東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第４１巻 第１２号
２０２０年１２月号
月　　報

東京都健康安全研究センター

http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/

ISSN 1883-2636

～今号の話題　1～

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)における抗体検査について

2019年12月末に、中華人民共和国の武漢で発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、多くの市民を巻き込みながら、全世界に広がっていった。現在も世界の各国がその対策および対応に追われており、先の見えない戦いが続いている。

一般に、ウイルス感染症における検査には、大きく分けて三つの方法[1)]がある。一つ目は積極的にウイルスの持つDNAないしRNAを検出する核酸増幅検査（PCR検査等）である。ウイルスのDNAないしRNAを試験管内で多量に増幅することで、検体中にごくわずかしかないウイルスを確認する手法である。二つ目に、ウイルスの侵入によって体内に生み出されたたんぱく質（抗原）を捕捉・確認する抗原検査がある。これら二者は、人体に存在するウイルスもしくはウイルスの増殖過程で産出されたたんぱく質を見ているため、今現在、被験者の身体の中にウイルスがいる、もしくは直近にいたことを確認する方法である。

三つ目が抗体検査であるが、これは前者の二つとは大きく異なり、体内に侵入してきたウイルスに対して人体が反応し、発現した抗体を測定することで、過去にウイルスに感染したことがあるかどうかを判定する検査である（一部のウイルス感染症では、現在の感染を示すのに使用されている）。人における抗体（免疫グロブリン）には五種類（IgG、IgA、IgM、IgD、IgE）あるが、この内、感染症診断で大きな役割を担っているのはIgMとIgGである。ウイルスの感染によって抗原が体内に現れると、まずIgMが一過性の増加を示し、次に比較的長期間にわたりIgGが増加する（一次応答）。これらの抗体を検出することで被験者のウイルスへの感染の有無を確認や抗体保有の有無をみる。

現在、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）における抗体検査を行うために様々なキットおよび機器が市販されているが、多くの抗体検査において用いられている測定原理として、イムノクロマト法と免疫測定法がある。イムノクロマト法[2)]は細かい隙間を持つ物質内を水がその張力により少しずつ流れていく毛細管現象を利用している。検体を少量の液体に溶解させろ紙の一端に添加すると、検体がろ紙の他端へと移動していく。流路の途中にはコロナの抗体と結合する、着色料のついた物質が塗布されており、検体中にコロナの抗体が存在した場合、抗体と結合しろ紙上を動いていく。次に、流れたコロナの抗体がろ紙の途中に並べられた抗体と結合し、目的の抗体が集約され色調のついたバンドが形成されることで、目的の抗体が目視で確認できる。この検査の性質上、簡便で大掛かりな装置を必要としないことに加え、比較的時間をかけることなく大量の検体をさばけるので、臨床現場でのスクリーニングに向いているが、通常定性的で感度が低い。

これに対し、免疫測定法は固相化した抗体（抗原）に抗原（抗体）を反応させ、化学発光物質等で標識した抗体を抗原（抗体）に反応させた後、化学発光物質の発光強度を測定し、検出する方法である。一例を挙げると表面にSARS-CoV-2のリコンビナント抗原を固定化させた磁性粒子に検体（血清または血漿）を加え、検体中の抗体を結合させる。そこに発光するよう標識化した抗体を加えて、磁性粒子上の目的の抗体に結合させる。トリガーを加えて反応させ、発光した標識部位からの光量を測定する（図）。測定された光量が閾値を超えた検体については、SARS-CoV-2に対する抗体が存在している、すなわち陽性と判定する。発光免疫測定法は、発光の強度により検体中の抗体量を定量的に扱うことも可能であるが、大きな装置や様々な試薬を用いるため、検査に必要な費用がイムノクロマト法と比較して高額になりやすい。なお、2020年に国内数か所の都市で実施されたSARS-CoV-2抗体保有率の調査では、この原理を用いた方法が使用された。

いずれの方法も簡便性、コストによる導入のしやすさなどメリットとデメリットが明確に存在するため、検出目的に合わせた利用が必要と考えられる。現在、日本においては薬事承認の得られた抗体検査試薬はまだないが、今後、新型コロナウイルスワクチンの普及に伴い、抗体獲得率の調査等で抗体検査の必要性が増すものと考えられる。

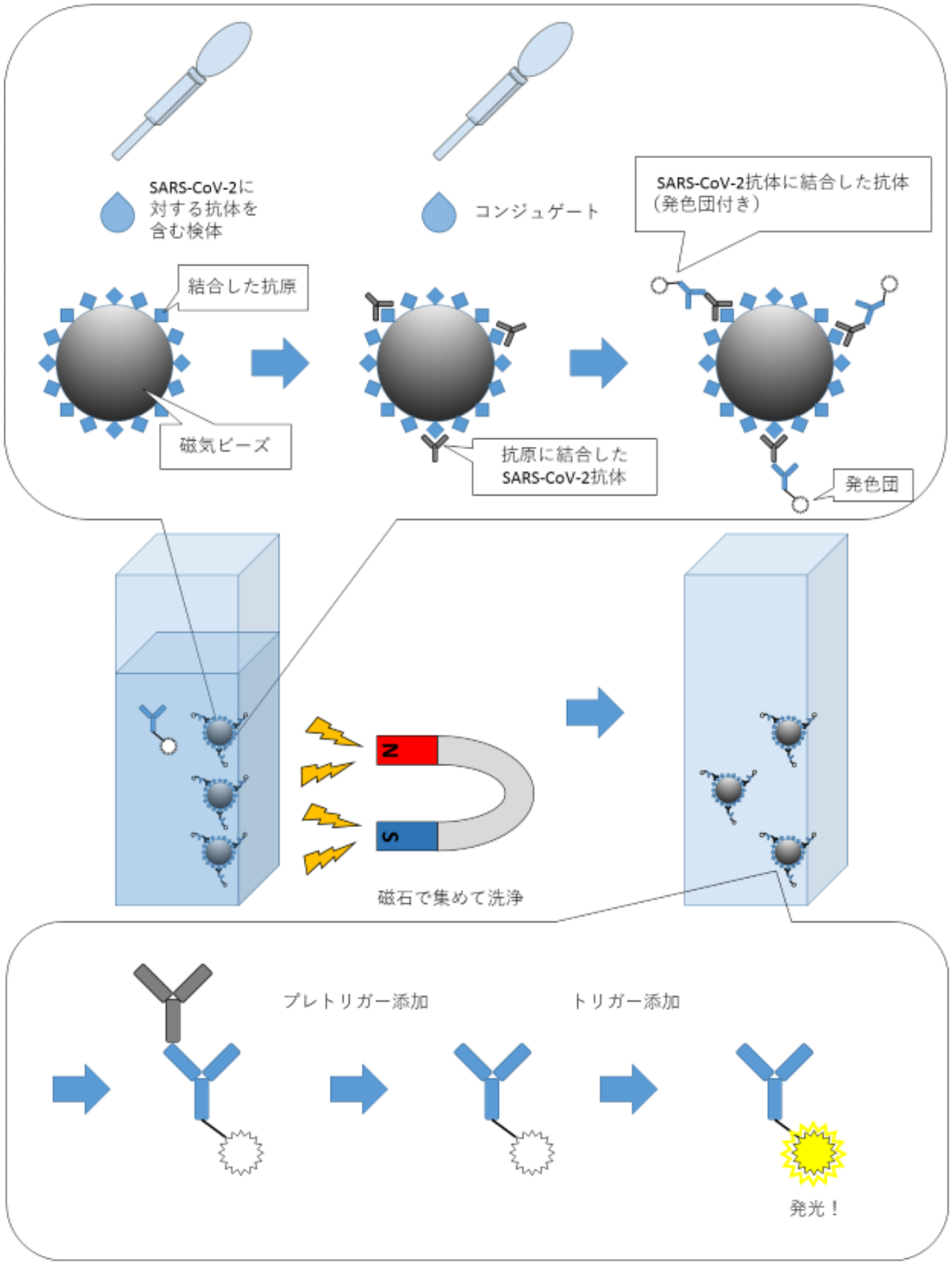
＜参考文献＞

1） 厚生労働省：COVID-19 tests,
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000121431_00182.html

2） Li Z, Yi Y, Luo X, *et al.*, *J Med Virol*. 92:1518–1524.2020

（ウイルス研究科　藤原　卓士）

図. SARS-CoV-2 免疫測定法の原理



～今号の話題 2～

新型コロナウイルスの変異株（N501Y 変異ウイルス）の検査について

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は 29,900 塩基の RNA ウイルスであり、1 か月に 2 塩基程度の割合で変異するといわれている。なかでもスパイク（S）タンパクの 501 番目のアミノ酸がアスパラギン（N）からチロシン（Y）に変異する（N501Y 変異）と感染性や伝播のしやすさに影響するとされている。N501Y 変異ウイルスは、現在世界各地で検出されており、その流行が懸念されている。

2021 年 2 月末現在、N501Y 変異ウイルスとして、VOC-202012/01（501Y.V1）、501Y.V2、501Y.V3 の 3 つのタイプが報告されている。501Y.V2、501Y.V3 は、N501Y 変異の他に、抗原性に影響を与える可能性がある E484K 変異（スパイクタンパクの 484 番目のアミノ酸がグルタミン酸（E）からリジン(K)に変異）を有している（表）。VOC-202012/01 および 501Y.V2 は 2020 年 12 月中旬に、501Y.V3 は 1 月中旬に日本の検疫で見つかったウイルスである。

ウイルスは細菌とは異なり、生きた細胞の中に入らないと増殖することはできない。また、ウイルスが細胞に入るためには細胞側にあるレセプターと呼ばれる結合部分と結合する必要がある。SARS-CoV-2 に対するレセプターは、アンギオテンシン転換酵素２：ACE２といわれるタンパク質であり、ACE2 と SARS-CoV-2 のスパイクタンパクが結合することで、感染が成立する。このスパイクタンパクに N501Y 変異が入ると、今までの SARS-CoV-2 に比べ ACE2 への吸着度が増すとされ、N501Y 変異株の感染性が高まる所以と考えられる。また、これら 3 種類の N501Y 変異ウイルスは、いずれも N501Y 変異を有するものの異なった系統のウイルスであり、それぞれが異なる地域で発生したものである。そのため、今後も新たな地域から新しい N501Y 変異株が出現する可能性は否定できない。また、501 番目以外のアミノ酸変異による感染力への影響については、現状では十分な科学的裏付けに至っていない。

我が国では、2020 年 12 月 23 日付厚生労働省の事務連絡で、英国滞在歴のある感染者の検体を国立感染症研究所に送付することとされた。東京都では、12 月 28 日から東京都健康安全研究センターで実施した SARS-CoV-2 検査陽性例について、N501Y 変異株スクリーニング検査を実施している（図）。当初は多数処理が可能な N501Y 変異スクリーニング検査法がなく、独自に開発したリアルタイム PCR 法を用いた。その後、2021 年 1 月 21 日付けで、感染研からリアルタイム PCR 法を用いた N501Y 変異検出マニュアルが地方衛生研究所に通達され、全国の地衛研で統一された方法による N501Y 変異スクリーニング検査が可能となっている（2 月 19 日に N501Y 変異検出マニュアルが ver2.1 として改訂された）。N501Y 変異スクリーニング検査陽性となったものを対象に次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を実施し、3 つのうちどのタイプの N501Y 変異株かの確認が行われる。

2021 年 2 月末現在、国内各地で VOC-202012/01（501Y.V1）の感染者が報告されている。しかし、諸外国の様な N501Y 変異ウイルスの蔓延状態には至っていないと思われる。変異株蔓延阻止を目標に、SARS-CoV-2 陽性例に対する変異株スクリーニング検査を今後も継続的に実施していく必要がある。

＜参考文献＞

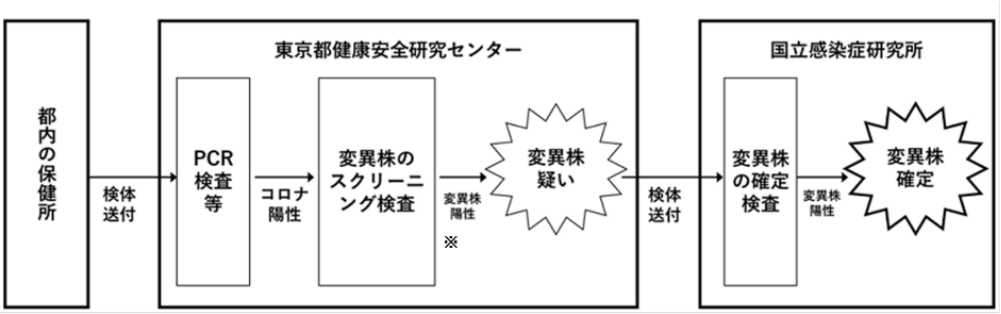
・変異株を追え！～新たな迅速判定法の開発～ https://note.com/tokyo_icdc/n/n82950294c56a?magazine_key=md3e14b3a61b6

・日経サイエンス、30-37、2021 年 4 月号

（ウイルス研究科　長島真美）

表　Ｎ５０１Ｙ変異株の特徴

名称 【Pangolin 分類】	VOC202012/01 または 501Y.V1 【B.1.1.7】	501Y.V2 【B.1.351】	501Y.V3 【P.1】
報告地 （公表日）	英国 （12 月 19 日）	南アフリカ共和国 （12 月 18 日）	ブラジル 日本で発見 （1 月 10 日）
スパイクの 主な変異	69/70 欠損、 N501Y	E484K,N501Y,K417N	E484K,N501Y,K417T
感染性の変化	50%以上高まる 可能性	南アフリカの流行状況 から増加が示唆	不明
感染者の死亡リス クの変化	3 割高まる可能性	不明	不明
免疫への影響	不明	試験管内の実験で E484K 変異により免 疫回避が起こる可能性 が示されている。	E484K 変異は B.1.351 と共通。ブラ ジルで再感染の事例あ り。



※リアルタイムPCRを使用
12月28日～センター独自検査法
1月21日付、N501Y変異検出マニュアル（感染研）
2月19日付、N501Y変異検出マニュアルver2.1（感染研）

センター独自検査法で使用したプライマープローブ:
S_N501Y-F:GGCCGGTAGCACACCTTGTA、S_N50Y-R:GGTGCATGTAGAAGTTCAAAAGAAAG、S_N501a:FAM-AACCCACT[a/t]ATGGTGTTG-MGB

図　東京都における変異株スクリーニングの流れ

表1　病原体搬入・検出状況（4種等）※

2020 年 12 月分

機関名		コレラ菌	赤痢菌	チフス菌	パラチフスA菌	腸管出血性大腸菌	結核菌
区	千代田区						
	中央区						
	港区					1	
	新宿区						
	文京区						
	台東区						1
	墨田区						
	江東区						
	品川区						
	目黒区						
	大田区					1	2
	世田谷区					1	
	渋谷区						
	中野区						
	杉並区					3	
	豊島区						
	北区					2	
	荒川区						
	板橋区						2
	練馬区						
	足立区						
	葛飾区						
	江戸川区						
市	町田市						
	八王子市						
小　計						8	5
都	西多摩					2	
	多摩立川					5	1
	南多摩						
	多摩府中					1	
	多摩小平					1	
	島しょ						
小　計						9	1
合　計						17	6

健康安全研究センター検出分					17	

※2016 年 4 月より、各保健所から搬入された検体を集計することとした。

表2　検体搬入状況（全数把握対象疾患-五類）※

2020 年 12 月分

	検体数	2020年累計
侵襲性インフルエンザ菌感染症（菌）	1	25
侵襲性髄膜炎菌感染症（菌）		2
侵襲性肺炎球菌感染症（菌）	8	65
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症(菌)	8	54
播種性クリプトコックス症（菌）	1	10
合　計	18	156

表3　病原微生物検出状況（食中毒関連）

2020 年 12 月分

	菌　種　名	検体数	2020年累計
細菌	大 腸 菌		
	毒素原性		132
	組織侵入性		
	腸管出血性		7
	その他・不明		
	サルモネラ		
	O4		8
	O7		2
	O8		1
	O9		
	その他		
	腸 炎 ビ ブ リ オ		
	プレジオモナス・シゲロイデス		2
	カ ン ピ ロ バ クタ ー	5	125
	黄 色 ブ ド ウ 球 菌		12
	A 型 ウ エ ル シ ュ 菌	1	153
	ボ ツ リ ヌ ス 菌		1
ウイルス	ノロウイルス（ＧⅠ）	6	44
	ノロウイルス（ＧⅡ）	29	387
	ノロウイルス（ＧⅠ,ＧⅡ）		4
	ロタウイルス		
	サポウイルス		
寄生虫	アニサキス	5	48
	クドア		
合　計		46	934

表4　　HIV 検査数及び陽性数

2020 年 12 月分

	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
東京都南新宿検査･相談室	624	3	271	0	0	0	895	3
保健所等	31	2	12	0	0	0	43	2
合　計	655	5	283	0	0	0	938	5
2020年累計	8,522	98	3,242	0	1	0	11,765	98

表5 性感染症検査数及び陽性数

2020 年 12 月分

	梅毒検査		クラミジア遺伝子検査		淋菌遺伝子検査	
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
東京都南新宿検査･相談室	934	69	413	17	413	4
保健所等	85	4	81	3	44	1
合　計	1,019	73	494	20	457	5
2020年累計	11,809	893	2,439	133	2,005	13

定点把握疾患別病原体分離状況 （ウイルス）

過去 3 か月

定点種別	対象疾患名	検出病原体	10月	11月	12月	合計
小児科	咽頭結膜熱	アデノウイルス			1	1
小児科	ヘルパンギーナ	エンテロウイルス		1	1	2
	不明発疹症	アデノウイルス		1		1

◆東京都微生物検査情報◆
２０２１年　　３月　１６日
編集・発行
東京都健康安全研究センター
〒169-0073
東京都新宿区百人町 3-24-1
TEL:03-3363-3213
FAX:03-5332-7365
S0000786@section.metro.tokyo.jp
http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/