新たに薬事承認された試薬に対応した機器の購入が運よくでき、2020年8月から稼働させることができた。2020年5月の時点では、新たな全自動機器を入れようとしても、有名な検査メーカーの機器は全て外国社製であり、注文しても機器の入手は早くても半年から1年後との回答であり、機器が入手できても検査試薬が入るかどうかわからない状況との説明を受けていた。

ちょうど2020年4月～8月には、新聞報道等で検査中のコンタミネーションにより陰性検体が陽性となってしまった例や検査結果を誤って記入した事故が相次いで報道されていたことも拍車がかかった。そもそも核酸増幅検査では、少しでも陽性の検体や過去の増幅産物が入り込んでしまうと、間違った陽性結果を出すリスクが存在する。全自動化機器のメリットは、検査試薬が精度管理されていること、検査チューブに確実に入れさえすれば、取り間違いはなく、検査結果が出るまでに、クロスコンタミネーション等の心配もない。しかしながら、やはりその後も検査試薬の入手しにくい時期はあり、定期的な試薬の在庫管理をしっかりと行う必要はあった。

また、2021年1月には変異株スクリーニング検査に使用するマイクロプレートやチップ等のプラスチック製品も入手しにくい時期があった。これらの製品もほぼ全てが海外製品であったため、定期的な在庫管理も重要な職務となった。

3. メーリングリスト

地衛研で、新型コロナウイルス検査が開始された後、病原体検出マニュアルに準じた検査を実施していく中で、様々な疑問点を解決する手段がなかなかなかった。そこで、地衛研の担当者間でのメーリングリストを2020年2月4日に立ち上げた[2]。立ち上げから3月12日までの1カ月間に64回の投稿や返答があり、その後、検体として唾液が追加された場合や、変異株検査法についての質問に対しても、経験のある地衛研が答える形で検査担当者間の密な情報共有の手段として役立った。

4. 民間検査所の立ち上げ

新型コロナウイルス患者は、陰性確認の場合には検査を連続して2回行う必要があったため、当初は陰性確認の検体も同時に扱うこととなった。特に、大型客船での感染者で、都内入院事例の検体が2020年2月上旬から入り始めていた。陰性確認で陽性の場合には、再度、複数回の検体採取となり、クラスター対策に係る検査の妨げとなりかねない状況になった。また、クラスター対策の関連でも、検査数増が叫ばれるようになり、検査キャパに関連する問い合わせ（アンケート調査含む）も何度も来るようになった。

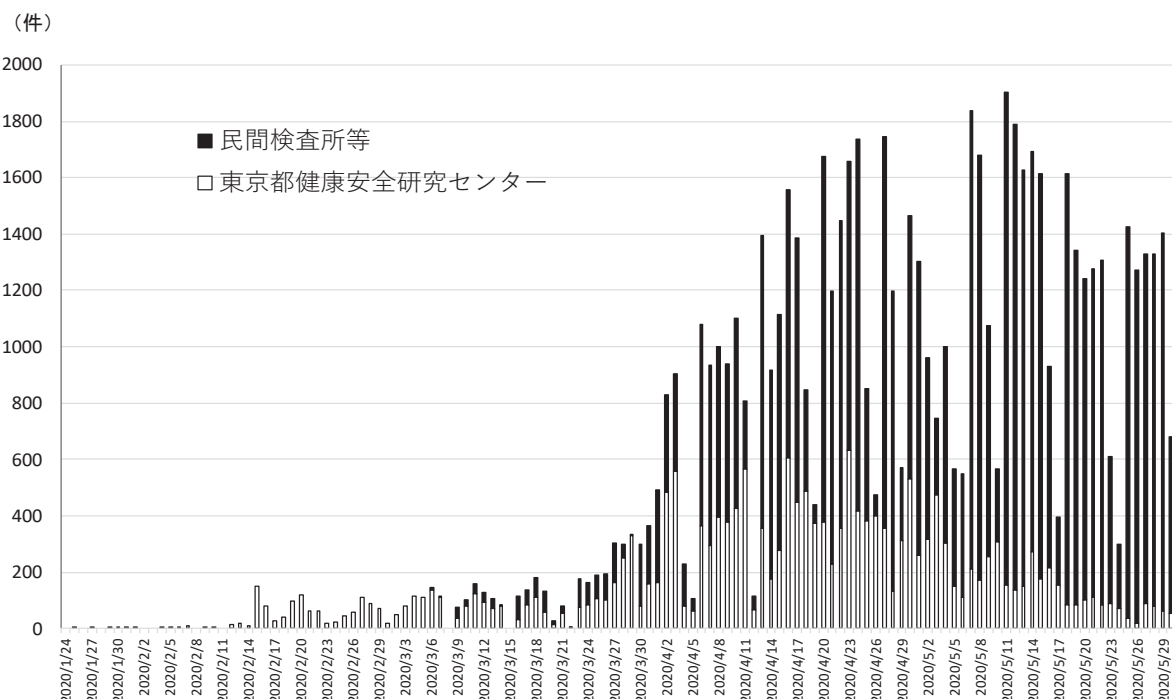


図6 東京都における新型コロナウイルス検査数の推移 (2020年1月～5月)

2月25日には事務連絡により、新型コロナウイルスにおける民間検査機関の活用が可能となり、さらに、3月5日の通知（医政発0305第1号）では行政検査を行う目的で、衛生検査所を臨時開設する場合には衛生検査所の登録は不要となり、徐々に都内でも民間検査所の検査数が4月以降多くなっていった（図6）。今思えば、民間検査所の立ち上げが無ければ当センターだけで都内の検査を全て行うことは不可能であった。

V. 検査以外での地衛研の果たした役割

検査業務以外での地衛研の果たした役割にも少し触れておきたい。

1. 民間検査の立ち上げ時のアドバイス

Ⅳの4で記した民間検査機関の立ち上げ時に、実験室のレイアウト、検査試薬の選択、検査結果の解釈や陽性コントロールで、専門機関としてアドバイスを求められた。実際に、検査を開始する検査室に赴き、具体的なアドバイスをを行った例もあった。また、アルファ株以降の変異株スクリーニング検査を民間検査機関に委託する際にも、アドバイスや陽性コントロールの供与を東京都として実施した。

2. 登録衛生検査所の監視と外部精度管理

2021年度の東京都内の登録衛生検査所は106施設あり、それら施設等を対象に毎年外部精度管理を実施している。東京都では、2020年[7]、2021年[20]と登録衛生検査所の外部精度管理として、例年の精度管理に加えて、新型コロナウイルスの遺伝子検査を実施した（精度管理標品は当センターで調製）。また、2年に1回に定例監視を行っており、外部精度管理の結果に問題があったような場合やコンタミネーションによる誤った結果を出したような事故時にも緊急監視を行っており、そのような監視に専門委員として同行した。

3. ウイルス分離

SARS-CoV-2はBSL3実験室内でVero系細胞（VeroE6, VeroE6/TMPRSS2細胞等）を用いて分離することが可能である。当センターでは2020年1月の検体からSARS-

CoV-2のプロトタイプ[13]、2021年3月にはアルファ株や多くの変異株を分離した。分離したウイルスは、4種病原体として確実に保管するとともに、電子顕微鏡画像撮影し、ホームページ上で公開し（図7）、抗原検査試薬の評価[9,10]や、希望する多くの共同研究者への分与も行った[21]。また、他の地衛研でも感染患者からのウイルス分離法による感染性の評価[22]等の研究成果がある。

4. 地衛研における調査・研究

地衛研がCOVID-19に関する知見を迅速に報告する国内雑誌としては、感染研が発行する病原微生物検出情報（IASR）や地衛研個々の所報がある。その中で、2020-2021年には環境水からのコロナウイルスの検出[23]や患者病日とリアルタイムPCR Ct値の相関についての報告[24]やアルファ株の陰性確認までの日数とCt値の推移[25]があった。どれも秀逸な研究報告であり、国のCOVID-19対策にも重要な知見となったと思われる。全ての紹介はできないが、これ以外にも数多くの地衛研ならではの貴重な報告があり、COVID-19の研究面でも地衛研の果たした役割は大きい。

VI. 今後の新たな感染症危機管理に向けた課題

2009年の新型インフルエンザ（AH1N1pdm2009）の場合には、全数検査の継続期間は3カ月程度であったが[4]、今回の新型コロナウイルスでは、検査、NGSにおける全ゲノム解析、変異株スクリーニング検査とウイルス検査自体も形を変えながら3年目の対応に入っている。今後、仮に、同様の新たな新興感染症（ゲノム配列が大幅に異なる病原体）が現われた場合、今回の検査試薬や設置した自動化機器も最初はほぼ使えない可能性が高い。今回のCOVID-19と同様に、新たな感染研のマニュアルに準じ、地衛研を中心とした全国での体制の構築から始まることとなる。そこで、最後に、今回の新型コロナウイルス検査対応を踏まえた課題を3点挙げて終わりたい。

1. 検査試薬の備蓄

今後の新たな新興感染症検査についても、初期の検査体制は地衛研で開始される可能性が高い。そのため、少なくとも3か月間程度の検査試薬・機材等の備蓄を各地衛研で行う必要がある。特に、年度末であれば予算枠もなく、全世界で試薬を使うことになれば、直ぐに枯渇する可能性も高い。敢えて言えば、国産の検査試薬・機材が望ましく、国全体でそのような意識・戦略を持つことが望ましいと考える。今回と同様に、3か月間地衛研の検査が保つことができれば、その後、民間検査所の検査が立ち上がることが期待できる。

2. 共有データベース

検査以外の地衛研の役割として、変異株等のモニタリ

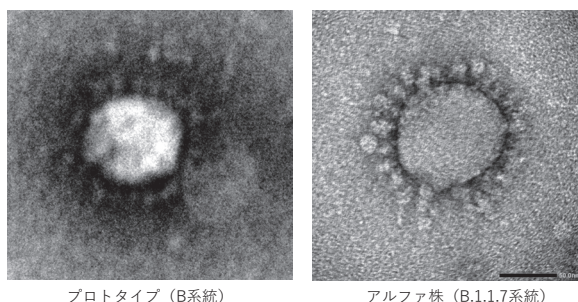


図7 新型コロナウイルスの透過型電子顕微鏡撮影像

ング（遺伝子解析または変異株スクリーニング検査）があるが、85ヵ所の地衛研のデータを互いに共有し、解析するデータサイトがない。実際に検査部門で用いているのはGISAID[1]であり、我が国や地域のデータを解析することは可能であるが、全国の現場レベルでリアルタイムでの把握や情報共有をするプラットフォームが必要である。

3. 人材育成

地衛研の微生物の健康危機管理に対する役割もこの数年間でかなりの専門的になり、今後も健康危機管理の技術的拠点としての役割が期待されている。しかしながら、人材育成については着実に実施されているとはいえない。今後も感染研や他の地衛研と共に、新たな任務を着実に実行できる人材を各地衛研毎に戦略的に育む必要がある。

利益相反

本稿に関し開示すべき利益相反はない。

引用文献

- [1] Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID). <https://www.epicov.org/epi3/frontend#1e902e> (accessed 2022-08-28)
- [2] 千葉隆司, 貞升健志, 長島真美, 熊谷遼太, 河上麻美代, 浅倉弘幸, 他. 健康安全研究センターにおける新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の検査対応. 東京健康安全研究センター研究年報. 2020;71:39-46.
Chiba T, Sadamasu K, Nagashima M, Kumagai R, Kawakami M, Asakura H, et al. [The role of Laboratory Diagnosis and Infectious Disease Surveillance Center of the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health during the new coronavirus disease (COVID-19) pandemic from January–May 2020.] Annual report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health. 2020;71:39-46. (in Japanese)
- [3] 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル2019-nCoV Ver.2.9.1. National Institute of Infectious Diseases, NIID. [Byogentai kenshutsu manual. 2019-nCoV Ver.2.9.1.] <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf> (in Japanese)(accessed 2022-08-28)
- [4] 貞升健志. 新型コロナウイルス検査試薬と東京都における検査対応 (2020年1~10月). ぶんせき. 2021;554:46-51.
Sadamasu K. [Shingata coronavirus kensa shiyaku to Tokyo Metropolitan Government ni okeru kensa taio (2020.1-10 gatsu).] Bunseki. 2021;554:46-51. (in Japanese)
- [5] 厚生労働省. 新型コロナウイルス感染症の体外診断用医薬品 (検査キット) の承認情報. Ministry of Health, Labour and Welfare. [Shingata coronavirus kansensho no taigai shindanyo iyakuhin (Kensa kit) no shonin joho.] https://www.mhlw.go.jp/stf/new-page_11331.html (in Japanese)(accessed 2022-08-28)
- [6] 国立医薬品食品衛生研究所. COVID-19診断用核酸増幅検査薬一斉試験の結果報告 (公開版). National Institute of Health Sciences. [COVID-19 shindanyo kakusan zofuku kensayaku issei shiken no kekka hokoku (kokaiban).] <https://www.nihs.go.jp/mtgt/pdf/COVID-19-NAT-test-02.pdf> (in Japanese)(accessed 2022-08-28)
- [7] 東京都. 令和2年度第39回東京都衛生検査所精度管理事業報告書. 2021. p.199-208.
Tokyo Metropolitan Government. [Reiwa 2 nendo dai 39 kai Tokyo Metropolitan Government eisei kensajo seido kanri jigyo hokokusho.] 2021. p.199-208. (in Japanese)
- [8] 厚生労働省. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 検査の指針, 第5.1版. 2022.
Ministry of Health, Labour and Welfare. [Shingata coronavirus kansensho (COVID-19) kensa no shishin, dai 5.1 han.] 2022. <https://www.mhlw.go.jp/content/000914399.pdf> (in Japanese)(accessed 2022-08-28)
- [9] 山崎貴子, 河上麻美代, 北村有里恵, 吉田勲, 小林甲斐, 長谷川乃映瑠, 他. 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. 東京健康安全研究センター研究年報. 2021;72:109-114.
Yamazaki T, Kawakami M, Kitamura Y, Yoshida I, Kobayashi K, Hasegawa N, et al. [Evaluation of single rapid antigen detection test for isolated severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.] Annual report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health. 2021;72:109-114. (in Japanese)
- [10] 山崎貴子. 新型コロナウイルス簡易抗原検査試薬のオミクロン株 (BA.1) を用いた検討. 東京都微生物検出情報. 2021;42(12):5-6.
Yamazaki T. [Shingata coronavirus kani kogen kensa shiyaku no Omicronkabu (BA.1) o mochiita kento.] Infectious Agents Surveillance Report. 2021;42(12):5-6. (in Japanese)
- [11] 藤原卓士, 他. 東京健康安全研究センター研究年報. 2022;73 (印刷中).
Fujiwara T, et al. Annual report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health. 2022;73 (in press). (in Japanese)
- [12] 貞升健志. SARS-CoV-2感染症に関連する検査 (拡散増幅検査, 抗原検査, 抗体検査). 臨床化学. 2021;50(3):229-236.
Sadamasu K. [Overview of testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): Nucleic acid amplification tests, Antibody tests.] Clinical Chemistry. 2021;50(3):229-236. (in Japanese)

- [13] Nagashima M, Kumagai R, Yoshida I, Kawakami M, Nagano M, Asakura H, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 isolated from asymptomatic carriers in Tokyo. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2020;73(4):320-322. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.137, 2020
- [14] 国立感染症研究所. 新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル2022年2月版.
National Institute of Infectious Diseases, NIID. [Shingata coronavirus genome kaiseki manual.] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/lab-manual-m/9559-2020-04-14-10-09-54.html> (in Japanese)(accessed 2022-08-28)
- [15] 林真輝, 山崎貴子, 長島真美, 草深明子, 岡田麻友, 星美代子, 他. 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. *東京健康安全研究センター研究年報*. 2021;72:73-79.
Hayashi M, Yamazaki T, Nagashima M, Kusabuka A, Okada M, Hoshi M, et al. [Genetic analysis of SARS-CoV-2 in institutional infection cases in Tokyo using next generation sequencing.] *Annual report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health*. 2021;72:73-79. (in Japanese)
- [16] WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (accessed 2022-08-28)
- [17] 長島真美, 熊谷遼太, 河上麻美代, 浅倉弘幸, 林真輝, 永野美由紀, 他. リアルタイムPCR法を用いたSARS-CoV-2変異検出法の検討. *東京健康安全研究センター研究年報*. 2021;72:65-71.
Nagashima M, Kumagai R, Kawakami M, Asakura H, Hayashi M, Nagano M, et al. [Examination of detection method for gene mutation in SARS-CoV-2 using real-time RT-PCR Assay.] *Annual report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health*. 2021;72:65-71. (in Japanese)
- [18] Outbreak. info. <https://outbreak.info/> (accessed 2022-08-28)
- [19] 長島真美. 東京都における新型コロナウイルス変異株(オミクロン株)スクリーニング検査について. *東京都微生物検出情報*. 2021;42(12):7-8.
Nagashima M. [Tokyo ni okeru shingata coronavirus henikabu (Omicronkaba) screening kensa ni tsuite]. *Infectious Agents Surveillance Report*. 2021;42(12):7-8. (in Japanese)
- [20] 東京都福祉保健局. 令和2年度第39回東京都衛生検査所精度管理事業報告書. 2022. p.36-245.
Bureau of Social Welfare and Public Health, Tokyo Metropolitan Government. [Reiwa 2 nendo dai 39 kai Tokyoto Eisei Kensajo seido kanri jigyo hokokusho.] 2022. p.36-245. (in Japanese)
- [21] Suzuki R, et al. *Nature*. 2022;603:700-705. doi: 10.1038/s41586-022-04462-1
- [22] 藤井慶樹, 福永愛, 山木戸聡, 則常浩太, 兼重泰弘, 坂本綾. 新型コロナウイルス感染症患者からのウイルス分離状況—感染性の評価—. *IASR*. 2020;41(9):171-172.
Fujii Y, Fukunaga A, Yamakido S, Noritsune K, Kane-shige Y, Sakamoto A. [New coronavirus kansensho kanja kara no virus bunri jokyo: kansen sei no hyoka.] *IASR*. 2020;41(9):171-172. (in Japanese)
- [23] 小澤広規, 井上嵩之, 櫻井光, 川上千春, 清水耕平, 宇宿秀三, 他. 環境水調査による新型コロナウイルスの下水からの検出. *IASR*. 2020;41(7):122-123.
Ozawa H, Inoue T, Sakurai H, Kawakami C, Shimizu K, Usuku S, et al. [Kankyosui chosa ni yoru shingata coronavirus no gesui kara no kenshutsu.] *IASR*. 2020;41(7):122-123. (in Japanese)
- [24] 蜂巢友嗣, 門倉圭佑, 吉田智也, 太田茉莉, 藤沼裕希, 西嶋陽奈, 他. 患者病日とリアルタイムPCR Ct値の相関について. *IASR*. 2020;41(7):117-118.
Hachisu T, Kadokura K, Yoshida T, Ota S, Fujinuma Y, Nishijima H, et al. [Kanja byojitsu to real time PCR Ct chi no sokan ni tsuite.] *IASR*. 2020;41(7):117-118. (in Japanese)
- [25] 野本竜平, 中西典子, 森愛, 岩本朋忠, 小寺有美香, 尾崎明美. 新型コロナウイルスVOC-202012/01感染者の陰性確認完了までに要した日数とCt値の推移に関する考察. *IASR*. 2020;42(5):101-102.
Nomoto R, Nakanishi N, Mori A, Iwamoto T, Koderia Y, Ozaki A. [Shingata coronavirus VOC-202012/01 kansensha no insei kakunin kanryo made ni yoshita nissu to Ct chi no suii ni kansuru kosatsu.] *IASR*. 2020;42(5):101-102. (in Japanese)