

福岡医発第 1343 号 (地)

令和 3 年 7 月 31 日

各 医 師 会 長      殿

福 岡 県 医 師 会

会 長 松 田 峻一良

(公 印 省 略)

「病原微生物検出情報（2021年7月号）」の送付について

標記の件につきまして、日本医師会感染症危機管理対策室より、別紙のとおり情報提供がありましたのでお知らせいたします。

また、本病原微生物検出情報は、下記の国立感染症研究所のホームページに掲載されておりますので、ご参照ください。

記

国立感染症研究所ホームページ

U R L : <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html>

---

小郡三井医師会より

感染症対策担当理事 橋本朋也

会長 島田昇二郎

(健Ⅱ218)

令和3年7月19日

都道府県医師会

感染症危機管理担当理事 殿

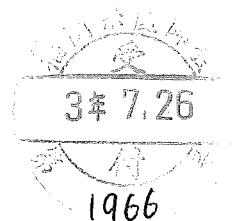
日本医師会感染症危機管理対策室長

釜 范 敏

「病原微生物検出情報」の送付について

「病原微生物検出情報」の2021年7月号＜特集：新型コロナウイルス感染症(COVID-19)2021年5月現在＞をお送りいたしますので、ご査収の程よろしくお願い申し上げます。

なお、本病原微生物検出情報は、国立感染症研究所のホームページ(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html>)に掲載しておりますので、管下郡市区医師会等に対する周知方ご高配下さいますよう、お願い申し上げます。



# 病原微生物検出情報

月報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>

関西地域を中心とした SARS-CoV-2 アルファ株関連症例の特徴とゲノム解析情報を含めた疫学調査の重要性 (2021年3月時点) 3, 宮崎県で発生した SARS-CoV-2 のクラスターにおける分子疫学調査 5, 沖縄県における COVID-19 の感染者発生状況と PANGO lineage の変遷 7, SARS-CoV-2 検出法 (感染研法) の現状と変異ウイルス (VOC) への対応力 9, 新型コロナワクチンの副反応 11, COVID-19 患者における中和抗体の特性 13, COVID-19 (新規変異株) の積極的疫学調査 (第2報) 14, 関東地方で初めて感染が確認された SFTS の 1 例 16, SARS-CoV-2 の N501Y 変異と E484K 変異の同時スクリーニングのための工夫 秋田県 18, NESID 病原体検出情報に報告された COVID-19 または疑い症例から検出された病原体 20

Vol.42 No. 7 (No.497)

2021年7月発行

国立感染症研究所  
厚生労働省健康局  
結核感染症課

事務局 感染研感染症疫学センター

〒162-8640 新宿区戸山 1-23-1

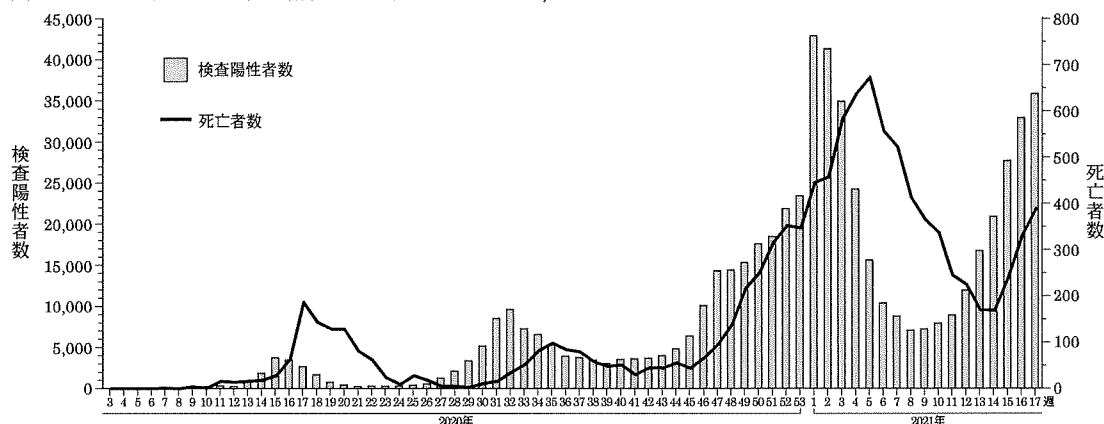
Tel 03 (5285) 1111

(禁、無断転載)

本誌に掲載された統計資料は、1) 「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく感染症発生動向調査によって報告された、患者発生および病原体検出に関するデータ、2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された：保健所、地方衛生研究所、厚生労働省医薬・生活衛生局、検疫所。

## ＜特集＞ 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 2021年5月現在

図. COVID-19 週別 PCR 検査陽性者数と死亡者数の推移, 2020年第3週～2021年第17週



厚生労働省オープンデータ (<https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/open-data.html>) の陽性者数、死亡者数を基に作成 (2021年5月6日アクセス)、データの集計方法はオープンデータに記載のとおり

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の原因ウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) は、コロナウイルス科ベータコロナウイルス属に分類され、約30,000塩基からなる1本鎖・プラス鎖RNAゲノムを持つ。受容体 (アンジオテンシン変換酵素II: ACE2) を使ってヒトの細胞に吸着・侵入する。エンベロープを持ち、アルコール、界面活性剤等により不活化される。

国内外の発生動向: 2019年12月に中国武漢市で発生したCOVID-19は、短期間に世界中に広がり、2020年3月11日には世界保健機関 (WHO) によりパンデミック状態であると発表された。2021年6月1日のWHO COVID-19 Weekly Epidemiological Update (2021年5月30日時点) によれば、累計患者数169,604,858人、累計死亡者数3,530,837人と報告されている (<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--1-june-2021>)。

国内においては、厚生労働省 (厚労省) のオープンデータ (<https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/open-data.html>) によると、2020年1月16日に最初の患者が確認されて以来、2021年5月2日 (2021年第17週) までに検査陽性者 (陽性者) 数598,298人、死亡者数10,358人が報告されている (図)。2020年4月以降

COVID-19は繰り返し流行し、2021年3月中旬頃に再度検査陽性者と入院治療等を要する患者数が増加し始め、3月下旬からは重症者数も増加し、医療提供体制の逼迫が深刻化した。政府は2021年4月5日以降、東京都、大阪府等1都、2府、7県において、まん延防止等重点措置を開始した。さらに4月25日には、東京都、大阪府等1都、2府、1県に対して、より強力な施策として緊急事態宣言を発出、その後、愛知県、北海道、沖縄県等1道5県にも発出した。

厚労省の「新型コロナウイルス感染症の国内発生動向 (速報値)」: 2021年5月26日18時時点 (<https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000785178.pdf>) によると、陽性者の男女比 (男/女) は1.2、陽性者全体に対する年齢階級ごとの陽性者の割合は20代 (22.2%)、次いで30代 (14.9%)、40代 (14.4%)、50代 (13.1%)、60代 (8.5%)、70代 (7.5%)、80代以上 (7.4%)、10代 (7.3%)、10歳未満 (3.2%) の順であった (不明・調査中・非公表の1.4%を除く)。各年齢階級別人口を考慮しても、他の年代と比較して、20～30代の陽性者数が多い。各年齢階級別にみた死亡者数の陽性者数に対する割合は80代以上で13.2%、70代で4.8%、60代で1.3%、50代で0.3%、40代で0.1%、30代以下は0.0%であった。80代以上の陽性者数は全陽性者数の7.4%であったが、死亡者数は全死

(2ページにつづく)

(特集つづき)

亡者数の64.7%を占めた(小数点以下第2位四捨五入)。

ゲノムサーベイランスと感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される変異株の出現: 国内においては、COVID-19発生初期からSARS-CoV-2のゲノムサーベイランスが行われている(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/basic-science/467-genome/9586-genome-2020-1.html>)。国立感染症研究所(感染研)、地方衛生研究所(地衛研)、検疫所等では協力してウイルスゲノム解析を実施しウイルスゲノム情報を使用したクラスター対策(本号3&5ページ)や疫学情報と併せてのモニタリング(本号7ページ)に活用されている。

2020年末から、感染・伝播性、重症度および抗原性等に影響を与える可能性がある遺伝子変異を有するSARS-CoV-2変異株の出現が問題となっている。特に英国で最初に検出されたB.1.1.7系統(アルファ株)、南アフリカで最初に検出されたB.1.351系統(ベータ株)、ブラジルからの帰国者において日本で最初に検出されたP.1系統(ガンマ株)、インドで最初に検出されたB.1.617.2系統(デルタ株)の流行が世界的に懸念されている。これら変異株に対する対策として、わが国ではゲノムサーベイランスを強化した。検疫においては、入国者の陽性例全例に対してウイルスゲノム解析を試み、また、国内においては、地衛研がB.1.1.7系統(アルファ株)、B.1.351系統(ベータ株)、P.1系統(ガンマ株)に認められるN501Y変異をスクリーニングできる核酸検査(PCR法)を実施し、陽性例は地衛研または感染研でウイルスゲノム解析を行っている。

国内では、2020年末からB.1.1.7系統(アルファ株)が海外から流入、クラスターが散発し、この対策が行われてきた(本号3ページ)が、N501Y変異を有するB.1.1.7系統(アルファ株)の報告数と割合が全国で増加傾向となった。

変異株の出現については、感染・伝播性、重症度および抗原性等の表現型の評価に加えて、既存の核酸検査(PCR法など)で検出可能か等も継続して検討していく必要がある(本号9ページ)。

治療、ワクチン: COVID-19に対しては、わが国では重症度等に応じて、レムデシビル、デキサメタゾンが承認されて使用されてきたが、2021年4月23日にパリシチニブ〔ヤヌスキナーゼ(JAK)阻害剤〕が追加承認となった〔新型コロナウイルス感染症(COVID-19)診療の手引き・第5版〕。中等症Ⅱ以上では抗凝固薬であるヘパリンが併用されている。また、国内外で、多くの薬剤が開発段階にある。

COVID-19に対するワクチン(新型コロナワクチン)の開発・導入が急速に進み、いくつかのワクチンはランダム化比較試験において高い有効性(vaccine efficacy)、安全性が示された。2021年5月現在、日本ではファイザー社製、モデルナ社製、アストラゼネカ社製のワクチンが承認されている。首相官邸のウェブ

サイト(<https://www.kantei.go.jp/jp/headline/kansensho/vaccine.html>)によると、2021年6月1日までに2回接種終了者は、医療従事者314万人、高齢者47万人(合計361万人:国民の約2.9%)である。ワクチン有効性と安全性の継続的なモニタリングは今後とも必須であり、国内での接種開始と同時に副反応モニタリングが開始されている(本号11ページ)。

今後の課題: ワクチン接種が先行している諸外国の一部では、感染対策の緩和なども行われつつある。こうした中で、COVID-19に対する課題としては、以下が挙げられる。

まず、ワクチン効果の持続期間の検討である。各国で既に使用が開始されているワクチンの有効性を評価したランダム化比較試験の追跡期間は、2回目接種後から2カ月程度と短く、盲検も早期に解除されている。免疫の減衰や感染対策の緩和により影響を受ける可能性がある実社会におけるワクチンの有効性(vaccine effectiveness)を経時的に評価する必要がある。

次に、国内外で臨床試験・前臨床試験段階にある新型コロナワクチンの開発と評価である。今後は、各国で使用されているワクチンで付与される免疫(液性免疫や細胞性免疫等)のレベルを基に、感染や発症からの防御に必要とされる免疫のレベルを推定し、これを有効性評価の一基準として用いることが検討されている。WHOは、英国National Institute for Biological Standards and Controlとともに、SARS-CoV-2に対する抗体の国際標準品を作製し、分配しているが、これによって各臨床試験における抗体測定系がある程度標準化されることが望まれる(本号13ページ)。中長期的にはブースターワクチンが必要になる可能性がある中で、安全で有効なワクチンの継続的な開発により、ワクチン忌避を減らし、複数の有効なワクチンが存在することで新規に出現した変異株に、より対応しやすくなり、主に先進国と途上国の間で問題となっている新型コロナワクチンのワクチンギャップがより狭まる可能性もある。

最後に、抗原性が変化した変異株の出現である。これに対しては、流行を抑制することによりウイルスが変異する機会を減らすとともに、ゲノムサーベイランスによる早期の探知と対応が必要である。検疫においても、海外からの変異株の流入を防ぐ、または遅らせる継続的な対策・監視・対応が重要である。また、再感染例やブレイクスルー感染(ワクチン接種後感染)においては、免疫を逃避するウイルスが選択される可能性もあり、こうした感染例のモニタリングや原因究明も必要となる。このような課題がある中で、ワクチンで感受性者を減少させるとともに、感染源・感染経路を意識しながら、いわゆる「3密」の回避、物理的距離の保持、マスクの着用、手指衛生等の感染対策の継続的な遵守が求められる。

## ＜特集関連情報＞

## 関西地域を中心としたSARS-CoV-2アルファ株関連症例の特徴とゲノム解析情報を含めた疫学調査の重要性 (2021年3月時点)

2020年11月に英国で新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の新規変異株 VOC-202012/01 (アルファ株) が報告されて以降、同株は全世界的に拡大した。国内では国立感染症研究所 (感染研) 病原体ゲノム解析研究センターが中心となり、各自治体で採取された検体を中心にゲノム検査・解析を実施しており、2020年12月25日に検疫で、英国帰国者からアルファ株が初めて

検出された<sup>1,2)</sup>。2021年1月以降、地方衛生研究所 (地衛研) や民間検査所を中心に、N501Y 変異株PCR スクリーニング (スクリーニング) が実施され、スクリーニング陽性となった検体の多くが感染研や一部の地衛研でゲノム検査に供されてきた。2021年1～2月にかけて多くの自治体では過去に採取された検体を遡り、スクリーニング、ゲノム検査が実施された。その中で関西地方を中心に、2020年9月20日に英国で採取されたアルファ株とゲノム配列が完全一致する株や、同株由来と考えられた株の検出が相次いだ。自治体間での同一株由来ウイルスの伝播が示唆されたため、感染研では同ウイルスが検出された自治体に協力

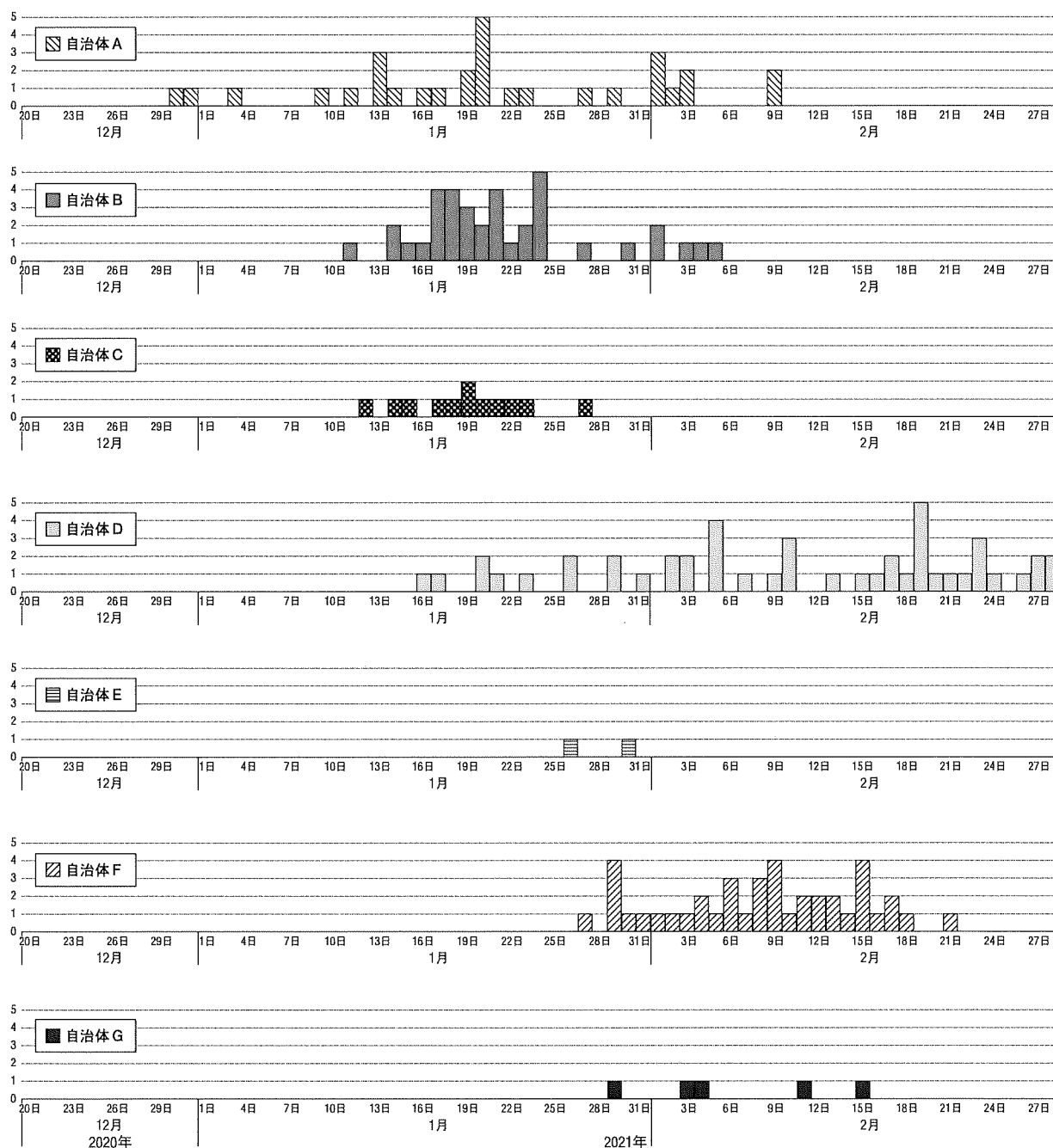


図. 自治体別 VOC-202012/01 (アルファ株) 関連症例発生状況

を仰ぎ、各保健所でアルファ株に特徴的な疫学情報の収集、発生状況に関する広域的な疫学調査を実施した。

協力8自治体（保健所設置主体による）の保健所が調査を行ったSARS-CoV-2感染症例のうち、2021年3月9日時点で探知された以下の条件に合致するものをアルファ株関連症例と定義した。①ウイルスゲノム検査（感染研・一部地衛研で実施）によりアルファ株の感染であることが確認された者。②スクリーニング（主に地衛研等で実施）により陽性が確認された者のうち①と疫学的リンクがある者。③周囲の積極的疫学調査により、①②と疫学的リンクがあり、アルファ株感染の蓋然性が高いと判断された者。本報告では中核市を都道府県事例とし、全7自治体としてまとめた。発症日等の疫学情報は各保健所の調査情報に基づく。

探知症例207例のうち、ゲノム検査で配列が確定した例は72例（34.8%）であった。うち2020年9月に英国で初めて見つかったアルファ株とゲノム配列が完全一致する株、もしくは同株と数塩基異なる株が検出されたのは39例（一部は調査中にゲノム配列が確認できなかった）であった。自治体Aでは2020年12月末に発症した2症例が探知されていた。同時に複数症例が発症しており、探知されていない感染源がこれ以前にあった可能性があった（前ページ図）。各自治体の初発症例を中心に、自治体間での疫学的リンクについて調査を行ったが、多くは関連不明であった。集団発生の多くは家庭内や会食等に関連したものであったが、高等学校や医療機関など施設での集団発生もあった。複数の集団発生が確認された自治体もあったが、集団間のリンクが不明のこともあり、市中で探知できていない感染伝播が起きていた可能性があった。大半の事例が自治体によるクラスター対応に伴い終息したことは特筆すべき点である。

207例のうち男性が118例（57.0%）と女性よりやや多く、10代が72例（34.8%）と他の年代より多かったが、これは複数の高等学校での集団発生の影響が考えられた。有症状者は174例（84.1%）と従来株86.1%と大きく変わらなかった。重症者（人工呼吸器使用）と死亡者は合わせて6例（2.9%）と従来株3.5%と大きく変わらなかった<sup>3)</sup>（表）。なお、20歳未満の無症状者の割合は24.4%（積極的疫学調査で探知された症例を含む）とアルファ株の海外報告（18歳以下33.3%）、従来株の国内報告（20歳未満26.4–66.6%）と比べるとやや低く、有症状者が多かった<sup>4–6)</sup>。

接触状況や発症日から感染伝播の判明した33ペアのデータから算出した、シリアルインターバル（一次症例の発症から二次症例の発症までの期間）は平均4.3日（95%信頼区間：3.5–5.2日）と従来株の平均5.2日と比較して短かった<sup>7)</sup>。ただし、同一家庭内で感染

表. VOC-202012/01（アルファ株）関連患者属性

|       |             | VOC-202012/01株<br>関連患者 (n=207) |           |
|-------|-------------|--------------------------------|-----------|
|       |             | n                              | %         |
| 性別    | 女性          | 89                             | 43        |
|       | 男性          | 118                            | 57        |
| 年齢(歳) | 中央値 [四分位範囲] | 32                             | [17.5–50] |
| 年齢群   | 10歳未満       | 14                             | 6.8       |
|       | 10代         | 72                             | 34.8      |
|       | 20代         | 15                             | 7.2       |
|       | 30代         | 15                             | 7.2       |
|       | 40代         | 37                             | 17.9      |
|       | 50代         | 16                             | 7.7       |
|       | 60代         | 11                             | 5.3       |
|       | 70代         | 12                             | 5.8       |
|       | 80代         | 12                             | 5.8       |
|       | 90代         | 3                              | 1.4       |
|       | 100代        | 0                              | 0         |
| 症状    | 有症状         | 174                            | 84.1      |
|       | 無症状・不明      | 33                             | 15.9      |
|       | 非侵襲的陽圧換気    | 2                              | 1         |
|       | 人工呼吸器       | 4                              | 1.9       |
|       | 死亡          | 2                              | 1         |

したと考えられる複数ペアを含む。また、同居家庭内で接触者調査が実施された44世帯（接触者136人、1世帯平均3.1人）では、家庭内の二次感染率は40.5%（95%信頼区間：20.8–52.4%）（陽性者51人、1世帯平均1.2人）と、従来株（12.9–16.6%：二次発症率含む）と比較して高かった<sup>8,9)</sup>。ただし、家庭内でどのような感染対策がされていたか等の接触状況の詳細は不明である。過去の報告と、症例数や季節、環境等様々な条件の違いがあるため、結果の解釈には十分な注意が必要であるが、すでに報告されているように、アルファ株の感染性や伝播のしやすさが影響を与えている可能性があった。

今回、2020年の12月末にはすでに関西地方にアルファ株感染者がいたことが示唆された。アルファ株検出症例だけでなく、保健所の疫学調査情報を基に疫学的リンクからアルファ株感染である蓋然性の高い症例を含めて情報収集することは、すべての変異株検査が実施されない状況で、変異株全体の疫学的特徴を捉えるために有効である。また、ゲノム解析情報を用いることで、疫学調査だけでは探知しにくい新たなリンクが推定される事例もあり、リンク特定の補助になったと考えられる。可能な限り事例探知早期からゲノム解析情報を考慮し、自治体間で疫学情報を共有することは効果的であると考えられた。2021年3月半ば頃より、アルファ株は国内で急激に増加したが、それまでの期間、変異株であっても、各自治体によって行われたクラスター対策は地域流行を抑制する上で有効に機能していたと考える。各自治体の協力のもと、把握している症例のゲノムを含めた情報を広域的な視点からどのように共有し対応に活かすか、本格的な流行の前段階でいかに効果的な面の対策を行えるか、は今後の

緊急の課題であると考えられた。

本調査にご協力いただきました自治体、保健所関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 感染性の増加が懸念される SARS-CoV-2 新規変異株について (第 2 報)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/10084-covid19-28.html>
- 2) 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 ゲノム情報による分子疫学調査 (2021 年 1 月 14 日現在)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/10152-493p01.html>
- 3) 新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査の結果について (第 2 回) (2020 年 10 月 5 日時点: 暫定)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9994-490p01.html>
- 4) Brookman S, *et al.*, Lancet Child Adolesc Health, 2021, DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(21\)00030-4](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(21)00030-4)
- 5) Field Briefing: Diamond Princess COVID-19 Cases, <https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/9407-covid-dp-fe-01.html>
- 6) NESID に届出された 20 歳未満の新型コロナウイルス感染症例のまとめ (2020 年 2 月 1 日～5 月 28 日)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/covid-19/9853-covid19-22.html>
- 7) Rai B, *et al.*, Clin Epidemiol Glob Health 9: 157-161, 2021
- 8) 久場由真ら, IASR 41: 173-174, 2020
- 9) Madewell ZJ, *et al.*, JAMA Netw Open 3 (12): e2031756, 2020

国立感染症研究所

感染症疫学センター

小林祐介 鈴木 基

実地疫学専門家養成コース (FETP)

鵜飼友彦 太田雅之

実地疫学研究センター

八幡裕一郎 神谷 元

砂川富正

大東文化大学スポーツ・健康科学部

中島一敏

滋賀県健康医療福祉部医療政策課

感染症対策室

村井晋平

滋賀県衛生科学センター

鈴木智之

大阪健康安全基盤研究所

柿本健作

京都市保健所

池田雄史

神戸市環境保健研究所

(現: 健康科学研究所)

COVID-19 検査チーム

野本竜平 中西典子

森 愛 岩本朋忠

飯島義雄

神戸市保健所

小寺有美香 尾崎明美

伊地智昭浩

徳島県徳島保健所

佐藤純子

#### <特集関連情報>

#### 宮崎県で発生した新型コロナウイルスのクラスターにおける分子疫学調査

##### はじめに

宮崎県では 2020 年 3 月 4 日に新型コロナウイルス感染症患者が初めて確認され、2021 年 5 月 31 日までに 3,025 例の検査陽性例が報告されている。今回、2021 年 2 月末までに報告された 1,947 例のうち 196 例について、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター (病原体ゲノム解析研究センター) に陽性検体を提出し、その解析結果から宮崎県単独のハプロタイプ・ネットワーク図を作成した。さらに、ネットワーク図と積極的疫学調査で得られた疫学情報を照らし合わせることで、若干の知見が得られたので報告する。

##### 対 象

- (1) 2020 年 3 月～2021 年 2 月までに宮崎県で発生した事例のうち、宮崎県 8 保健所および宮崎市保健所管轄から収集され、病原体ゲノム解析研究センターで解析できた Ct 値 32 未満の 196 検体
- (2) Ct 値が高い等の理由により、病原体ゲノム解析研究センターで解析できなかった事例および検体未提出である事例のうち、疫学情報から同一クラスターもしくは同一グループに属すると推定される 240 事例

なお、2020 年 11 月～2021 年 2 月までの第 3 波に関しては、クラスター事例のみを対象とした。

##### 方 法

病原体ゲノム解析研究センターで解析できた 196 検体について、ハプロタイプ・ネットワーク図を作成した。また、解析は実施していないが、疫学情報から同一クラスターもしくは同一グループに属すると推定される事例も同じゲノム・クラスター群として数に含めた (次ページ図 1)。さらに、ネットワーク図における各ゲノム・クラスター群の構成要素について疫学情報を基に調査を行った (次ページ図 2)。

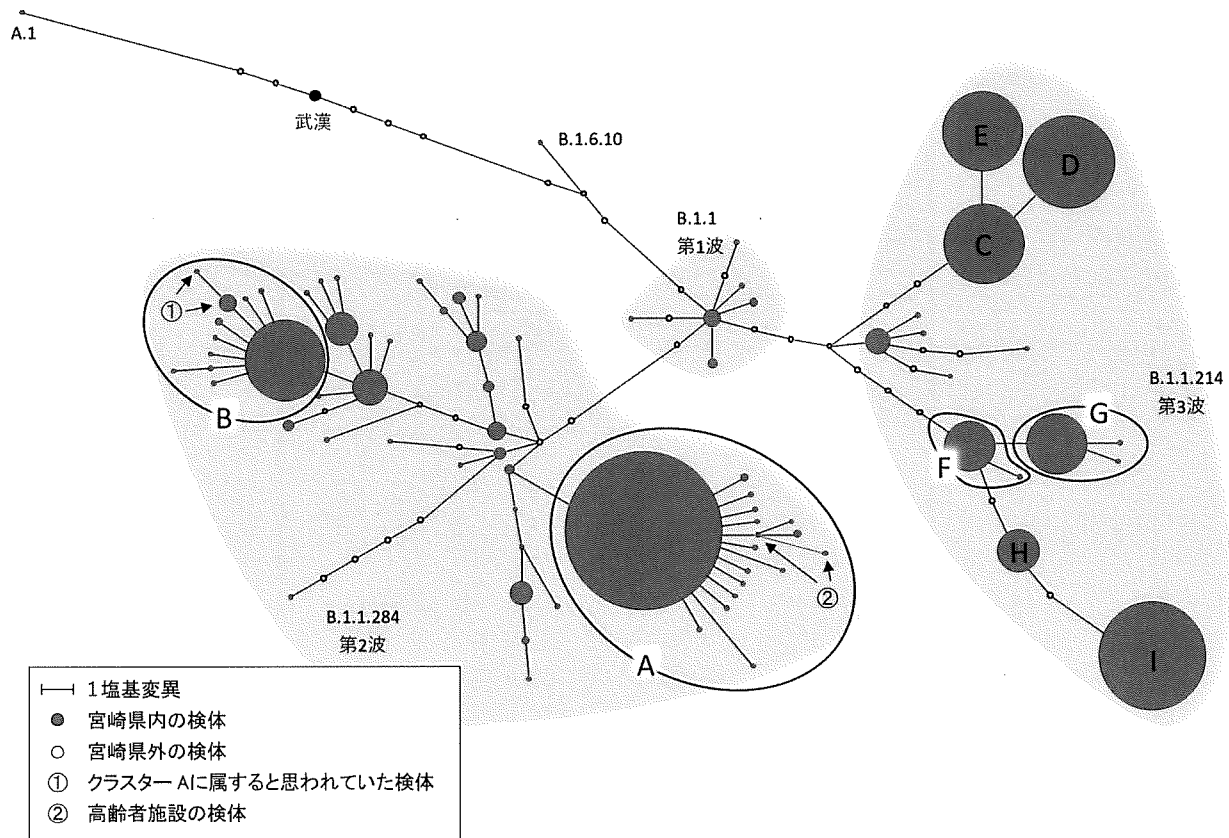
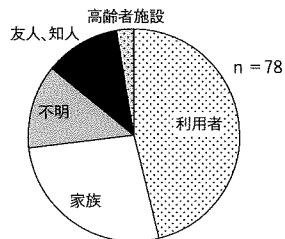
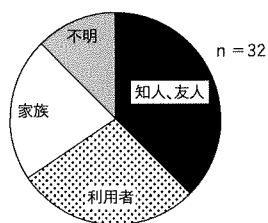


図1. 宮崎県のハプロタイプ・ネットワーク図

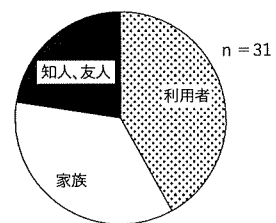
A : 接待を伴う飲食店クラスター



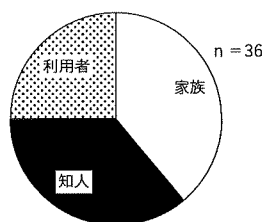
B : 接待を伴う飲食店クラスター



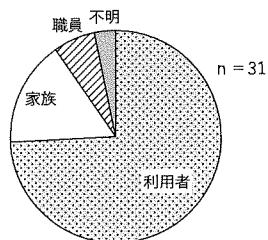
C : スポーツ施設クラスター



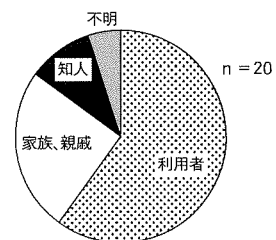
D : スポーツ施設クラスター



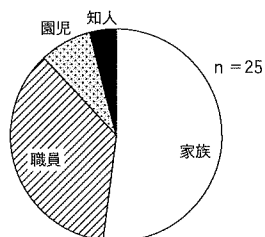
E : 高齢者施設クラスター



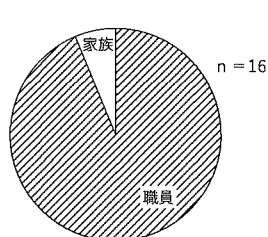
F : カラオケクラスター



G : 教育・保育施設クラスター



H : 職場クラスター



I : 教育・保育施設クラスター

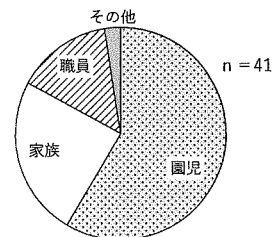


図2. 各ゲノム・クラスター群の構成要素

## 結果および考察

2020年3～4月の第1波は主にPangolin系統B.1.1, 2020年7～9月の第2波は主にB.1.1.284, 2020年11月～2021年2月の第3波はB.1.1.214のみに属しており<sup>1)</sup>, 大きくA-Iの9つのクラスターに分類された。

クラスターA, Bは別々の保健所管内で発生した接待を伴う飲食店関連事例で、いずれも感染経路不明者が他のクラスターに比べ多く含まれており、行政の介入による積極的疫学調査が重要であると考えられた。また、クラスターB内①の矢印は、管轄保健所関係からクラスターAに属すると思われていたが、ネットワーク図ではBに属しており、ゲノム解析の有用性を確認できた。

クラスターC, Dはスポーツ施設、クラスターEは高齢者関連施設で、いずれも同じ保健所管内で同じ時期に発生していたことから、ゲノム情報と一致して関連性が高い可能性が示唆された。

クラスターFはカラオケ関連事例で、探知後にクラスターGの教育・保育施設で発生が認められたため、ゲノム情報からの推測ではあるが、カラオケクラスターから感染が拡大したものと考えられた。

クラスターA内②の矢印とクラスターEは高齢者施設、クラスターGとIは教育・保育施設で、いずれもネットワーク図の末端に位置しており、高齢者施設や教育・保育施設はクラスターが発生しやすく規模が大きくなりやすいものの、そこから感染が拡大するリスクは低いものと推測された。また、これらの高齢者施設クラスター発生前には接待を伴う飲食、スポーツ施設関係、カラオケ等のクラスターが先に探知され、ゲノム情報が示すネットワーク図から、感染拡大防止のためには、これら施設に感染が広がる前にいかに行政が介入していくかに加え、疫学情報の充実が望まれる。

今回の調査で、発端者が医療機関を受診して陽性とされた事例では、各ゲノム・クラスター群の構成要素が正確に反映されていないものもあり、疫学情報の収集に課題があると考えられた。また、当所が収集した疫学情報も不足している部分が多く、関連性が不明な部分もあったことから、各保健所との緊密な連携と情報共有も重要だと思われた。

## おわりに

クラスター発生時には保健所の業務が逼迫することとなり、積極的疫学調査が困難になることがある。ゲノム解析を実施することで得られる知見も多く、保健所が実施する積極的疫学調査の補助にもなると考えられることから、今後も引き続き調査を進めたいと考えている。

今回、主にクラスターを中心に調査を実施したが、自施設で散発事例も含めて調査することで、迅速に、より多くの検体を解析することが可能になると考えられた。また、変異株の出現に伴う医療現場の逼迫も問題になっていることから、迅速な変異株の探知の観点

からもゲノム解析が重要になると考えられる。

## 引用文献

1) 関塚剛史ら, IASR 42: 61-64, 2021

宮崎県衛生環境研究所

三好めぐみ 宮原加奈

西田倫子 三浦美穂

吉野修司 杉本貴之

藤崎淳一郎

国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター

黒田 誠 関塚剛史

協力施設

中央保健所 日南保健所

都城保健所 小林保健所

高鍋保健所 日向保健所

延岡保健所 高千穂保健所

宮崎市保健所

## &lt;特集関連情報&gt;

## 沖縄県における新型コロナウイルス感染症の感染者発生状況とPANGO lineageの変遷

沖縄県において、2020年2月14日に新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の感染者が初めて確認されて以降、2021年4月20日現在までに感染者11,652人、死者130人が報告されており、100万人当たりの感染者数は8,019.3人で全国2位である。今回、2020年2月14日～2021年4月20日における本県のCOVID-19感染者発生状況と国立感染症研究所における全ゲノム解析によって得られた1,324症例分のPANGO lineageの変遷について報告する。なお、感染者発生状況、PANGO lineageは検査確定日を基準として次ページ図に示した。

## 第1波(2020年第13週～第18週)

感染者数は2020年第13週より増加し、第16週においてピークとなった。4月20日に県独自の緊急事態宣言が発出されて以降減少し、4月30日(第18週)以降、新規感染者の発生はなくなった。PANGO lineageはB.1.1というヨーロッパ由来の系統と、そこから派生したB.1.1.48という日本独自の系統が大部分を占めていた。

## 第2波(2020年第28週～第38週)

2020年7月8日(第28週)に69日ぶりの感染者が確認され、以降7月の4連休後に繁華街での接待を伴う飲食店を中心に感染者が急激に増加し、8月1日には2回目となる県独自の緊急事態宣言が発出された。第32週でピークを迎え、その後減少したが、感染者数は下げ止まった。PANGO lineageは第2波のピーク期にはB.1.1.284が大部分を占めたが、第35週にB.1.1.214が新たに検出されると、第2波から第3波発生前までその割合は増減した。全国では、本県に先行して6～

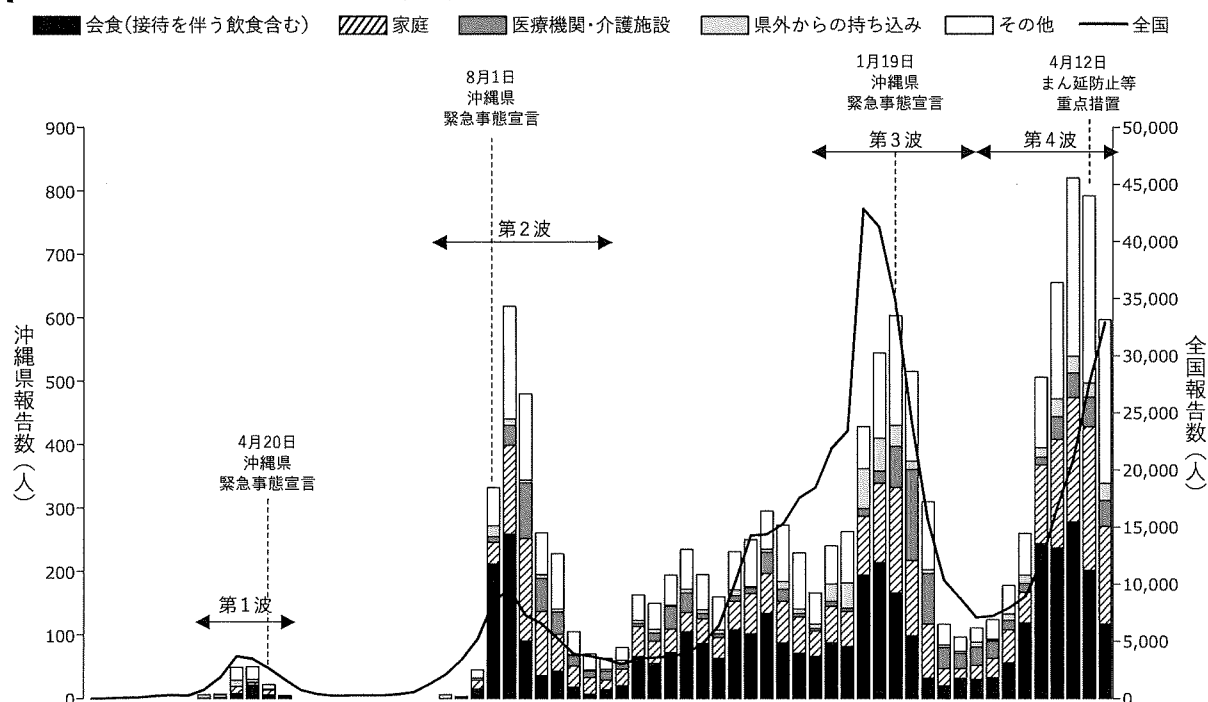
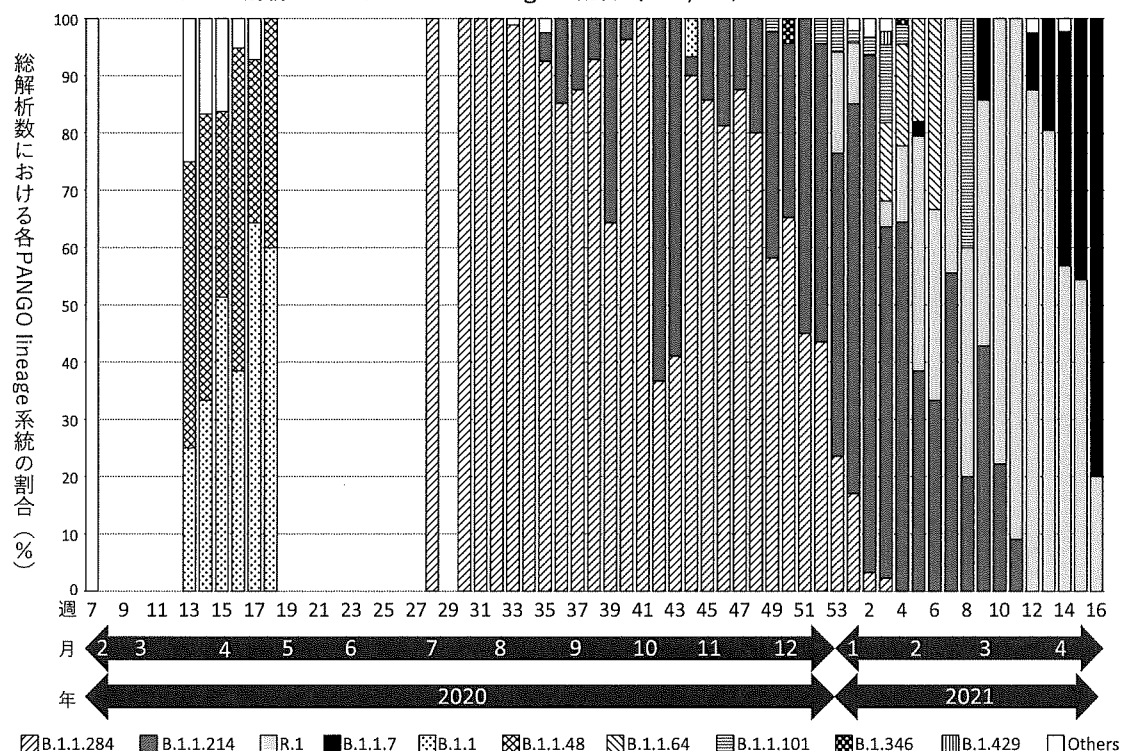
**A** 沖縄県のCOVID-19感染者数 (n=11,652, 感染場所別)**B** SARS-CoV-2全ゲノム解析におけるPANGO lineageの割合 (n=1,324)

図. 沖縄県における検査確定日別COVID-19の流行状況とPANGO lineageの変遷 (2020年第7週～2021年第16週)

9月にB.1.1.284が主流となり、10月以降はB.1.1.214が主流となった<sup>1)</sup>。

## 第3波 (2020年第51週～2021年第7週)

2020年末より感染者数が増加し、全国に2週間遅れた2021年第3週にピークを迎え、1月19日の県独自の緊急事態宣言(3回目)の発出後、急速に減少した。PANGO lineageはB.1.1.214が主流を占めていたが、

第53週に初めて検出されたR.1が第3波後期にかけてその割合を増加させた。R.1は、同時期に関東、東北を中心に検出された系統である<sup>2)</sup>。また、2020年第50週と2021年第4週にB.1.346が2例検出された。B.1.346は同時期に全国で散発的に検出されており、海外からの流入が疑われたが<sup>3)</sup>、2例とも海外渡航歴はなく、うち1例は県外での感染が疑われた。2021年

第3週には海外渡航歴のない1症例からB.1.429が検出された。B.1.429は米国カリフォルニア州で多く検出されており、日本の検疫でもこれまで米国やメキシコからの入国者で検出されていたが<sup>2)</sup>、国内では本症例が初検出事例となった。

#### 第4波(2021年第8週～第16週現在)

2021年3月上旬より感染者が増加し、第14週にピークに達し、第15週にはまん延防止等重点措置が適用された。第4波初期ではR.1の割合が急激に増加したが、B.1.1.7 (VOC-202012/01: アルファ株) が2021年2月5日(第5週)検査確定症例から初めて検出され、その後急増し、第16週には7割を超えた。B.1.1.7(アルファ株)は関西を中心に1月下旬～3月にかけて急増し、3月以降は全国的に増加が認められている<sup>1, 2)</sup>。

本県における感染者数は、年度末から年度初め(第1波、第4波)、夏季(第2波)、年末年始(第3波)といった旅行客を含む人の移動が活発になる時期に増加し、緊急事態宣言等の行動制限により急速に減少していた。特に第3波では初期に県外からの持ち込みと考えられる感染が多く、年末年始の帰省等に伴う人の移動による流入が感染者増加の一因であることが推察された。感染場所別では、各波の初期には会食(接待を伴う飲食を含む)の割合が多く、ピーク期には家庭内、医療機関・介護施設での感染者数が増加していた。特に緊急事態宣言、まん延防止等重点措置が適用された後、会食の割合が減少しており、行動制限に一定の効果があることが示唆された。また、各波の初期の感染者流入に伴い、PANGO lineageも新たな系統が流入し、ピーク期ではそれらの系統が主流となっていた。本県のPANGO lineageの構成は全国とおおむね一致しているものの、本県の主たる系統は全国に数週間遅れて変遷していた<sup>1)</sup>。

以上より、疫学的、分子疫学的に本県の感染者増加には人の活発な移動による感染源の流入と、市中から家庭内、院内への感染伝播が関与していることが示唆された。また、新たなPANGO lineageの流入は感染拡大の引き金になる可能性があるため、遺伝子解析によるPANGO lineageを平時からモニタリングすることにより感染拡大の予兆を捉え、感染拡大前に適切な行動制限等の措置をとることが重要であることが示唆された。

今回のCOVID-19対応にご尽力いただいた県内の保健所、医療機関をはじめとする多くの関係者の皆様、国立感染症研究所実地疫学研究センターの砂川富正先生、神谷 元先生、中下愛実先生、同研究所感染症疫学センターの小林祐介先生に深謝いたします。

#### 引用文献

- 1) 第34回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード(令和3年5月12日)資料4・新型コロナウイルス感染症(変異株)への対応等  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/>

0000121431\_00256.html

- 2) 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/diseases/ka/coronavirus/2019-ncov/2484-idsc/10280-covid19-41.html>

- 3) 新型コロナウイルスSARS-CoV-2ゲノム情報による分子疫学調査(2021年1月14日現在)

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/coronavirus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/10152-493p01.html>

沖縄県衛生環境研究所

柿田徹也 久手堅 剛

眞榮城徳之 大山み乃り

久場由真仁 高良武俊

仁平 稔 喜屋武向子

沖縄県感染症情報センター

新垣あや子 具志堅菜央

宮城綾乃 宮城恵子

山内美幸

国立感染症研究所

病原体ゲノム解析研究センター

黒田 誠

変異検出PCR対応班

内木場紗奈 高橋宏瑞

#### <特集関連情報>

#### SARS-CoV-2検出法(感染研法)の現状と変異ウイルス(variant of concern, VOC)への対応力

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2(SARS-CoV-2)の検出はリアルタイムRT-PCR法を用いることが主流である。現在、国立感染症研究所のSARS-CoV-2遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル(Ver.1.1)として、N2セットおよびS2セットによる検出法がウェブサイトで公開されている(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/lab-manual-m/10032-sars-cov-ref2.html>)。リアルタイムRT-PCR法による検出法の性能を維持するためには、用いているプライマー／プローブ配列におけるミスマッチの発生状況を調べ、ミスマッチが生じている場合は、その検出感度への影響を評価することが重要である。SARS-CoV-2の遺伝子配列情報は公的データベースであるGISAID(Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data, <https://www.gisaid.org>)に集約されている。我々はGISAIDに登録済みのデータを利用してミスマッチ検索を行っている<sup>1)</sup>。GISAIDは各国の研究者から任意に配列情報が登録される。従って、各国の解析レベルの差が登録数に反映され、登録数とその由来国に著しい偏りがある。そのため登録データにおけるミスマッチ存在比

表1. 感染研法(N2, S2セット)のプライマー/プローブ配列における代表的なミスマッチと検出感度への影響

| NIID-N2 set                        | Position of mismatches in primer/probe sequence (5' to 3') | 検出感度 (copy numbers) |                               |                               |                               |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                                    |                                                            | Original set        | N2F_C13T was used as F primer | N2F_G16A was used as F primer | N2F_C20T was used as F primer |
| NIID_2019-nCoV_N_F2 (original)     | AAATTTTGGGGACCAGGAAC                                       | 1.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2F_C13T                           | AAATTTTGGGGATCAGGAAC                                       | 140.6               | 7.9                           | N/A                           | N/A                           |
| N2F_G16A                           | AAATTTTGGGGACCAAGAAC                                       | 25.0                | N/A                           | 2.5                           | N/A                           |
| N2F_G16T                           | AAATTTTGGGGACCATGAAC                                       | 4.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2F_C20T                           | AAATTTTGGGGACCAGGAAT                                       | 79.1                | N/A                           | N/A                           | 7.9                           |
| NIID_2019-nCoV_N_R2ver3 (original) | TGGCACCTGTGTAGGTCAAC                                       | 1.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2Rver3_G9A                        | TGGCACCTATGTAGGTCAAC                                       | 7.9                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2Rver3_G11T                       | TGGCACCTGTATAGGTCAAC                                       | 4.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2Rver3_C17T                       | TGGCACCTGTGTAGGTTAAC                                       | 1.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| NIID_2019-nCoV_N_P2 (original)     | ATGTCGCGCATTTGGCATGGA                                      | 1.4                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |
| N2P_G6T                            | ATGTCCTCGCATTTGGCATGGA                                     | 2.5                 | N/A                           | N/A                           | N/A                           |

| NIID-S2 set                    | Position of mismatches in primer/probe sequence (5' to 3') | 検出感度 (copy numbers) |                              |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
|                                |                                                            | Original set        | SF1T18C was used as F primer |
| SARS-CoV2_NIID_S_F1 (original) | CAGTCAGCACCTCATGGTGTA                                      | 2.5                 | N/A                          |
| SF1_T12C                       | CAGTCAGCACCCCATGGTGTA                                      | 0.8                 | N/A                          |
| SF1_T18C                       | CAGTCAGCACCTCATGGCGTA                                      | 44.4                | 2.5                          |
| SARS-CoV2_NIID_S_R3 (original) | AACCAAGTGTGCCATTGTA                                        | 2.5                 | N/A                          |
| SR3_G6A                        | AACCAATGTGTGCCATTGTA                                       | 2.5                 | N/A                          |
| SR3_G8A                        | AACCAGTATGTGCCATTGTA                                       | 1.4                 | N/A                          |
| SR3_G8C                        | AACCAATGTGTGCCATTGTA                                       | 4.4                 | N/A                          |
| SR3_T9C                        | AACCAGTGGGTGCCATTGTA                                       | 4.4                 | N/A                          |
| SARS-CoV2_NIID_S_P2 (original) | TGCTCCTGCCATTTGTCATGATGG                                   | 2.5                 | N/A                          |
| SP2_G2T                        | TGCTCCTGCCATTTGTCATGATGG                                   | 1.4                 | N/A                          |
| SP2_G20T                       | TGCTCCTGCCATTTGTCATATG                                     | 4.4                 | N/A                          |
| SP2_T22C                       | TGCTCCTGCCATTTGTCATGACGG                                   | 4.4                 | N/A                          |

率が、そのまま世界における存在比率を示しているわけではないことに注意が必要である。配列を検索する際は、高品質な配列を得るため「complete」, 「high coverage」, 「low coverage excl」のチェックボックスをチェックし、宿主が「Human」の配列を集めることにしている。得られた配列は、オンラインソフトのMAFFT (version 7, [https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/add\\_fragments.html?frommanual](https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/add_fragments.html?frommanual))<sup>2)</sup>を用いて Wuhan-Hu-1 (GenBank: MN908947) の配列とアライメントを作成し、SEQUENCHER ソフトウェア (Gene Codes, Ann Arbor, MI) を用いてミスマッチを分析している。

2020年末～2021年初めにかけて、SARS-CoV-2の変異ウイルスが世界的に出現し始めた。特に重要な変異はvariant of concern (VOC) と呼ばれるが、国や団体等それぞれで認定が異なる。本稿執筆時点 (2021年5月) では、GISAIDの登録上は4種がVOCとなっている。アルファ株 (B.1.1.7系統, GRY/VOC202012/01) は、2020年11月に英国で出現し、急速に世界に広がっている<sup>3)</sup>。ベータ株 (B.1.351系統, GH/N501Y.V2) は、南アフリカでVOC202012/02とは関係なく独立して出現した<sup>4)</sup>。またガンマ株 (P.1系統, GR/N501Y.V3) は、日本の羽田空港の検疫所でブラジル人旅行者から検出された<sup>5)</sup>。これら3つのVOCの特徴はスパイク (S) タンパク質の501番目のアミノ酸がNからYに置換されていることで、感染力を増加させると考えられている<sup>6)</sup>。またベータ株およびガンマ株は、Sタンパク質の484番目のアミノ酸がEからKに置換しており、患者やワクチン

ン接種者から採取した血清で中和活性の低下がみられた<sup>7,8)</sup>。さらにインドでは、Sタンパク質の452番目のアミノ酸にLからRへの置換を持つデルタ株 (B.1.617系統, G/L452R.V3) が初めて検出され<sup>9)</sup>、この変異によってウイルスの感染力や宿主の免疫回避能力が高まる可能性が指摘されている<sup>10,11)</sup>。本稿では特にこれらVOCにおけるミスマッチに注目し、N2セットおよびS2セットのプライマー/プローブにおける登録数の多い (400以上) ミスマッチの種類とその位置、感度への影響を表1に、それらの存在率を次ページ表2に示した。

すべてのデータではN2セットでは2.49%、S2セットでは1.83%のミスマッチがみられた (表1)。ミスマッチの増幅効率への影響は、変異を導入した合成RNAテンプレートを作製して評価を行った。検出感度に影響のあるミスマッチはN2F\_C20T, N2F\_C13T, N2F\_G16A, SF1\_T18Cであり、分析感度が10-20倍低下したが、その他は10コピー以下の検出感度を維持できおり、検出効率への影響は特になく考えられる (表1)。

N2F\_20Tの登録国のトップは香港 (24.2%) であり、香港からの登録全体 (1,758配列) の37%を占めていた (次ページ表2)。VOCにおけるN2F\_20Tのミスマッチ率は低いものの、N2セットを用いた香港由来の検体の検出には、特に注意が必要であることが示唆された。しかし検出感度に影響するN2F\_G16A, SF1\_T18CもVOCでは存在率が低いことが示された。N501Yを含む3種のVOCにおけるミスマッチ存在率は、全体のデータと比較して低いと言えた。唯一、

表2. GISAID上における代表的なミスマッチの存在率

| NIID-N2 set         | All       |          | アルファ株<br>GRY/VOC202012/01<br>(B1.1.7) |          | ベータ株<br>GH/N501Y.V2<br>(B1.351) |          | ガンマ株<br>GR/N501Y.V3<br>(P.1) |          | デルタ株<br>G/L452R.V3<br>(B1.617) |          | 報告の多い国／地域 (%)        |
|---------------------|-----------|----------|---------------------------------------|----------|---------------------------------|----------|------------------------------|----------|--------------------------------|----------|----------------------|
| Available sequences | 1,066,262 | Rate (%) | 459,145                               | Rate (%) | 11,855                          | Rate (%) | 11,159                       | Rate (%) | 2,777                          | Rate (%) |                      |
| Mismatches          | 26,501    | 2.49     | 6,991                                 | 1.52     | 100                             | 0.84     | 56                           | 0.5      | 26                             | 0.94     |                      |
| N2F_13T             | 601       | 0.06     | 467                                   | 0.1      | 0                               | 0        | 1                            | 0.01     | 0                              | 0        | ドイツ (51.2)           |
| N2F_16T             | 615       | 0.06     | 113                                   | 0.02     | 25                              | 0.21     | 10                           | 0.09     | 1                              | 0.04     | 米国 (30.3)            |
| N2F_16A             | 672       | 0.06     | 63                                    | 0.01     | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 0                              | 0        | 米国 (65.3)            |
| N2F_20T             | 2,038     | 0.19     | 386                                   | 0.08     | 3                               | 0.03     | 1                            | 0.01     | 0                              | 0        | 香港 (24.2)            |
| N2Rver3_G9A         | 1,924     | 0.18     | 663                                   | 0.14     | 31                              | 0.26     | 3                            | 0.03     | 4                              | 0.14     | イングランド (32.8)        |
| N2Rver3_G11T        | 5,552     | 0.52     | 3,117                                 | 0.68     | 8                               | 0.07     | 6                            | 0.05     | 2                              | 0.07     | 日本 (24.2)            |
| N2Rver3_C17T        | 3,859     | 0.36     | 3                                     | 0        | 1                               | 0.01     | 0                            | 0        | 3                              | 0.11     | 米国 (98.7)            |
| N2P_G6T             | 5,711     | 0.54     | 490                                   | 0.11     | 6                               | 0.05     | 8                            | 0.07     | 7                              | 0.25     | 英国 (66.2), 米国 (20.9) |
| NIID-S2 set         | All       |          | アルファ株<br>GRY/VOC202012/01<br>(B1.1.7) |          | ベータ株<br>GH/N501Y.V2<br>(B1.351) |          | ガンマ株<br>GR/N501Y.V3<br>(P.1) |          | デルタ株<br>G/L452R.V3<br>(B1.617) |          | 報告の多い国／地域 (%)        |
| Available sequences | 1,067,339 | Rate (%) | 459,284                               | Rate (%) | 11,901                          | Rate (%) | 11,175                       | Rate (%) | 2,790                          | Rate (%) |                      |
| Mismatches          | 19,504    | 1.83     | 2,533                                 | 0.55     | 78                              | 0.66     | 17                           | 0.15     | 474                            | 16.99    |                      |
| SF1_T12C            | 1,162     | 0.11     | 389                                   | 0.08     | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 0                              | 0        | ドイツ (35.7)           |
| SF1_T18C            | 1,231     | 0.12     | 43                                    | 0.01     | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 0                              | 0        | カナダ (93.0)           |
| SP2_G2T             | 2,818     | 0.26     | 308                                   | 0.07     | 13                              | 0.11     | 8                            | 0.07     | 1                              | 0.04     | 米国 (18.3)            |
| SR3_G8A             | 656       | 0.06     | 205                                   | 0.04     | 0                               | 0        | 1                            | 0.01     | 14                             | 0.5      | 米国 (27.7)            |
| SR3_G8C             | 465       | 0.04     | 1                                     | 0        | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 455                            | 16.31    | インド (61.7)           |
| SR3_T9C             | 467       | 0.04     | 14                                    | 0        | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 0                              | 0        | オランダ (45.8)          |
| SP2_G2T             | 2,818     | 0.26     | 308                                   | 0.07     | 13                              | 0.11     | 8                            | 0.07     | 1                              | 0.04     | 米国 (18.3)            |
| SP2_G20T            | 770       | 0.07     | 110                                   | 0.02     | 0                               | 0        | 1                            | 0.01     | 0                              | 0        | 米国 (19.0)            |
| SP2_T22C            | 5,975     | 0.56     | 13                                    | 0        | 0                               | 0        | 0                            | 0        | 0                              | 0        | デンマーク (98.4)         |

N2Rver3\_G11Tの存在率はB1.1.7変異体で0.68%と全データの0.52%よりも高かったが、N2セットの検出感度への影響はなかった。一方、SR3\_G8Cのミスマッチの割合が高いことは、デルタ株のVOCで特徴的と思われる。SR3\_G8Cのミスマッチの半数以上がインドから登録されており、インドが登録した全配列の22.3% (287/1,228) を占め、デルタ株のミスマッチの17%を占めていた。しかしこのミスマッチは検出感度に影響がなく、S2セットがデルタ株の検出に有効であることを示唆している。

N501Yを含むVOCの登録が今年に入ってから急増し、現時点 (2021年5月) では日々の登録の大半がアルファ株であり、主流のSARS-CoV-2集団がN501Yを含むVOCにとって代わったことを示している。さらにデルタ株がアルファ株にとって代わる予測もあり、今後はこれらVOCの登録配列におけるミスマッチを継続して評価していくことが重要である。

#### 引用文献

- Shirato K, *et al.*, Jpn J Infect Dis, 2021 DOI: 10.7883/yoken.JJID.2020.1079
- Katoh K, *et al.*, Brief Bioinform 20: 1160-1166, 2019
- Davies NG, *et al.*, Science 2021, DOI: 10.1126/science.abg3055
- Tegally H, *et al.*, medRxiv, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640>
- 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> (Accessed 9 Mar 2021)

- Leung K, *et al.*, Euro Surveill 26, 2021
- Jangra S, *et al.*, medRxiv, 2021, doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.26.21250543>
- Wang Z, *et al.*, Nature 592: 616-622, 2021
- Latif AA, *et al.*, India Mutation Report <https://outbreak.info/location-reports?loc=IND> (Accessed 26 May 2021)
- Tchesnokova V, *et al.*, bioRxiv, 2021, doi: <https://doi.org/10.1101/2021.02.22.432189>
- Yadav PD, *et al.*, Clin Infect Dis, 2021, doi: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab411>

国立感染症研究所

ウイルス第三部第五室

白戸憲也

#### <特集関連情報>

##### 新型コロナウイルスワクチンの副反応について

予防接種法に基づく定期の予防接種等における副反応疑い報告制度

日本において、定期の予防接種等における副反応疑い報告制度は予防接種法第12条に定められており、医療機関の開設者又は医師が、定期の予防接種等を受けた者が、それが原因と疑われる症状を呈していると知ったときは、厚生労働大臣に報告を行わなければならない。報告の対象は予防接種法施行規則第5条に規定されており、予防接種ごとに副反応として起こりうる症状を呈した場合や、医師が予防接種との関連性が高いと認める症状であって、入院治療を要するものや死

亡・障害に至る恐れのあるものとされた場合である。医療機関等から医薬品医療機器総合機構 (PMDA) に報告された情報は、厚生労働省および国立感染症研究所に共有され、厚生科学審議会 (予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会) と薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会の合同開催 (審議会) で評価を行う<sup>1)</sup>。この他に、比較的頻度の高い健康状況の変化 (発熱、接種部位の腫れ等) を把握する仕組みとして、予防接種後健康状況調査があり、接種後一定期間の症状・疾病に関して調査・評価が行われる。

#### 新型コロナワクチンと法整備

2020 (令和 2) 年 12 月 9 日に予防接種法及び検疫法の一部を改正する法律 (令和 2 年法律第 75 号) が公布、施行され、新型コロナウイルス感染症にかかわるワクチンは臨時接種に位置付けられた。新型コロナワクチンはこれまでに使用実績がないことから審議体制の強化が検討され、接種開始後は通常より高頻度で審議会を開催し、緊急時にも評価が行われるとされた。副反応疑い報告の対象の症状は、アナフィラキシー (因果関係の有無を問わず、接種後 4 時間以内に発生した場合)、医師が予防接種との関連性が高いと認める症状であり、入院治療を必要とするもの、死亡、身体機能の障害に至るもの、死亡若しくは身体機能の障害に至るおそれのあるものと定められた。また、これまでワクチン接種との因果関係が示されていない症状も含め、幅広く評価を行っていく必要があることから当面の間、以下の症状 [けいれん、ギラン・バレー症候群、急性散在性脳脊髄炎 (ADEM)、血小板減少性紫斑病、血管炎、無菌性髄膜炎、脳炎・脳症、脊髄炎、関節炎、心筋炎、顔面神経麻痺、血管迷走神経反射 (失神を伴うもの)] については規定による副反応疑い報告を積極的に検討するとともに、これら以外の症状についても必要に応じて報告を検討することとされた。

#### 新型コロナワクチンの接種状況と副反応疑い報告

2021 (令和 3) 年 2 月 14 日にファイザー社のコロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン (SARS-CoV-2) (コミナティ筋注) が医薬品医療機器等法に基づいて製造販売承認され、2 月 16 日に政省令が改正され、2 月 17 日から医療関係者への先行接種が、4 月 12 日から高齢者への接種が開始された。5 月 21 日には武田薬品工業株式会社/モデルナ社のコロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン (SARS-CoV-2) (COVID-19 ワクチンモデルナ筋注) が製造販売承認され、5 月 24 日から接種が始まった。5 月 21 日にアストラゼネカ社のコロナウイルス (SARS-CoV-2) ワクチン (遺伝子組換えサルアデノウイルスベクター) (バキスゼブリア筋注) も製造販売承認されたが予防接種法上の接種には位置付けず、使用のあり方については引き続き検討することとされた。

令和 3 年 5 月 26 日に開催された審議会では、5 月 16

日までに 6,112,406 回の接種 (4,380,733 人に接種、うち高齢者に対して 913,245 人) が行われたと報告された<sup>2)</sup>。接種後の死亡例は計 55 例であり、65 歳以上の高齢者は 38 例報告された。個々の症例の評価と集団としてのデータを系統的に検討していくことが重要であるとされ、現時点で、接種体制に影響を与える重大な懸念は認められないとされた<sup>2)</sup>。また、製造販売業者からアナフィラキシーは 943 件 (6,112,406 接種中、ブライトン分類 1-3 は 146 件) 報告されたが、一定頻度でアナフィラキシーが生じることを前提とした対策を継続することとされた<sup>2)</sup>。

順天堂大学医学部臨床研究・治験センター臨床薬理学の伊藤澄信らによる先行接種者健康調査<sup>3)</sup>では、ファイザー社のワクチンを接種した約 2 万人の医療関係者が対象とされ、37.5℃ 以上の発熱は 2 回目の接種で多く (1 回目 3.3%, 2 回目 38.1%), 接種部位反応は 90% 以上 (1 回目 92.9%, 2 回目 91.8%) で報告された<sup>3)</sup>。

#### 日本の副反応疑い報告制度の課題

米国では、ワクチンのモニタリングや安全性評価のためのシステムとして、主に Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) と Vaccine Safety Datalink (VSD) が整備されている。VAERS は自発的な有害事象報告による早期の探知と異常シグナルを検出することを目的としているが、ワクチンと有害事象の因果関係の検証はできない。一方、VSD は、Centers for Disease Control and Prevention (CDC) と 9 つの民間組織のネットワークであり、予防接種歴と医療記録を含むため、特定のワクチンの接種群と非接種群における有害事象の発生率を比較することができる。従って、VAERS で検知した有害事象のシグナルが、当該ワクチンと関連しているのかを VSD により検証することが可能である。日本には VAERS に相当するシステムが存在するが、VSD に相当するシステムは存在しない。副反応疑い報告の情報収集と評価に関する議論は、第 37 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会予防接種基本方針部会<sup>4)</sup> (令和 2 年 1 月 27 日開催) における予防接種施策の見直しでも必要性が議論されているが、日本では予防接種歴と医療機関受診歴などのデータは国、市町村、医療機関が個別に保有しており、連結して解析することは困難である。2009 年の新型インフルエンザワクチン接種の際に課題となった副反応報告制度を拡充して創設された予防接種後副反応疑い報告制度をさらに充実させるとともに、迅速かつ科学的に解析する体制の構築が求められている。

#### 引用文献

- 1) 厚生労働省: 予防接種法に基づく医師等の報告のお願い

[https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou20/hukuhannou\\_houkoku/index.html](https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou20/hukuhannou_houkoku/index.html) (閲覧日: 令和 3 年 5 月 26 日)

- 2) 厚生労働省：第60回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会，令和3年度第8回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同開催）資料1-5  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_18848.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_18848.html)（閲覧日：令和3年5月26日）
- 3) 厚生労働省：第60回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会，令和3年度第8回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同開催）資料2  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_18848.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_18848.html)（閲覧日：令和3年5月26日）
- 4) 厚生労働省：第37回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会予防接種基本方針部会資料3-2  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_09097.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_09097.html)（閲覧日：令和3年5月26日）

国立感染症研究所

感染症疫学センター

奥山 舞 多屋馨子

新井 智 森野紗衣子

新橋玲子 高梨さやか

三輪晴奈 鈴木 基

#### <特集関連情報>

##### COVID-19患者における中和抗体の特性について

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の多様な病態や防御免疫を解明すべく，最新の解析技術を駆使したヒト免疫研究は驚異的なスピードで進められてきた。特に，血液中に含まれる中和抗体は，感染防御能と相関する免疫指標候補として，また感染歴を把握するための1つの指標として，様々な重症度の患者検体を用いて解析されてきた。本稿では，COVID-19患者が獲得する中和抗体に関して，これまでの研究から明らかとなった病態や防御免疫の理解に役立つと思われる基礎情報について，5つの項目に分けて紹介する。

##### 1. 急性期における中和抗体の特徴について

COVID-19患者における中和抗体価は，COVID-19の多様な病態と同様，患者ごとに大きなばらつきがある<sup>1)</sup>。有症患者では発症後平均して10日前後から抗体が陽転化し<sup>2)</sup>，重症度に比例して中和抗体のピーク値が高くなることが知られている<sup>3)</sup>。ただし，急性期の中和抗体価と患者の予後は相関しない一方，抗体当たりの中和比活性（中和抗体の質）が重症患者の予後と相関するとの報告がある<sup>4)</sup>。重症度の高い患者では，炎症促進作用のある糖鎖修飾を受けた抗体の頻度が高く<sup>5)</sup>，特殊な抗体遺伝子を使用する抗体が誘導されるなど<sup>6)</sup>，病態との関連が疑われる抗体の構造的特徴が見出されている。ただし，これらの抗体が実際の病態形成に関与するかどうか，現時点では証明されていない。

##### 2. 回復期における中和抗体の持続性について

当初，COVID-19発症後3カ月以内の中和抗体を解析することで，中和抗体が減衰することに注目が集まった。その後，より長期的に抗体価をフォローアップした研究データの蓄積により，中和抗体の正確な半減期が明らかとなってきた<sup>1)</sup>。今日では中和抗体は二層性に減衰すると考えられており，例えば発症後3カ月程度までは抗体の半減期は短く，それ以降では半減期が長くなる<sup>7)</sup>。中国で実施された抗体フォローアップ研究（感染後9カ月以上）でも，抗体陽性率の大幅な低下は観察されていない<sup>8)</sup>。抗体タンパク自体の半減期はせいぜい2週間程度と短いため，持続的な抗体価の維持は骨髓などに存在する長寿命の抗体産生細胞によって担われる<sup>9)</sup>。今後，この長寿命の抗体産生細胞が，数年以上といった長い期間生存できるかどうかにより，中和抗体の持続性が大きく左右されることになる。

##### 3. 感染防御に必要な中和抗体価について

中和抗体が一定期間維持されることは分かったものの，どれくらいの濃度の中和抗体が感染防御に必要なのか，現時点で得られているデータは実験動物由来のものに限られている。代表的なデータとして，新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染から回復したサルの上清を様々な濃度で別のサルに移入し，感染防御に必要な中和抗体の濃度が解析されている<sup>10)</sup>。その結果，感染前に血液中の中和抗体価が50（IC<sub>50</sub>）以上であると，上気道でのウイルス量が対照群に比べて低下するなどの防御効果が確認されている<sup>10)</sup>。

##### 4. 変異ウイルスへの中和効果について

2021年5月末の時点で，4種類が懸念される変異ウイルスとして分類されている。これら変異ウイルスの免疫逃避に関する情報は，Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ホームページ<sup>11)</sup>に要約されているため，そちらを参照されたい。ただし，免疫逃避能の評価に使用された回復者由来の抗体は，回復後3カ月以内の早期のものが使用されていることに注意が必要である。なぜなら，免疫反応は時間とともに抗体の結合性を成熟させることが可能であり，同一ドナーから発症後の異なる時期に単離されたモノクローナル抗体では，変異ウイルスへの中和活性に経時的な改善がみられることがある<sup>12)</sup>。国内回復者の中和抗体を経時的に解析した研究でも同様な現象が確認されており<sup>13)</sup>，変異ウイルスへの中和抗体を評価する上で，発症からの経過時間を考慮する必要がある。

##### 5. 中和抗体価測定法の国際標準品について

中和抗体の測定法は，用いるウイルスの種類，細胞株，中和力価の確認法に複数の選択肢がある。その結果，各研究グループが使用している測定法は，感度や特異度の点でそれぞれ差異が生じるため，報告された中和抗体の数値を横並びで比較することには注意が必要である。この測定法のばらつきを補正することを

1つの目的として、新型コロナウイルス抗体の国際標準品制定に向けた国際共同研究が実施された。国立感染症研究所を含む15カ国44研究室が参加し、様々な抗体測定法により国際標準品候補の値付けがされた。収集された測定結果を基に、2020年12月10日の世界保健機関（WHO）会議（Expert Committee on Biological Standardization）において新型コロナウイルス抗体の国際標準品が制定された<sup>14)</sup>。この国際標準品は、The National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) から購入可能であり、中和抗体に限らず様々な抗体測定法の物差しとしての活用が期待されている。

#### 参考文献

- 1) Dan JM, *et al.*, Science 371, eabf4063, 2021
- 2) Iyer AS, *et al.*, Sci Immunol 5, eabe0367, 2020
- 3) Seow J, *et al.*, Nat Microbiol 5: 1598–1607, 2020
- 4) Garcia-Beltran WF, *et al.*, Cell 184: 476–488, 2021
- 5) Larsen MD, *et al.*, Science 371, eabc8378, 2021
- 6) Woodruff MC, *et al.*, Nat Immunol 21: 1506–1516, 2020
- 7) Pradenas E, *et al.*, Med 2: 1–8, 2021
- 8) He Z, *et al.*, Lancet 397: 1075–1084, 2021
- 9) Turner JS, *et al.*, Nature, doi: 10.1038/s41586-021-03647-4, 2021
- 10) McMahan K, *et al.*, Nature 590: 630–634, 2021
- 11) 米国CDC  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html>
- 12) Gaebler C, *et al.*, Nature 591: 639–644, 2021
- 13) Moriyama S, *et al.*, Sneak Peak sspn.3831465
- 14) Kristiansen PA, *et al.*, Lancet 397: 1347–1348, 2021

国立感染症研究所

治療薬・ワクチン開発研究センター

森山彩野 安達 悠 高橋宜聖

#### <速報>

#### 新型コロナウイルス感染症（新規変異株）の積極的疫学調査（第2報）

（web版速報掲載日：2021年6月18日）

#### 目的

本調査は、厚生労働省健康局結核感染症課名にて協力依頼として発出された、感染症法第15条第2項の規定に基づいた積極的疫学調査（健感発0315第3号、令和3年3月15日、<https://www.mhlw.go.jp/content/000753875.pdf>）に基づいて集約された、医療機関から寄せられた新型コロナウイルス感染症（COVID-19）新規変異株患者の疫学情報・臨床情報に関する報告である。第1報として、2021（令和3）年4月23日に記述

疫学を報告した<sup>1)</sup>。第2報ではVOC-202012/01〔B.1.1.7系統の変異株（アルファ株）〕における重症例と非重症例の臨床的特徴を比較検討した。

#### 調査対象者

以下の条件をすべて満たす者とした。

- (1) 2020年12月22日～2021年3月9日までに感染症法に基づくCOVID-19の届出がされた患者
- (2) ゲノム検査が実施され、B.1.1.7系統の変異株（アルファ株）、B.1.351系統の変異株（ベータ株）、P.1系統の変異株（ガンマ株）のいずれかが確定した患者<sup>2)</sup>
- (3) ゲノム検査結果がCOVID-19等情報把握・管理支援システム（Health Center Real-time Information-sharing System on COVID-19: HER-SYS）に報告された患者
- (4) 入院医療機関名がHER-SYSに報告された患者（調査期間中の新規変異株患者は原則入院対応）

なお、重症例を「入院期間中にネーザルハイフローセラピーを必要とした、もしくは集中治療室（ICU）で治療を必要とした、もしくは死亡した例」と定義した。

#### 統計学的手法

重症例と非重症例における基本情報、基礎疾患、入院時の臨床症状・画像・検査所見、治療内容、合併症・予後などについて、連続変数はMann-Whitney U検定を、カテゴリー変数はFisher's exact検定を用いて単変量解析を行い、オッズ比（OR）と95%信頼区間（95% CI）を用いて示し、統計的有意性は両側のp値が<0.05の場合とした。

#### 結果

調査期間中、全国で感染症法に基づくCOVID-19の届出がされた患者は242,373例で、うちゲノム検査でB.1.1.7系統の変異株（アルファ株）、B.1.351系統の変異株（ベータ株）、P.1系統の変異株（ガンマ株）のいずれかが同定・報告された患者が380例（0.16%）、そのうち入院医療機関名が判明した患者が112例（0.05%）であった。112例中110例（0.05%）から調査への協力が得られ〔回収割合：98.2%（110/112例）〕、B.1.1.7系統の変異株（アルファ株）は105例（95.5%）であった。105例の性別は男性49例（46.7%）、年齢の中央値（四分位範囲）は40（26.5–66.0）歳であった。重症例は9例（8.6%）（ICUでの加療5例）、非重症例は96例（91.4%）であった。次ページ表に統計学的有意であった主な結果を示す。

重症例は、非重症例と比較して年齢が高く、65歳以上の高齢者を多く認めた（OR=13.3, 95% CI=2.6–69.0）。また、発症14日以内の同居家族以外での集団での飲食歴を多く認めた。重症例は何らかの基礎疾患を多く有しており（OR=11.8, 95% CI=2.3–60.8）、基礎疾患のうち高血圧（OR=10.8, 95% CI=2.5–46.7）と脂質異常症（OR=6.4, 95% CI=1.3–31.0）を多く

表. B.1.1.7系統の変異株(アルファ株)における重症例と非重症例の比較検討の主な結果, n=105

|           |                             | 全例<br>n=105           | 重症例*<br>n=9, 8.6%         | 非重症例<br>n=96, 91.4% | オッズ比<br>(95% 信頼区間) | p 値    |
|-----------|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------|--------------------|--------|
| 背景・基礎疾患   | 年齢中央値(IQR), 歳               | 40 (26.5-66.0)        | 79 (64.5-82.0)            | 38 (13.3-55.0)      |                    | 0.001  |
|           | 65歳以上                       | 27 (25.7)             | 7 (77.8)                  | 20 (20.8)           | 13.3 (2.6-69.0)    | 0.001  |
|           | 14日以内の同居家族以外<br>での集団での飲食歴あり | 9 (8.6)               | 3 (33.3)                  | 6 (6.3)             | 7.5 (1.5-37.7)     | 0.029  |
|           | 何らかの基礎疾患あり                  | 29 (27.6)             | 7 (77.8)                  | 22 (22.9)           | 11.8 (2.3-60.8)    | 0.002  |
|           | BMI, kg/m <sup>2</sup>      | 21.4 (18.5-24.2)      | 23.3 (18.7-28.3)          | 21.4 (18.3-24.1)    |                    | 0.386  |
|           | 高血圧                         | 15 (14.3)             | 5 (55.6)                  | 10 (10.4)           | 10.8 (2.5-46.7)    | 0.003  |
|           | 脂質異常症                       | 10 (9.5)              | 3 (33.3)                  | 7 (7.3)             | 6.4 (1.3-31.0)     | 0.039  |
|           | 現在もしくは過去に<br>喫煙歴あり          | 14 (13.3)             | 4 (44.4)                  | 10 (10.4)           | 6.9 (1.6-29.9)     | 0.017  |
|           | 発症から初診までの<br>期間, 日          | 1 (0.0-3.0)           | 3 (1.5-4.5)               | 1 (0.0-2.8)         |                    | 0.018  |
| 入院時の臨床症状  | 発症から入院までの<br>期間, 日          | 3 (2.0-6.0)           | 3 (1.5-5.5)               | 3 (2.0-6.0)         |                    | 0.945  |
|           | 何らかの症状あり                    | 87 (82.9)             | 9 (100.0)                 | 78 (81.3)           |                    |        |
|           | 発熱(37.5℃以上)                 | 43 (41.0)             | 5 (55.6)                  | 38 (39.6)           | 1.9 (0.5-7.6)      | 0.482  |
|           | 咳嗽                          | 39 (37.1)             | 5 (55.6)                  | 34 (35.4)           | 2.3 (0.6-9.1)      | 0.287  |
|           | 倦怠感                         | 26 (24.8)             | 7 (77.8)                  | 19 (19.8)           | 14.2 (2.7-73.8)    | 0.001  |
|           | 呼吸困難                        | 12 (11.4)             | 4 (44.4)                  | 8 (8.3)             | 8.8 (2.0-39.4)     | 0.009  |
|           | 咽頭痛                         | 17 (16.2)             | 4 (44.4)                  | 13 (13.5)           | 5.1 (1.2-21.5)     | 0.036  |
|           | 呼吸数, 回/分                    | 18.0 (16.0-22.5)      | 23.5 (20.0-24.8)          | 18.0 (15.5-21.5)    |                    | 0.037  |
|           | 酸素飽和度, %                    | 97.0 (96.0-98.0)      | 95.0 (89.0-97.0)          | 97.0 (96.0-98.0)    |                    | 0.003  |
| 入院時画像所見   | レントゲンで肺炎像あり                 | 27/61(44.3)           | 7/9 (77.8)                | 20/52 (38.5)        | 5.6 (1.1-29.7)     | 0.028  |
|           | CTで肺炎像あり                    | 47/58 (81.0)          | 8/9 (88.9)                | 39/49 (79.6)        | 2.1 (0.2-18.4)     | 1      |
| 入院時血液検査所見 | 白血球数, ×10 <sup>9</sup> /μL  | 4.5 (3.5-5.7)         | 4.6 (4.3-6.5)             | 4.4 (3.5-5.7)       |                    | 0.367  |
|           | CRP, mg/dL                  | 0.7 (0.2-2.7)         | 4.2 (0.8-12.0)            | 0.6 (0.2-1.9)       |                    | 0.007  |
|           | BUN, mg/dL                  | 15.1 (11.0-20.0)      | 19.3 (16.0-21.4)          | 14.0 (10.6-19.0)    |                    | 0.029  |
|           | クレアチニン, mg/dL               | 0.8 (0.6-1.0)         | 1.0 (0.8-1.2)             | 0.7 (0.6-0.9)       |                    | 0.007  |
|           | AST/GOT, U/L                | 26.5 (20.8-38.0)      | 46.0 (23.8-65.5)          | 25.0 (20.0-36.3)    |                    | 0.033  |
|           | LDH, U/L                    | 217.0 (181.0-274.0)   | 346.0 (221.0-514.8)       | 210.0 (179.0-251.0) |                    | 0.006  |
|           | D-ダイマー, ng/mL               | 835.0 (680.0-1,225.0) | 2,650.0 (1,235.0-3,750.0) | 800 (637.5-1,770.0) |                    | 0.013  |
|           | アルブミン, g/dL                 | 4.0 (3.7-4.3)         | 3.4 (3.1-3.7)             | 4.1 (3.8-4.4)       |                    | 0.002  |
| 治療内容      | COVID-19 治療薬投与あり            | 38 (36.2)             | 8 (88.9)                  | 30 (31.3)           | 17.6 (2.1-147.1)   | 0.001  |
|           | ステロイド                       | 23 (21.9)             | 7 (77.8)                  | 16 (16.7)           | 17.5 (3.3-92.1)    | <0.001 |
|           | レムデシビル                      | 20 (19.0)             | 7 (77.8)                  | 13 (13.5)           | 22.3 (4.2-119.5)   | <0.001 |
|           | トシリズマブ                      | 5 (4.8)               | 3 (33.3)                  | 2 (2.1)             | 23.5 (3.3-168.6)   | 0.004  |
|           | 抗菌薬                         | 9 (8.6)               | 4 (44.4)                  | 5 (5.2)             | 14.6 (3.0-71.7)    | 0.003  |
|           | 抗凝固療法                       | 14 (13.3)             | 7 (77.8)                  | 7 (7.3)             | 44.5 (7.7-256.0)   | <0.001 |
| 合併症       | 細菌性肺炎                       | 3 (2.9)               | 2 (22.2)                  | 1 (1.0)             | 27.1 (2.2-337.4)   | 0.019  |
|           | 急性呼吸窮迫(促迫)<br>症候群(ARDS)     | 3 (2.9)               | 2 (22.2)                  | 1 (1.0)             | 27.1 (2.2-337.4)   | 0.019  |
| 予後        | 全入院期間, 日                    | 16 (13-23)            | 25.5 (17.8-32.0)          | 16 (12-21)          |                    | 0.013  |
|           | 自宅退院                        | 93 (88.6)             | 5 (55.6)                  | 88 (91.7)           | 0.1 (0.02-0.5)     | 0.009  |
|           | 死亡                          | 1 (1.0)               | 1 (11.1)                  | 0 (0.0)             |                    |        |

\*重症例は「入院期間中にネーザルハイフローセラピーを必要とした、もしくは集中治療室 (ICU) で治療を必要とした、もしくは死亡した例」と定義した  
連続変数は中央値 (median) と四分位範囲 (interquartile range: IQR) で示し、カテゴリ変数は、件数 (割合) で示した

認めた。重症例は現在もしくは過去の喫煙歴も多く、発症から初診までの期間も長かった。

入院時の臨床症状は、重症例は、倦怠感、呼吸困難、咽頭痛を多く認め、身体所見では呼吸回数が多く、酸素飽和度が低かった。入院時の画像所見では、重症例は胸部レントゲン写真で肺炎像を多く認めた (OR = 5.6, 95% CI = 1.1-29.7)。入院時の血液検査所見では、重症例は非重症例と比較して、CRP, BUN, クレアチニン, AST/GOT, LDH, D-ダイマーが高く\*, アルブミンが低かった。

重症例は非重症例と比較して、何らかのCOVID-19の治療薬投与を受けており、治療のうち、ステロイド、レムデシビル、トシリズマブを多く認めた。また、重症例は抗菌薬と抗凝固療法の投与も多く受けた。重症

例9例のうち5例がICUで加療を受け、ICU滞在期間の中央値 (四分位範囲) は12 (5-15.5) 日で、3例に人工呼吸器管理が行われ、使用期間の中央値は10日間で、1例に体外式膜型人工肺 (ECMO) 装着が行われ、使用期間は9日間であった。

合併症として、重症例は細菌性肺炎 (OR = 27.1, 95% CI = 2.2-337.4) と急性呼吸窮迫 (促迫) 症候群 (ARDS) (OR = 27.1, 95% CI = 2.2-337.4) を多く認めた。予後として、重症例は全入院期間 [中央値 (四分位範囲)] が長く [25.5 (17.8-32.0) 日対16.0 (12.0-21.0) 日], 自宅退院は少なかった (OR = 0.1, 95% CI = 0.02-0.50)。105例中死亡例は、重症例における1例のみであった。

## \*D-ダイマー上昇

COVID-19は凝固能の異常を起こし血栓傾向を示すことが指摘されているが、凝固能の異常を起こす際に血液検査所見としてD-ダイマーの上昇を認める。

## 考 察

調査対象のB.1.1.7系統の変異株（アルファ株）における重症化の主なリスク因子は、65歳以上の高齢者、高血圧、脂質異常症、喫煙など、従来株における重症化の主なリスク因子<sup>3)</sup>と同様であった。しかしながら、本調査の第2報における重症例は9例のみであったので、発症から入院までの期間、基礎疾患など重症化に影響を与える因子の調整を行っていないため、B.1.1.7系統の変異株（アルファ株）における重症化のリスク因子の断定は困難である。

また、重症例の方が、有意に細菌性肺炎や急性呼吸窮迫（促迫）症候群（ARDS）の合併症を認め、全入院期間も統計学的に有意に長く、自宅退院者は有意に少なかった。死亡例は重症例における1例のみであった。

## 制 限

本調査には複数の制限がある。はじめに、本調査は入院症例を対象に行われた。新規変異株症例は原則入院対応とされているが、変異株と判明した時期、地域のCOVID-19の発生状況等の理由により入院しなかった無症状や軽症症例が調査対象とならなかった可能性がある。2つ目に、全国で届出されたCOVID-19全例にゲノム検査が実施されたわけではない。3つ目に、本調査の第2報における重症例は9例のみであるため、多変量解析を用いて重症化に影響を与える因子の調整を行っていない。

## 結 論

本調査では、日本国内のCOVID-19のB.1.1.7系統の変異株（アルファ株）における重症例と非重症例の臨床的特徴を比較した。今後、多変量解析を用いた重症例と非重症例の比較、従来株と新規変異株との比較等の解析が期待される。

謝辞：本調査にご協力いただいております各自治体関係者および各医療関係者の皆様に心より御礼申し上げます。本稿は、次の医療機関からお送りいただいた情報を基にまとめています。

岡山大学病院、小樽市立病院、鹿児島市医師会病院、金沢赤十字病院、関西医科大学総合医療センター、岐阜赤十字病院、京都中部総合医療センター、県立広島病院、公益財団法人甲南会甲南医療センター、神戸市立医療センター中央市民病院、公立岩瀬病院、国立研究開発法人国立国際医療研究センター病院、国立大学法人千葉大学医学部附属病院、埼玉医療生活協同組合羽生総合病院、自衛隊阪神病院、自治医科大学附属さいたま医療センター、社会福祉法人恩賜財団済生会支部神奈川県済生会横浜市東部病院、社会福祉法人新潟市社会事業協会信楽園病院、市立芦屋病院、市立札幌

病院、高砂市民病院、立川総合病院、地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪急性期・総合医療センター、地方独立行政法人広島市立病院機構広島市立舟入市民病院、東京医科大学八王子医療センター、東京都立駒込病院、独立行政法人国立病院機構指宿医療センター、独立行政法人国立病院機構西新潟中央病院、独立行政法人地域医療機能推進機構北海道病院、長岡赤十字病院、新潟県厚生農業協同組合連合会長岡中央総合病院、新潟県地域医療推進機構魚沼基幹病院、新潟県立加茂病院、新潟県立新発田病院、新潟県立燕労災病院、新潟県立吉田病院、新潟市市民病院、西宮渡辺脳卒中・心臓リハビリテーション病院、藤沢市市民病院、富士宮市立病院、防衛医科大学校病院、北海道大学病院、前橋赤十字病院、横浜州市立市民病院（五十音順）

## 注意事項

迅速な情報共有を目的とした資料であり、内容や見解は知見の更新によって変わる可能性がある。

## 引用文献

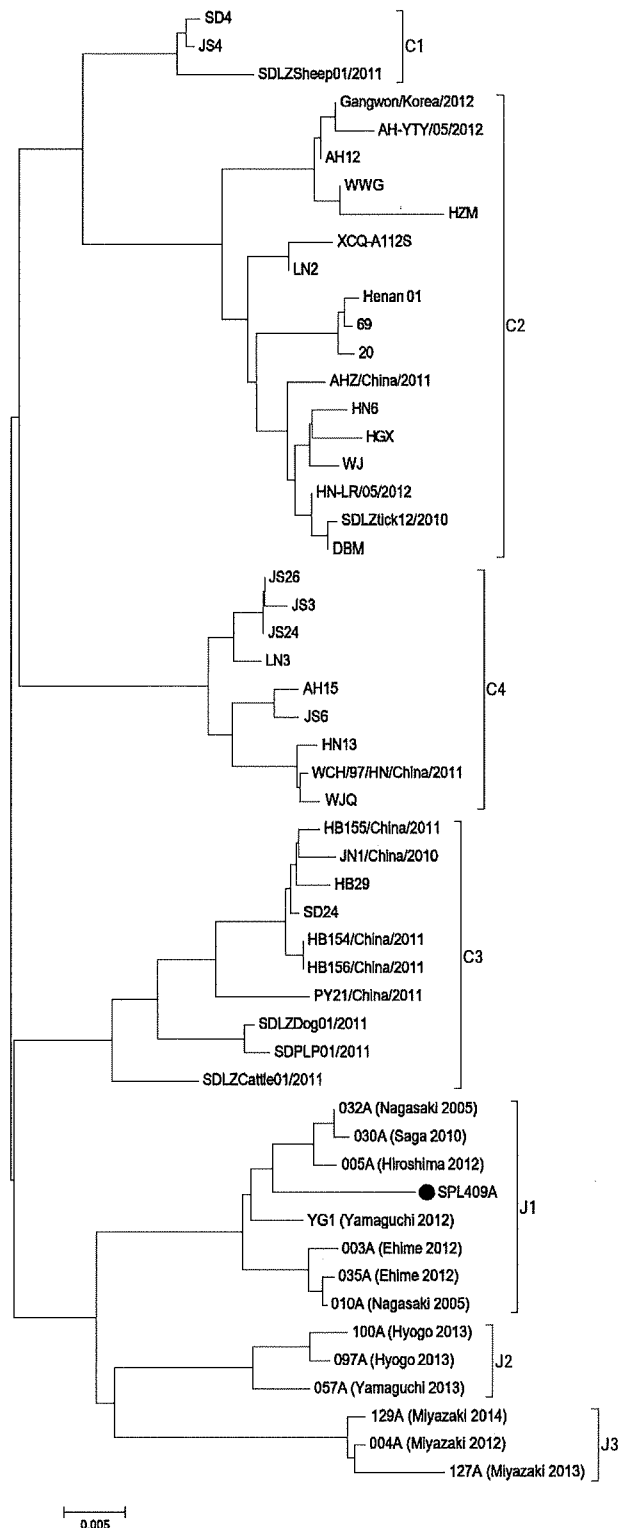
- 1) IASR 42: 117-119, 2021
- 2) 国立感染症研究所, 日本国内で報告された新規変異株症例の疫学的分析 (第1報)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/10279-covid19-40.html>
- 3) 厚生労働省, 新型コロナウイルス感染症 診療の手引き 第5版  
<https://www.mhlw.go.jp/content/000785119.pdf>  
国立感染症研究所  
感染症疫学センター  
国立国際医療研究センター  
国際感染症センター

## &lt;速報&gt;

## 関東地方で初めて感染が確認された重症熱性血小板減少症候群の1例

(web版速報掲載日: 2021年6月22日)

重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS) は2011年に中国の研究者により世界で初めてSFTSウイルスによるダニ媒介性発熱性感染症として報告され<sup>1)</sup>、日本でも2013年に山口県で発症したSFTS患者が初めて報告された<sup>2)</sup>。また近年、イヌやネコといった愛玩動物からの直接感染を疑わせる事例も報告されている<sup>3)</sup>。日本での流行は静岡県以西の西日本に局限しており、毎年患者が報告されているが、関東地方を感染推定地域とするSFTS患者はこれまで報告されていない。今回、ダニ媒介性リケッチア感染症を疑いながらも診断がつかなかった、いわゆる不明熱患者症例に対して遡及調査を行ったところ、千葉県で初めてSFTSウイルス感染事例が確認されたので報告する。



(●は本事例を示す)

図. SFTSウイルスNP遺伝子系統樹解析

我々はSFTSウイルスHB29感染HuH-7細胞溶解抗原を用いたELISA法で不明熱患者242症例(過去12年分)について、ペア血清を用いて抗SFTSウイルス抗体スクリーニング検査を行った。そのうち1症例で抗体価の上昇が確認されたため、SFTSウイルスNP

遺伝子を標的としたリアルタイムRT-PCRを用いて遺伝子検出検査を実施したところ、急性期血清から $6.27 \times 10^2$ コピー/mLのSFTSウイルス遺伝子が検出された。また、SFTSウイルスNP遺伝子を標的としたコンベンショナルRT-PCRでもSFTSウイルスNP遺伝子が検出された。系統樹解析から、検出されたSFTSウイルスは日本型であるJ1型であった(図)。また、SFTSウイルス感染Vero細胞を抗原とした間接蛍光抗体法では、急性期血清は抗SFTSウイルス抗体が陰性であったが、回復期血清は640倍以上の陽性であった。以上のことから、本症例は後方視的にSFTS患者と診断された。

この患者は70代男性で、2017年に発熱および発疹を主訴として近医を受診した。患者の居住地は千葉県南房総地域の日本紅斑熱流行地であり、発症前に他県への移動歴がないこと、ダニの刺し口が確認されたことから日本紅斑熱が疑われ、後述の検査が実施された。急性期血清、回復期血清を用いた間接蛍光抗体法では、日本紅斑熱の原因菌である *Rickettsia (R.) japonica* に対する抗体価はともに20倍以下であり、急性期から回復期にかけて抗体価の上昇は認められなかった。また、ダニの刺し口から形成された痂皮を検体としてDNAを抽出し、PCR検査を実施したが、*R. japonica* の遺伝子は検出されなかった。以上のことから、本症例は日本紅斑熱陰性として管轄の保健所に報告されていた。

千葉県は関東地方では数少ない日本紅斑熱やつつが虫病のリケッチア症流行地であり、毎年患者が報告されているが、これまでにSFTS患者は報告されていなかった。今回、これらリケッチア症を疑われながらも診断のつかなかった患者に対する遡及調査でSFTS症例が存在していたことが明らかとなり、関東地方においてSFTSウイルスに感染した患者の報告として初めての事例となった。このことから、ダニに刺されることが多く、日本紅斑熱等のリケッチア症が報告されている地域では、SFTS患者が潜在的に存在することが示唆された。また、SFTS流行地ではリケッチア症とSFTSについての鑑別診断の重要性については過去にも報告されてきた<sup>4)</sup>。これらのことから現時点ではSFTS患者が報告されていない地域においても、これらリケッチア症が疑われた場合は、臨床的な差異に注意しつつ鑑別診断としてSFTSの検査も併せて行うことが望まれる<sup>5)</sup>。一方で、SFTSウイルスは自然界での感染環が成立しており、ある一定以上の抗体保有率を有した動物が存在した時には、その地域でのSFTSウイルスの感染リスクが高まることが報告されている<sup>6)</sup>。そのため、野生動物の調査を通してヒトを含めた地域のリスク評価を行うことが喫緊の課題であると考え、千葉県ではシカ、イノシシ、アライグマ、キョン等の野生動物からの血液検体採取を開始し、血清疫学調査からダニ媒介性感染症の発生リスクを評価する予定で

ある。また、SFTS流行地域ではマダニに刺される機会の多い農業・林業従事者のみならず、動物と触れ合う機会の多い狩猟従事者、獣医師等にもSFTSウイルス感染防止の啓発を行うことが重要である。

#### 引用文献

- 1) Yu XJ, *et al.*, N Engl J Med 364: 1523-1532, 2011
- 2) Takahashi T, *et al.*, J Infect Dis 209 (6): 816-827, 2014
- 3) Kobayashi Y, *et al.*, Emerg Infect Dis 26 (4): 692-699, 2020
- 4) 島津幸枝ら, IASR 38: 117-118, 2017
- 5) Kawaguchi T, *et al.*, Open Forum Infect Dis 7 (11): ofaa473, 2020
- 6) 前田 健ら, IASR 40: 116-117, 2019

千葉県衛生研究所

ウイルス・昆虫医科学研究室

平良雅克 迫立のり子

西嶋陽奈 太田茉莉

佐藤重紀

国立感染症研究所ウイルス第一部

高松由基 吉河智城

黒須 剛 下島昌幸

西條政幸

国立感染症研究所獣医科学部

立本完吾 石嶋慧多

前田 健

#### <COVID-19情報>

#### SARS-CoV-2のN501Y変異とE484K変異の同時スクリーニングのための工夫 — 秋田県

目下のところ、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のVOC (懸念される変異株) への対応として、2021年1月22日に国立感染症研究所 (感染研) から送付されたTaqMan assayを基本原理とするPCR検査プロトコル\*が用いられ、N501Y変異の検出をターゲットとしたスクリーニングが実施されている。N501Y変異は英国型変異株 (アルファ株) の特徴であるが、さらにE484K変異を併せ持つ南アフリカ型 (ベータ株) とブラジル型変異株 (ガンマ株) もスクリーニングで検出される。一方で、現時点での報告対象とはなっていないが、N501Y変異がなくE484K変異のみを有するウイルス (R.1系統) が関東から東北にかけて広がりつつある。R.1系統は、現行のスクリーニングでは検出できず、感染研のゲノム解析で判明することが多い。今回、我々は現行プロトコルに最小限度の改変を加えることでE484K変異の検出能を付加する工夫 (秋田の変法) を行ったので報告する。

現行プロトコルのforward primerであるN501Y\_1Fv2のR (G/A) の部分がE484K変異に該当する (GならばE484, Aならば484K) ので、そこが3'末端と

なるように配列をずらしたallele specific primerを2種類デザインした (Tm値をreverse primerに揃える)。しかし、これだけではどちらも同程度に増幅されて識別できないことから、3'末端から3番目の位置に意図的なミスマッチを入れて特異性を増強させた<sup>1)</sup>。反応液として、N501Y\_1Fv2をAK-E484-F3: 5'-GGTAGCACACCTTGTAATGGTGGTG-3' (下線部が意図的なミスマッチ) で置き換えたもの (Eセット) とAK-484K-F3: 5'-GGTAGCACACCTTGTAATGGTGGTA-3'で置き換えたもの (Kセット) を調製し、それぞれに供試RNAを加えた後、real-time PCRを行った (条件は現行法と同じ)。次ページ図1および次ページ図2に示したとおり、E484K変異がない場合はEセットで、変異がある場合はKセットで効率的な増幅がみられ、反対側のセットでは増幅の遅延 (7-10サイクルが多い) が観察された (全く増幅されないこともあった)。さらに、効率的に増幅されたセットについてFAM/VIC判定を行うことでN501Y変異も同時に識別することができた。いずれの変異もサンガーシーケンス、またはゲノム解析によって正しく識別されていることが確認できた。今回の検討ではPCR試薬としてTHUNDERBIRD® Probe One-step qRT-PCR Kit (東洋紡) を、機器としてLightCycler480 II (Roche Diagnostics) を使用した。他の試薬を用いる場合には、proof reading活性のある酵素を用いていないかを確認する必要がある (3'ミスマッチが修正されて識別できなくなる可能性がある)。また、Kセットでは感染研配布の陽性コントロールRNAを増幅できないため、FAM/VIC判定は目視で行うか、必要ならば既知の変異株RNAを用いる。

いわゆる第3波とされる流行拡大局面から2021年5月31日現在に至るまでに、N2セットによるPCR検査で陽性となった226検体について、本法を用いてスクリーニングした結果を次ページ図3に示した。1月に初めてR.1系統を確認したが、首都圏からの持ち込み例 (家族2名) で、他の陽性例とは独立していた。3月以降に検出されたウイルスは28例のN501Y変異株 (13例と6例はそれぞれ同一の感染源由来) 以外はすべてR.1系統に置き換わっていた。N501Y変異とE484K変異を併せ持つウイルスはこれまで確認されていない。7例は判定不能であったが、いずれもN2セットによるPCR検査でのCt値は36以上であった。

R.1系統のリスク評価はいまだ定まっておらず、自治体からの報告対象ではないものの、VOI (注目すべき変異株) の扱いを受けており、流行拡大状況は注視してゆく必要があるものと思われる。一方で、マンパワーを含めた検査リソースが逼迫していることも事実であり、ここで新たに別の検査法を導入するのは現実的ではない。本法はすでに実施されている検査系に最小限度の改変を加えることで、N501Y変異とE484K

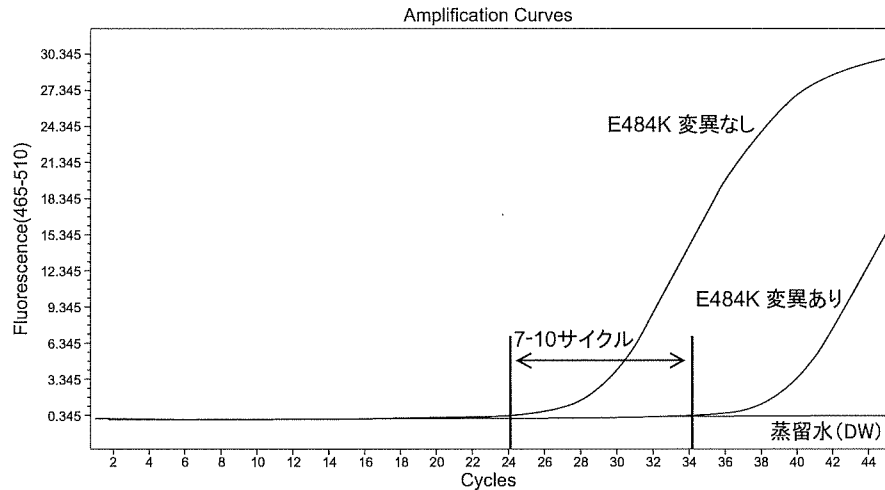


図1. Eセットによる増幅曲線の一例

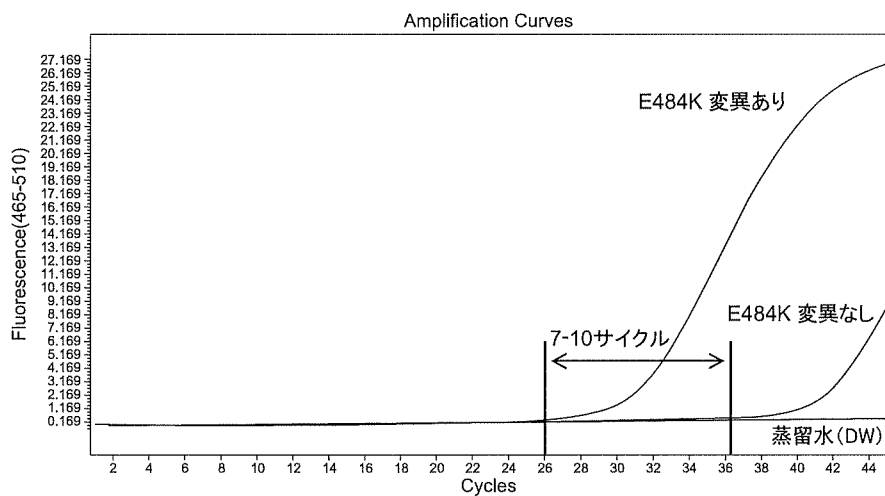


図2. Kセットによる増幅曲線の一例

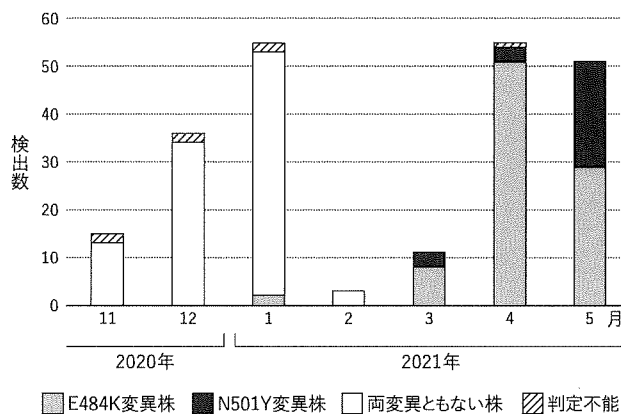


図3. 第3波以降に検出されたSARS-CoV-2におけるE484KおよびN501Y変異のスクリーニング結果 (2021年5月31日現在)

変異の両方をスクリーニングできるように工夫されたものであり、変異株対応の一助となり得るものと考えられる。

本法を検討するにあたり、陽性コントロールとなる各種変異株RNAを分与いただいた感染研ウイルス第一部、および貴重な供試検体RNAを分与いただいた新潟県保健環境科学研究所に深謝いたします。

\*TaqMan assayを基本原理とするPCR検査プロトコル  
forward primer (N501Y\_1Fv2): CTTGTAATGG  
TGTTAAAGGTTTAAATTGT (最終濃度 0.6μM),  
reverse primer: GGTGCATGTAGAAGTTCAAAA  
GAAAG (同 0.6μM), N501検出 probe: FAM- CCAAC  
ACCATTAGTGGGTTG-MGB (同 0.1μM),  
501Y検出 probe: VIC-CCAACACCATAAGTGGGTTG-  
MGB (同 0.1μM),  
反応条件等は「感染研・地衛研専用」SARS-CoV-2 遺伝  
子検出・ウイルス分離マニュアル Ver.1.1の「4. リアル  
タイム one-step RT-PCR法によるSARS-CoV-2の検出」  
に準ずる

#### 引用文献

- 1) Hayashi K, *et. al.*, Theor Appl Genet 108: 1212-1220, 2004

秋田県健康環境センター  
保健衛生部

斎藤博之 秋野和華子

藤谷陽子 檜尾拓子

柴田ちひろ 佐藤由衣子

齊藤志保子

表. NESID 病原体検出情報に報告された新型コロナウイルス感染症または新型コロナウイルス感染症疑い症例から検出された病原体 (2020年1月～2021年6月\*)  
(NESID病原体検出情報: 2021年7月2日現在報告数)

| 検出病原体                             | 2020年 |       |       |        |        |       |        |        |       |       |        |        | 2021年  |       |       |       |       |     | 合計      |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-----|---------|
|                                   | 1月    | 2月    | 3月    | 4月     | 5月     | 6月    | 7月     | 8月     | 9月    | 10月   | 11月    | 12月    | 1月     | 2月    | 3月    | 4月    | 5月    | 6月  |         |
| 地方衛生研究所・保健所からの報告                  |       |       |       |        |        |       |        |        |       |       |        |        |        |       |       |       |       |     |         |
| SARS-CoV-2 (2019-nCoV**)          | 2     | 215   | 745   | 3,527  | 474    | 126   | 1,028  | 1,475  | 808   | 854   | 1,543  | 2,128  | 3,402  | 1,006 | 818   | 628   | 218   | 20  | 19,017  |
| Human coronavirus 229E            | 0     | 4     | 23    | 3      | 0      | 3     | 3      | 15     | 3     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 54      |
| Human coronavirus HKU1            | 0     | 2     | 9     | 2      | 0      | 0     | 0      | 1      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 14      |
| Human coronavirus NL63            | 0     | 2     | 2     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 4       |
| Human coronavirus OC43            | 0     | 9     | 46    | 5      | 0      | 0     | 1      | 1      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 62      |
| Goxsackievirus A16                | 0     | 0     | 1     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 1       |
| Goxsackievirus B5                 | 0     | 3     | 0     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 3       |
| Echovirus 11                      | 0     | 0     | 1     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 1       |
| Echovirus 18                      | 0     | 0     | 0     | 1      | 0      | 0     | 0      | 1      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 2       |
| Enterovirus 68                    | 1     | 0     | 0     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 1       |
| Rhinovirus                        | 0     | 13    | 16    | 4      | 0      | 0     | 13     | 3      | 2     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 51      |
| Influenza virus A H1pdm09         | 0     | 4     | 1     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 5       |
| Influenza virus B                 | 2     | 0     | 3     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 5       |
| Influenza virus C                 | 0     | 0     | 0     | 0      | 0      | 1     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 1       |
| Parainfluenza virus 1             | 0     | 1     | 2     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 3       |
| Parainfluenza virus 4             | 0     | 1     | 0     | 1      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 2       |
| Respiratory syncytial virus (RSV) | 0     | 7     | 11    | 4      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 22      |
| Human metapneumovirus             | 0     | 19    | 33    | 3      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 55      |
| Adenovirus NT                     | 0     | 3     | 0     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 3       |
| Adenovirus 1                      | 0     | 1     | 1     | 0      | 0      | 0     | 1      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 3       |
| Adenovirus 2                      | 0     | 1     | 0     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 1       |
| Herpes simplex virus 1            | 0     | 1     | 2     | 0      | 0      | 0     | 0      | 1      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 4       |
| Human bocavirus                   | 0     | 2     | 0     | 1      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 3       |
| Mycoplasma pneumoniae             | 0     | 2     | 0     | 0      | 0      | 0     | 0      | 0      | 0     | 0     | 0      | 0      | 0      | 0     | 0     | 0     | 0     | 0   | 2       |
| 陰性                                | 37    | 1,943 | 8,999 | 22,491 | 10,475 | 4,900 | 9,003  | 14,064 | 6,818 | 7,161 | 11,313 | 9,385  | 6,832  | 2,073 | 1,849 | 2,433 | 823   | 414 | 121,013 |
| 合計                                | 42    | 2,233 | 9,895 | 26,042 | 10,949 | 5,030 | 10,049 | 15,561 | 7,631 | 8,015 | 12,856 | 11,513 | 10,234 | 3,079 | 2,667 | 3,061 | 1,041 | 434 | 140,332 |
| 検査所からの報告                          |       |       |       |        |        |       |        |        |       |       |        |        |        |       |       |       |       |     |         |
| SARS-CoV-2 (2019-nCoV**)          | 0     | 0     | 9     | 3      | 1      | 10    | 32     | 27     | 30    | 25    | 57     | 61     | 42     | 14    | 34    | 51    | 16    | 26  | 438     |

\*検体採取日で集計している

\*\*NESID病原体検出情報の病原体マスダには2019-nCoVとして登録されている