

厚生労働行政推進調査事業費補助金
健康安全・危機管理対策総合研究事業

地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員 体制及び人材育成法を確立するための研究

— 令和 6 年度 総括・分担研究報告書 —

研究代表者

貞升 健志

東京都健康安全研究センター

令和 7（2025）年 3 月

目次

I. 総括研究報告書

- 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための
研究.....1
研究代表者 貞升 健志（東京都健康安全研究センター）

II. 総括研究・分担報告書

1. 解析用パソコンの設置と研修に関する研究 7
研究協力者 瀬戸 順次（山形県衛生研究所）
和田 崇之（大阪公立大学大学院生活科学研究科）
野本 竜平（神戸市健康科学研究所）
2. 微生物分野の基礎的な研修に関する研究.....14
研究分担者 塚越 博之（群馬県衛生環境研究所）
3. 原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築17
研究分担者 長島 真美（東京都健康安全研究センター）
4. 原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築.....23
研究協力者 江原 勇登（埼玉県衛生研究所）
5. 次世代シーケンサーに関わる各種検査マニュアルの作成：疫学調査における NGS 解析の利用
に関する研究.....25
研究分担者 久保田 寛顕（東京都健康安全研究センター）
野本 竜平（神戸市健康科学研究所）
6. 次世代シーケンサーに関わる各種検査法の開発ゲノム解析ワーキンググループ
活動.....31
研究分担者 岩本 朋忠(神戸市健康科学研究所)

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）

地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を
確立するための研究（総括研究報告書）

研究代表者	貞升 健志	東京都健康安全研究センター 参事研究員
研究分担者	岩本 朋忠	神戸市健康科学研究所 所長
	長島 真美	東京都健康安全研究センター 健康危機管理情報課長
	塚越 博之	群馬県衛生環境研究所 保健科学係長
	野本 竜平	神戸市健康科学研究所 副部長
	久保田寛顕	東京都健康安全研究センター 統括課長代理
研究協力者	瀬戸 順次	山形県衛生研究所 研究専門員
	和田 崇之	大阪公立大学大学院生活科学研究科 教授
	江原 勇登	埼玉県衛生研究所 ウイルス担当
	浅倉 弘幸	東京都健康安全研究センター 主任研究員

研究要旨

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）では、次世代シーケンサー（遺伝子検査機器：NGS）を用いてゲノム解析を行うことにより、全国の地方衛生研究所（地衛研）等での地域の変異株の発生状況を把握し対策に役立ててきた。しかしながら、地方衛生研究所における業務は多岐にわたり、COVID-19 以外の NGS を用いた解析法は棚上げ状態にある。本研究班では、全国規模で技術・知識の均てん化を推進すること、地衛研独自でできるだけ実施できることを行うこととし、①ゲノム解析に関する調査、②ゲノム解析ブロック拠点の設置、③基礎的研修の実施、④NGS 検査マニュアルの作成を行い、また、最終的な目標である、ゲノム検査における人材育成ガイドライン作成ための課題を整理した。

るのに対し、細菌は 200 万～600 万塩基と

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症では、次世代シーケンサー（遺伝子検査機器：NGS）を用いてゲノム解析を行うことにより、全国の地方衛生研究所（地衛研）等での地域の変異株の発生状況を把握し対策に役立ててきた。この方法は、国立感染症研究所（感染研）のマニュアルに基づき臨床サンプルの遺伝子増幅を行い、感染研の解析 Web サイト（COG-JP/PathoGenS）で解析することにより実施してきた。

次世代シーケンサーはあらゆる病原体の遺伝子解析が可能であるものの、ウイルス遺伝子の塩基配列が 1 万～20 万塩基であ

10 倍以上長い場合、異なる手法を用いる必要がある。また、原因不明疾患の病原体解析は、臨床サンプル中に病原体のゲノムの含有率を見る方法であり、既知の病原体の解析手法とは異なり、ヒトゲノム情報の除去、病原体の検索機能が必要である。

今までは、感染研の Web サイトを利用していたが、現在は利用できないといった課題がある。そもそも、地衛研における病原体検査は、感染研の病原体検出マニュアルに基づいて行われるが、NGS を用いた病原体に対するゲノム検査法（手法、解析法）に関するマニュアルは存在しない。

さらに、数年単位で人事異動が発生する

地衛研も多く、地域レベルでの検査・解析技術が維持できず、次の感染症危機時に、次世代シーケンサーを用いた検査・解析ができないことが懸念される。

以上のような課題解決のため、平時から次世代シーケンサーを活用した検査技術の維持や、検査を実施できる人材を継続的に育成するための方策や検査体制を維持するための人員体制について検討し、全国規模で技術・知識の均てん化を推進する必要があると言える。

本研究班では、次の項目を主な達成目標として検討を行うこととする。

- ①全国の地衛研のゲノム検査に係る人員体制や技能維持の現状について調査を実施する。
- ②地方衛生研究所全国協議会の各ブロック（北海道・東北・新潟地区等の6ブロック）に解析用PCを設置し、主として細菌分野の無料解析ソフトのインストールから解析までを研修することで、ブロック拠点を作る（ブロック拠点は可能な限り広げていく）。
- ③地衛研等を対象とした微生物分野の基礎的な知識を学ぶWeb研修を行う。
- ④次世代シーケンサーに関わる検査マニュアルを地方衛生研究所全国協議会と連携し作成する、等の目標に取り組み、最終的には、⑤全国の地方衛生研究所のゲノム検査における人材育成法についてガイドラインを作成する。

B. 研究方法

本研究班では、それぞれの研究分担者または研究協力者がそれぞれの研究目的（各課題）に沿って研究を実施する（図1、2）。

1. 全国の地方衛生研究所のゲノム検査に係る調査の実施（瀬戸、和田）

84地衛研を対象にインターネット環境に関するアンケート調査を実施する。コマンドラインを用いたゲノムデータ解析には外部のインターネットに接続可能な環境が必要となるため、全国地衛研の状況を把握するために実施することとする。

2. 地方衛生研究所の各ブロック拠点でのPCを用いた解析拠点の整備（瀬戸、和

田）

地衛研において、コマンドラインを用いたゲノムデータ解析を自律的に実施可能な状況にすることを目的として、全国6ブロックでの拠点の選定とパソコンの設置および現地研修会（本年度は3ブロック）を実施する。

3. 原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築（長島、浅倉、江原）

原因不明疾患等における次世代シーケンサー（NGS）の利用は、近年、重要視されており、年々増加傾向にある。一方で、解析法についてはこれといった標準法はなく、地方衛生研究所（地衛研）独自での解析方法の確立が急務である。今回、不明疾患解析検体およびアンプリコンNGS解析を行う解析ソフトPaHuMならびにMTAAPの評価およびこれらに関するWebセミナーを実施する。

4. 地衛研等を対象とした微生物分野の基礎的な研修の実施（塚越）

地衛研における検査や研究の基礎を学ぶことで地衛研職員全体の底上げを目的として、Web研修または集合型研修を通じて、人材育成研修を行う。

5. 次世代シーケンサーに関わる検査マニュアルの作成（岩本）

地衛研におけるゲノム解析の普及を目的として、ゲノム解析ワーキンググループを構成し、ゲノム解析の1次処理にあたるウェットラボ操作に関するマニュアル作成に取り組む。

6. 疫学調査におけるNGS解析の利用に関する研究（野本、久保田）

集団食中毒をはじめ病原性細菌に起因する集団感染が発生した場合、地衛研ではパルスフィールド電気泳動（PFGE）による系統解析を行い、その結果をもって保健所等

と連携し、事例究明と収束に向けた対応に当たってきた。今後、PFGE 機器の販売は終了し、サポートも 2023 年末で終了が予定されている。そのため、NGS を用いた菌の比較を地衛研として考えることに取り組む。

7. 全国の地方衛生研究所におけるゲノム解析に関する人材育成法についてのガイドライン作成

本研究班での最終目標である、ゲノム解析に関する人材育成法についてのガイドラインを作成する目的で、様々な要素を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究班で実施する事項については、東京都健康安全研究センター倫理委員会で承認されている (6 健研健第 906 号)。

C. 研究結果

1. 全国の地方衛生研究所のゲノム検査に係る調査の実施 (瀬戸、和田)

インターネット環境に関するアンケートを実施したところ、84 地衛研中 29 地衛研 (34.5%) において、現時点ではコマンドラインによるゲノムデータ解析を実施できない、もしくはできない可能性があるという調査結果となった。

また、通信インフラ未整備によりゲノムデータ解析を自施設で実施できない致命的な問題点も潜んでおり、これらを解決していくために必要な支援について、今後、本研究班においても検討していく必要がある。

2. 地方衛生研究所の各ブロック拠点での PC を用いた解析拠点の整備 (瀬戸、和田)

地衛研において、コマンドラインを用いたゲノムデータ解析を自律的に実施可能な状況にすることを目的として、全国 6 ブロックでの拠点の選定とパソコンの設置、インターネット環境に関するアンケート、および現地研修会を実施した。

今年度、研修会は近畿、関東・甲・信・静、および東海・北陸ブロックにおいて、各 2 日間、事前にコマンドライン実施のための環境を構築したパソコンを研修会場に持ち込

む形で実施し、計 82 人が参加した。初学者が理解しやすいような平易な説明や、データ解析の際に生じたエラーをその場で一緒に解決していく姿勢を徹底した結果、研修後のアンケートにおいて、研修参加者の 96.2% が 5 段階のうち最も高い評価の「非常に良かった」を選択した。また、現地集合型の研修会としたことで、主催者、拠点、およびブロック内地衛研が一体となった研修を実施することができた。

3. 原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築 (長島、浅倉、江原)

民間会社で開発された、網羅的ゲノム解析ツール (不明疾患における NGS 解析ソフト : PaHuM) 並びに NGS 用プライマー除去・解析ソフト (MTAAP) を地衛研での使用法を検討した。

網羅的ゲノム解析では、過去に使用可能であった感染研の Web ソフト : MePIC、PaHuM 及び CZ ID (海外 Web サイト) を比較し、PaHuM 及び CZ ID が MePIC の後継解析ツールとなり得るか調べた。

MePIC で病原ウイルスゲノムを検出した 3 検体の NGS データを用い、PaHuM 及び CZ ID で追加の解析を行い、検出したウイルスゲノムのリード数をそれぞれの解析ツール間で比較した結果、3 検体の内 2 検体では 3 つの解析ツール全てで同リード数検出した。残りの 1 検体はリード数には若干の違いがあるものの、目的とする病原ウイルスを検出した。いずれの解析ツールもメタゲノム解析のツールとして相互の信頼性が高いと考えられた。また、これらソフトの利用法を含めて、地衛研の職員を対象とした Web 研修会を実施した。

4. 地衛研等を対象とした微生物分野の基礎的な研修の実施 (塚越)

地衛研における検査や研究の基礎を学ぶことで地衛研職員全体の底上げを目的として人材育成研修を行った。結果として、Web 研修には 47 施設、280 名が参加し、集合型研修には、現地参加が 50 名、WEB 参加は 71 施設 (地全協会員 57)、229 名が参加した。いずれの研修に対しても満足度が高く、基礎を学ぶ機会の重要性が明らかとなった。また、継続を望む声も多く、継続して基礎力

の向上を図っていくことが重要であると考えられる。

5. 次世代シーケンサーに関わる検査マニュアルの作成（岩本）

地衛研におけるゲノム解析の普及を目的として、ゲノム解析の1次処理にあたるウェットラボ操作に関するマニュアル作成に取り組んだ。地衛研全国6支部をカバーする検査実務者16名からなるゲノム解析ワーキンググループを構成し、各施設での解析体制に関する情報共有、ゲノムDNAの断片化処理条件やライブラリーのサイズセレクションについての実験的検証作業を経て、地衛研の体制に即したマニュアルが作成できた。

6. 疫学調査におけるNGS解析の利用に関する研究（野本、久野田）

集団食中毒をはじめ病原性細菌に起因する集団感染が発生した場合、地衛研ではパルスフィールド電気泳動（PFGE）による系統解析を行い、その結果をもって保健所等と連携し、事例究明と収束に向けた対応に当たってきた。今後、PFGEに代わり、一塩基単位の解像度で全ゲノム比較を行うことが可能な次世代シーケンサー（NGS）を用いた菌の比較が求められる。

PFGEの代替法という観点から、同一サンプルに対してPFGEとNGSの二法による分析を実施し、直接的な比較検証を行った。*Acinetobacter baumannii* 14株（うち、13株がSequence Type [ST] 208、1株がST1316）をテストサンプルとしたところ、同一STである13株間ではバンドの相違数が5本以内、一塩基変異（SNV）数が35以内という、両法ともに近縁という結果が得られつつも、それらの数値には明確な相関が見られなかった。したがって、少なくとも全ての菌種に対して一様にPFGEにおける疫学的解釈を単純にNGSに置き換えることは難しく、集団感染とみなすSNVの線引きについては各菌種において検討する必要があると考えられた。さらに、NGSではマッピング解析に用いるリファレンスの選定や、遠縁株を含むか否かという条件によっても検出されるSNVの数が影響されることを確認した。これらのことは、いずれもリ

ファレンスならびに供試株が共通に保有し、解析対象となるコアゲノム領域の増減によるものであり、リファレンス自身が供試株に対して遠縁な場合や、供試株の中に遠縁な株が含まれた場合にコアゲノム数が減少し、結果として検出SNV数の減少につながっていた。

7. 全国の地方衛生研究所におけるゲノム解析に関する人材育成法についてのガイドライン作成（貞升）

ゲノム解析に関する人材育成法についてのガイドライン作成のために、NGSの具体的な利用法をまとめた。また、地衛研を取り巻く状況として、感染症予防計画等を踏まえた健康危機対処計画が策定された。微生物分野における健康危機事例発生時の質の高い病原体検査は地衛研において必須となり、従来の検査法に加え、NGSの効果的な活用を標準化していかなければならない。一方で、NGSに関係するインフラ、技術、予算および人材育成面での課題は山積している。特に、網羅的解析等に係るソフトウェア、パルスフィールドゲル電気泳動法としての代替法としての利用、集積したゲノム情報の活用等、地衛研として解決すべき課題は多いと思われる。

D. 考察

本研究班の分担研究では、ウイルス感染症や細菌感染症の両面から、基礎的な方法を含めて取り組んだ。

本年度は、Webセミナーや対面の研修を取り入れ、NGSに関する障壁もできるだけ取り除けるような観点で研修を実施した。今後も継続して実施することで、地衛研におけるNGSに関する人材育成が可能になるとと思われる。

それぞれの成果は各分担研究報告を参照していただきたい。

E. 結論

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）では、次世代シーケンサー（遺伝子検査機器：NGS）を用いてゲノム解析を行うことにより、全国の地衛研等での地域の変異株の発生状況を把握し対策に役立ててきた。

しかしながら、地衛研における業務は多岐にわたり、COVID-19 以外の NGS を用いた解析法は棚上げ状態にある。

本研究班では、全国規模で技術・知識の均てん化を推進すること、地衛研独自でできるだけ実施できることを行うこととし、①ゲノム解析に関する調査、②ゲノム解析ブロック拠点の設置、③基礎的研修の実施、④NGS 検査マニュアルの作成を行い、最終的な目標である、ゲノム検査における人材育成ガイドラインの作成のための課題にそれぞれ取り組んだ。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 貞升健志：地方衛生研究所における次世代シーケンサーの利用と課題、東京健安研セ年報, 75, 77-81, 2024

2) 長島真美, 藤原卓士, 村田ゆかり, 他：東京健安研セ年報、75, 27-40, 2024

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究（24LA2003）
2024年度から2か年

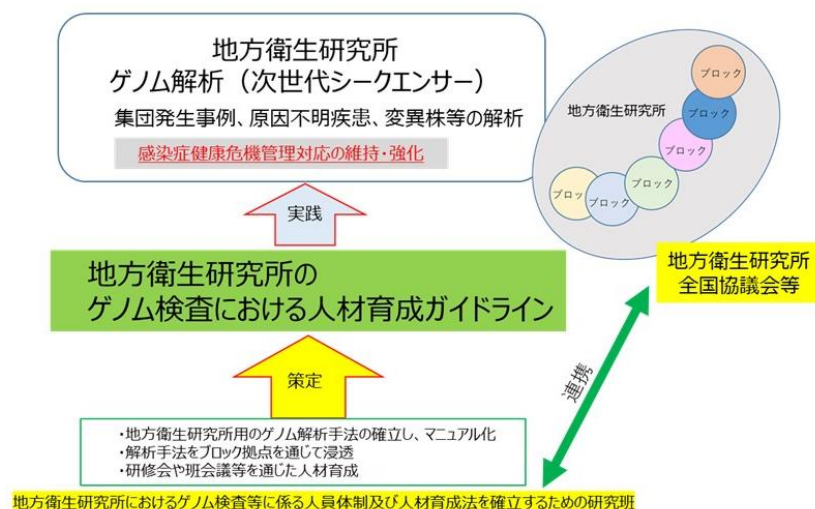


図1 研究班の目的・概要

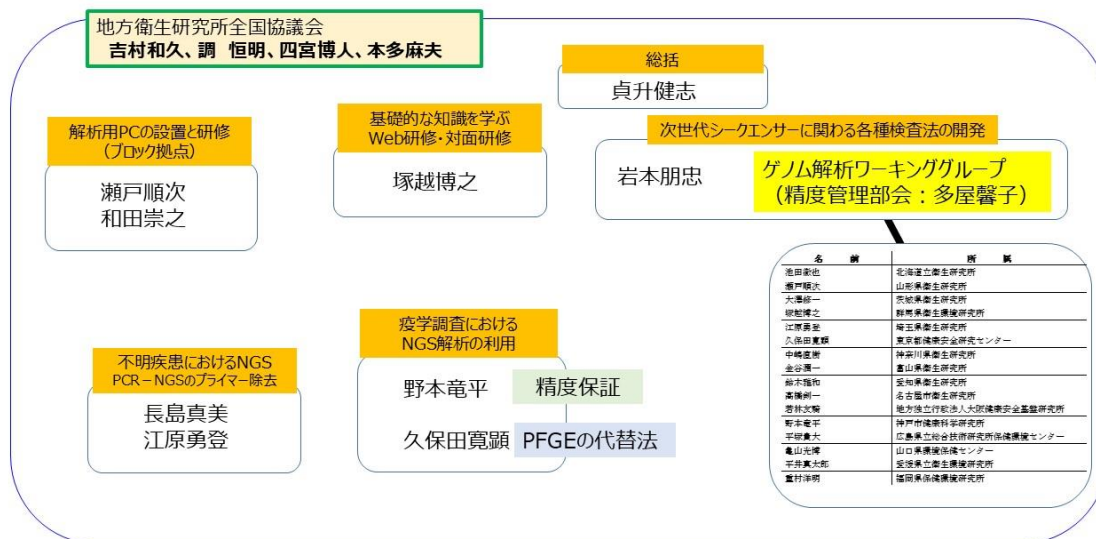


図2 研究班の人員体制

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

解析用パソコンの設置と研修に関する研究

研究協力者	瀬戸 順次	山形県衛生研究所	研究専門員
	和田 崇之	大阪公立大学大学院生活科学研究科	教授
	野本 竜平	神戸市健康科学研究所	副部長
	坂上亜希恵	宮城県保健環境センター	副主任研究員
	淀谷 雄亮	川崎市健康安全研究所	主任
	安井 善宏	愛知県衛生研究所	生物学部長
	川瀬 遵	島根県保健環境科学研究所	感染症疫学部長
	成田 翼	宮城県衛生環境研究所	主任技師

研究要旨

地方衛生研究所等（地衛研）において、コマンドラインを用いたゲノムデータ解析を自律的に実施可能な状況にすることを目的として、全国 6 ブロックでの拠点の選定とパソコンの設置、インターネット環境に関するアンケート、および現地研修会を実施した。

全国 84 地衛研から希望を募って選定した結果、各ブロック 1 か所、計 6 地衛研が拠点に選定された。このうち、インターネット環境上の問題を抱えていた 1 地衛研を除く 5 地衛研には、病原体ゲノム解析に適したパソコンを設置した。

インターネット環境に関するアンケートを実施したところ、84 地衛研中 29 地衛研（34.5%）において、現時点ではコマンドラインによるゲノムデータ解析を実施できない、もしくはできない可能性があるという調査結果になった。通信インフラ未整備によりゲノムデータ解析を自施設で実施できない致命的な問題点を解決していくために必要な支援について、今後、本研究班においても検討していく必要がある。

研修会は近畿、関東・甲・信・静、および東海・北陸ブロックにおいて、各 2 日間、事前にコマンドライン実施のための環境を構築したパソコンを研修会場に持ち込む形で実施し、計 82 人が参加した。初学者が理解しやすいような平易な説明や、データ解析の際に生じたエラーをその場で一緒に解決していく姿勢を徹底した結果、研修後のアンケートにおいて、研修参加者の 96.2%が 5 段階のうち最も高い評価の「非常に良かった」を選択した。また、現地集合型の研修会としたことで、主催者、拠点、およびブロック内地衛研が一体となった研修を実施することができた。その関係性は、病原体ゲノムデータ解析における将来的な地域間連携の礎とも言えるものであった。一方で、研修後のアンケートにおいて研修に対する批判的意見が一定程度示されたことから、今後、研修内容に磨きをかけ、2025 年度開催の残りのブロックでの研修会を進めていく必要がある。

A. 研究目的

地方衛生研究所等（以下、「地衛研」という。）に配備されている次世代シーケンサーから得られるゲノムデータの解析は、現状では国立感染症研究所のプラットフォームや高額な有償ソフトを用いた解析が中心になっている。それらツールは便利な反面、決められた解析しかできない、有償ソフトの利用更新が止まると解析できなくなる等の問題点がある。そこで、地衛研においてコマンドライン（パソコン上で文字を入力して解析の指示を出す方法）で実行する無償ソフトを用いたゲノムデータ解析を自律的に実施可能な状況にすることを目的とし、全国 6 ブロックの地衛研に拠点とパソコンを置き、各ブロックでの現地研修を行うこととした。

B. 研究方法

1. 拠点希望および現状調査

2024 年 6 月、地方衛生研究所全国協議会所属の 84 地衛研を対象として、拠点希望およびゲノムデータ解析に関する現状把握のためのアンケートを実施した。

2. インターネット環境アンケート

2024 年 9 月、84 地衛研を対象にインターネット環境に関するアンケート調査を実施した。これは、コマンドラインを用いたゲノムデータ解析には外部のインターネットに接続可能な環境が必要となるため、全国地衛研の状況を把握するために実施したものである。

3. 拠点用パソコンの選定・設置

病原体ゲノムデータ解析に耐えうる性能のパソコンを選定し、拠点に設置した。

4. 研修会資料作成

各地衛研において必要なソフトをインストールしたパソコンを研修会場に持ち込むこととしたため、事前セットアップ資料を作成した。併せて、研修会で用いる資料を作成した。

5. ゲノムデータ解析研修会

2024 年度は全国 6 ブロックのうち 3 ブ

ロックで研修会を開催することとなった。

（倫理面への配慮）

本研究では病原体ゲノムデータのみを用いており、患者情報は利用していない。

C. 研究結果

1. 拠点希望および現状調査

84 地衛研中 13 地衛研から拠点の希望があった。その後、2024 年 7 月 26 日に開催された第二回研究班会議において、各ブロック 1 か所、計 6 地衛研が拠点に選定された：

北海道・東北・新潟地区

宮城県保健環境センター

関東・甲・信・静地区

川崎市健康安全研究所

東海・北陸地区

愛知県衛生研究所

近畿地区

神戸市健康科学研究所

中国・四国地区

島根県保健環境科学研究所

九州地区

宮崎県衛生環境研究所

ゲノムデータ解析の現状に関するアンケートには 77 地衛研が回答した。国立感染症研究所プラットフォームや有償ソフトを用いたゲノムデータ解析の経験があったのは 66 地衛研（85.7%）であったが、コマンドラインの実績があったのは 23 地衛研（29.9%）に留まった。また、ゲノムデータ解析に詳しくなりたい職員がいたのは 68 地衛研（88.3%）であった。

2. インターネット環境アンケート

全 84 地衛研から回答があった（表 1）。10 地衛研（11.9%）は外部のインターネットに接続できないとの回答であったことから、現状のままではコマンドラインを使ったゲノムデータ解析は出来ないことが明らかになった。自治体 LAN から外部インターネットに接続可能な 19 地衛研（22.6%）に関しても、コマンドラインの環境を整えることができるか否かは自治体のセキュリティ

イレベルに依存する（セキュリティレベルが高い場合は環境構築できない）状況であった。分類別では、中核市や特別区において外部に接続可能なインターネット環境がない地衛研が多かった。

3. 拠点用パソコンの選定・設置

拠点用パソコンの性能は、Windows 11 Pro 64 bit、メモリ 64 ギガバイト、CPU コア数 20 個、記憶媒体量 10 テラバイト、およびマイクロソフトオフィス搭載とした。また、現時点で地衛研の大半に配備されているのはショートリード取得型の次世代シークエンサーであるが、将来的にロングリード取得型の次世代シークエンサーから得られるゲノムデータを解析することを想定して、GPU（画像処理装置）も搭載した。

2024 年 11 月、上記仕様のパソコンを宮城県保健環境センター以外の 5 地衛研に配備した。宮城県保健環境センターは、自治体 LAN から外部のインターネットに接続可能であったが、セキュリティの関係でコマンドライン実施のために必要なソフトをインストールできない状況であった。そのため、研究所独自のインターネット環境（民間プロバイダの光回線）の整備が完了する 2025 年度にパソコンを配備することとなった。

4. 研修会資料作成

研修会は、山形県衛生研究所 瀬戸順次、大阪公立大学大学院生活科学研究科 和田崇之、神戸市健康科学研究所 野本竜平が主催することとなったため、それら 3 人で資料を作成した。事前資料（案）は 4 種類、研修会資料（案）は 5 種類作成した。それら案について、パソコンが配備された 5 拠点で試行し、問題点を改善したうえで最終版資料とした（図 1）。

また、ゲノムデータ解析初学者には難解な内容を多く含んだため、動画を 38 本作成し、YouTube（限定公開）の URL リンクを資料に添付した。

5. ゲノムデータ解析研修会

全国 6 ブロックのうち 3 ブロックで開催

した研修会の概要を表 2 に示す。研修参加者は 19 人から 40 人であり、人数に応じて開催地の地衛研職員等に研修補助を依頼した。研修会は 2 日間とした。近畿および関東・甲・信・静ブロックでは初日午前から研修会を開催したため、約 12 時間の研修時間を確保できた。一方、東海・北陸ブロックでは、遠方の地衛研に配慮して初日を午後からの開催としたため、研修時間は 10.5 時間となった。インターネット環境は、近畿および関東・甲・信・静ブロックでは地衛研に整備されていた Wi-Fi を利用した。東海・北陸ブロックは Wi-Fi 環境がなかったためポケット Wi-Fi を持ち込んだが、電波状況が悪く、参加者にインターネット環境を提供できなかった。

研修内容は、瀬戸がコマンドラインの基礎、和田が細菌ゲノムデータ解析、野本がウイルスゲノムデータ解析を担当した。いずれもパソコンを用いた実習を約 8 割とし、残りを講義に充てた。初学者対象の研修会であったため、3 人の講師に共通して、①専門用語を極力使わない、②丁寧な説明を心がける、および③質問しやすい雰囲気を作り、エラーが起きた場合はその場で一緒に解決する、ことを徹底した。基本的にはオフラインで完結する研修内容としたが、近畿および関東・甲・信・静ブロックでは、ウェブ利用可能なゲノムデータ解析ツールも併せて紹介した。

研修会後に取得したアンケートにおける研修の評価（3 会場 78 人回答）は「非常に良かった」が 75 人（96.2%）、「良かった」が 3 人（3.8%）、「どちらでもない」、「やや悪かった」、「非常に悪かった」は各 0 人であった。初開催の近畿ブロックでは、評価が「良かった」に留まった参加者が散見された（図 2）。

自記式の研修の感想（76 人回答）では、研修に対する好意的な反応が 58 人、研修内容改善の意見が 25 人、新たな研修機会の要望が 10 人から寄せられた。改善意見の記載があった 25 人中 17 人（68.0%）が初開催の近畿ブロック参加者であり、その後の研修内容の改善に大いに役立った。また、ChatGPT（GPT-4）による 76 件の自記式

回答の要約結果を図 3 に示す。結果、「総じて、参加者は研修内容に満足しており、特に初心者向けのわかりやすい説明と実習が良かったと評価しています。」と要約された。

研修の理解度（78 人回答）は、「とてもよく理解できた」が 27 人（34.6%）、「概ね理解できた」が 44 人（56.4%）、「どちらとも言えない」が 6 人（7.7%）、「あまり理解できなかった」が 1 人（1.3%）、「ほとんど理解できなかった」は 0 人であった。東海・北陸ブロックでは「どちらとも言えない」「あまり理解できなかった」が約 2 割を占め、他ブロックよりも多かった（図 4）。

今後実施したい解析（自記式、70 人回答）を取りまとめた結果、「病原体網羅解析」が 19 人と最多であり、以降、「系統樹解析」10 人、「結核菌」9 人、「薬剤耐性菌」8 人、「一塩基多型解析」8 人と続いた。

また、研修会開催中に、各会場において複数名から「動画があったことで研修についていくことができた」との感想を聞き取った。

D. 考察

本研究では、地衛研におけるゲノムデータ解析技術の底上げを目指して研修会を開催した。2024 年度の 3 ブロックでの研修の結果、96.2%が研修を「非常に良かった」と評価したこと、および自記式の感想について「参加者は研修内容に満足している」と ChatGPT により要約されたことから、この度の初学者向けの研修会は有用であったと考えられた。

資料に説明動画を挿入したことで、研修参加者の理解度が深まり、研修会をスムーズに進めることができた。この点は、主催者側の質問対応の負荷を軽減できたという意味においても有用であった。動画の挿入は、事前セットアップ資料は完了したものの研修会資料の一部では未達成であるため、それらについても説明動画を加え、各地衛研職員が自律的に学習できる教材へと昇華させていく方向性である。そして、将来的には、地方衛生研究所全国協議会ホームページへの資料の掲載等を通じて、地衛研職員がいつでも自由にゲノムデータ解析を学べる機

会を与えていく必要がある。

各ブロックにおける研修準備および開催を通じて、主催者と拠点、拠点とブロック内地衛研という繋がりが醸成され、研修会を通じて全てが一体となる関係性になった。このネットワークは、病原体ゲノムデータ解析における将来的な地域間連携の礎とも言え、研修を現地開催したことで得られた大いなる利益と考えられた。

ゲノムデータ解析を十分に理解してもらうためには、12 時間程度の研修時間が必要と考えられた。実際、研修時間が 10.5 時間と短かった東海・北陸ブロックでは、一部の説明を省略せざるを得ず、このことにより研理解度が低い参加者が増えた可能性がある（図 4）。具体的には、初日午前から 2 日夕方まで、もしくは、地理的アクセスが悪いブロックにあっては、初日午後から 3 日目午前までの開催期間とすることで、参加者に研修内容を十分に理解させることができると考えられた。

今後、各地衛研が自律的にゲノムデータ解析を実施していくためには、インターネット環境に問題を抱える地衛研の通信インフラの改善が必要と考えられた（表 1）。インフラ改善のための支援はアンケートにおいても要望があったことから（図 3）、本研究班においても、どのような支援ができるかを考えていく必要がある。

E. 結論

2024 年度に開催した初学者向けのゲノムデータ解析研修会は、成功と言える内容であった。今後、アンケートで得られた研修に対する批判的意見に対応することで内容に磨きをかけ、2025 年度開催の残りのブロックでの研修会を進めていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 インターネット環境に関するアンケート結果

	分類			計
	都道府県	政令市	中核市/特別区	
地衛研独自のインターネット環境あり	36	15	4	55 (65.5%)
地衛研独自のインターネット環境はないが、自治体LANから外部インターネットに接続可能	10	2	7	19 (22.6%)
地衛研独自のインターネット環境はなく、自治体LANにおいても外部インターネット接続不可	1	2	7	10 (11.9%)
計	47	19	18	84

表2 ゲノムデータ解析研修会概要

	近畿	関東・甲・信・静	東海・北陸
日時	2025.1.30-31	2025.2.17-18	2025.2.20-21
場所	大阪健康安全基盤研究所†	川崎市健康安全研究所	愛知県衛生研究所
参加者	15人	15人	14人
参加者（開催地）	25人	4人	9人
研修補助者†	6人	2人	3人
講師	3人	3人	3人
研修時間	12時間	11.5時間	10.5時間
インターネット環境	あり	あり	なし

†開催地でコマンドラインに詳しい者等に依頼した

‡地理的アクセスを考慮して会場を拠点から変更した

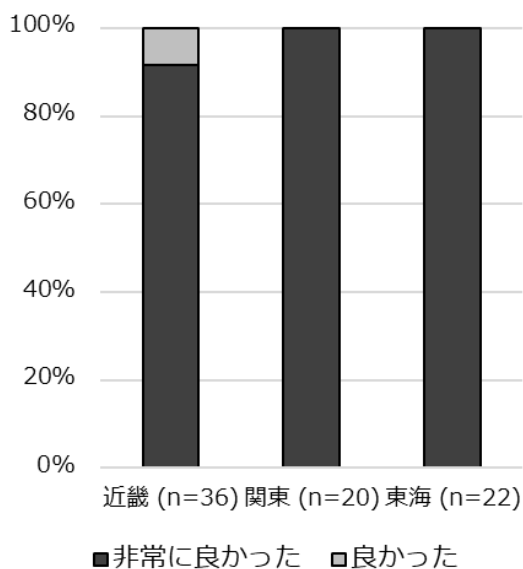


図2 研修の評価

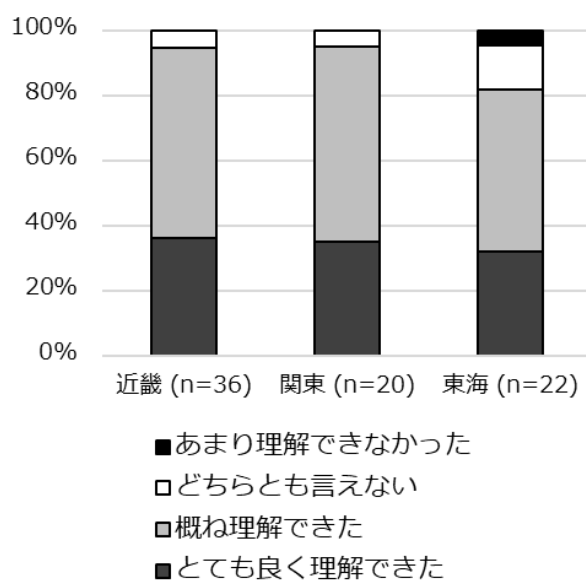


図4 研修の理解度

2024.12.3 第一版  ゲノムデータ解析マニュアル 号外 minicondaからminiforgeに移行 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 7ページ	2024.12.3 第二版  ゲノムデータ解析マニュアル ①WindowsにUbuntuを入れる 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 12ページ
2024.12.3 第二版  ゲノムデータ解析マニュアル ②Ubuntuにminiforgeを入れる 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 9ページ	2024.12.19 第一版  ゲノムデータ解析マニュアル ③5つのゲノムデータ解析ソフトを入れる 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 14ページ
2025.1.14 第一版  ゲノムデータ解析マニュアル ④コマンドラインの基本を学ぼう 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 19ページ	2025.2.10 第二版  ゲノムデータ解析マニュアル ⑤fastqファイルと上手に付き合おう 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 28ページ
2025.2.7 第四版  ゲノムデータ解析 (実習編) ①細菌ゲノムデータをさわってみる 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 17ページ	2025.2.7 第四版  ゲノムデータ解析 (実習編) ②アセンブルから始まる病原体解析 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 24ページ
2025.2.10 第二版  ゲノムデータ解析 (講義・実習編) ③ウイルスゲノム解析 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究班 (厚生労働科学研究費 [2024～25年度] 研究代表: 貞升健志) 研究協力者: 瀬戸順次 (山形県衛生研究所)、和田崇之 (大阪公立大学)、野本 竜平 (神戸市健康科学研究所) 31ページ	図1 事前セットアップ資料 (上段4種類) および研修会資料 (下段5種類)

1. 研修内容について

- **良かった点:** 参加者は、ゲノム解析の基礎からコマンドライン操作に至るまで、初心者にもわかりやすい説明が行われたことを高く評価しており、特に実習が有益だったと感じています。研修中、繰り返しの演習を通じて学びやすかったという意見が多数ありました。コマンドライン操作や基本的な用語解説に関しても、非常に分かりやすく、理解が深まったとの声が多かったです。
- **改善点:** 一部の参加者は、後半に進行が急に早くなり、難易度が上がったため、理解が追いつかないと感じたとの意見もありました。また、研修時間についても、難易度の差により時間が足りないと感じる参加者もいました。

2. 研修の形式・進行について

- **良かった点:** 質問しやすい雰囲気や、講師が受講者に寄り添った指導を行っていた点が好評でした。また、講義や実習の際に、理解度に合わせたサポートがあったことで、特に初心者にとって参加しやすい環境であったとされています。
- **改善点:** 一部の参加者は、内容が急に進んだため、焦りを感じたり理解が不十分な部分があったと報告しています。また、ネット接続環境や自分のデータがなかったことで、実感が持ちづらかったとの意見もありました。

3. 今後に対する要望

- **応用編への期待:** 多くの参加者が基礎編の後に応用編を希望しており、特に中級者向けの実習を含む研修を実施してほしいという声が多数寄せられました。さらなる技術の習得に繋がる内容を希望する声もあります。
- **研修の反復実施:** 講義内容を繰り返し学べる機会があると、より効果的に学習できるとの意見もありました。また、研修後に内容を復習できるアーカイブや、課題として自分のデータで実践できるような環境を希望する声もありました。

4. その他の改善提案

- **事前準備や資料提供:** 資料の配布タイミングや、事前の学習内容についての指示が不十分だったとの声があり、事前準備がさらにスムーズになるような案内があると助かるという意見がありました。また、使用するソフトやファイルのバージョン管理、エクセル関数なども事前に確認できると良いという意見がありました。

5. インフラ面の要望

- **インターネット環境やPC環境:** 一部の参加者から、インターネット接続環境や自分のPCでの操作を事前に確認できるようなサポートがあれば、より実践的に学べたという意見がありました。特に、セキュリティが厳しい環境では、実習が難しく感じることもあったようです。

総じて、参加者は研修内容に満足しており、特に初心者向けのわかりやすい説明と実習が良かったと評価しています。今後は応用編や、より実践的な内容を求める声が多く、研修内容の発展や改善点として、インフラ面でのサポートや事前準備の充実を望む意見がありました。

図3 ChatGPTによる研修の感想（76件）の要約結果

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

微生物分野の基礎的な研修に関する研究

研究分担者	塚越 博之	群馬県衛生環境研究所
研究協力者	猿木 信裕 貞升 健志	群馬県衛生環境研究所長 東京都健康安全研究センター

研究要旨

地方衛生研究所（地衛研）は、衛生行政における技術的・科学的な中核機関に位置づけられる。地衛研は、感染症対策における検査や研究で中核をなす機関であり、高度な検査や新たな検査に対応できる人材を育成することは、課題の一つである。本研究では、地衛研における検査や研究の基礎を学ぶことで地衛研職員全体の底上げを目的として人材育成研修を行った。結果として、Web研修には47施設、280名が参加し、集合型研修には、現地参加が50名、WEB参加は71施設（地全協会員57）、229名が参加した。いずれの研修に対しても満足度が高く、基礎を学ぶ機会の重要性が明らかとなった。また、継続を望む声も多く、継続して基礎力の向上を図っていくことが重要であると考えられる。

A. 研究目的

地方衛生研究所（地衛研）は、衛生行政の科学的、技術的中核機関として、自治体の疾病予防、健康の保持増進、公衆衛生向上を目的として、調査研究、試験検査、研修指導及び公衆衛生情報等の収集・解析・提供等を行う機関である。

特に、感染症（感染性食中毒を含む）やバイオテロ疑い等の病原体検査は健康危機時における重要な担当業務である。さらに、地衛研における病原体検査では、正確かつ高精度の検査が求められており、新興感染症などの検査にも迅速に対応することが求められている。しかしながら、地方自治体においては財政面の不足に加えて、複雑多様化する検査に対応可能な専門職人材が不足しているのが現状である。そこで、本研究では、基礎的な知識と技術の習得による人材育成をすることで地衛研の職員全体の底上げを目的として、地衛研の職員を対象に基礎的な研修を行った。

B. 研究方法

令和6年6月5日に、地方衛生研究所等を対象とした微生物分野の基礎的な研修としてWebを活用した研修を行った。研修では、①感染症法に関する解説、②地方衛生研究所における検査と研究について、③地方衛生研究所におけるバイオセーフティーおよび④リアルタイムPCRに関する講義を実施した。さらに、令和6年11月14日に、集合型研修として、地方衛生研究所等職員セミナー（初任者向け）をWeb併用によるハイブリッド方式で研修を行った。研修では、①ノロウイルスに関する講義、②遺伝子検査をはじめる前に知っておきたいこと、③実習説明、④ノロウイルスリアルタイムPCRについて行った。それぞれの研修会終了後にはアンケート調査を実施し、研修に対する評価や意見を収集した。

C. 研究結果

地方衛生研究所等を対象とした微生物分野の基礎的な研修には、47 施設、280 名が参加した（アンケート回答者のみ集計）。研修内容に対しては、それぞれの講義において、満足度については 80%以上が良いと回答していることから研修に対する満足度は高かった（図 1）。また、今後、研修で取り上げてほしいテーマについての回答では、遺伝子の取り扱い方および検査方法や細菌・ウイルスの遺伝学的な解析方法に関する要望が多かった。

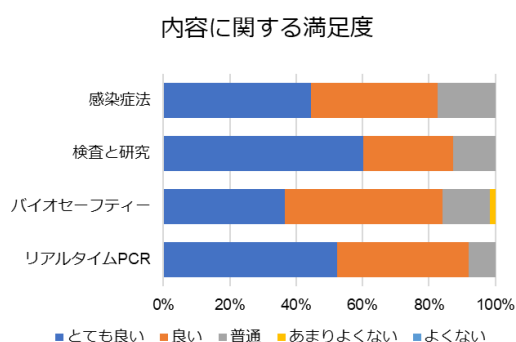


図1 Web研修に対する満足度

集合型の研修である地方衛生研究所等職員セミナー（初任者向け）には、現地参加が 50 名、WEB 参加は 71 施設（地全協会員 57）、229 名が参加した（アンケート結果から集計）。現地参加者は、衛研配属年数が 1 年目である参加者が 31 名（62%）である一方、自治体職員としては 5 年以上の経験がある参加者が 26 名（52%）であった（図 2）。研修終了後のアンケートから、満足度については 80%以上が良いと回答していることから研修に対する満足度は高かった（図 2）。さらに、研修の継続に関しては、現地参加者が 9.40、Web 参加者が 9.49 であった（10 点

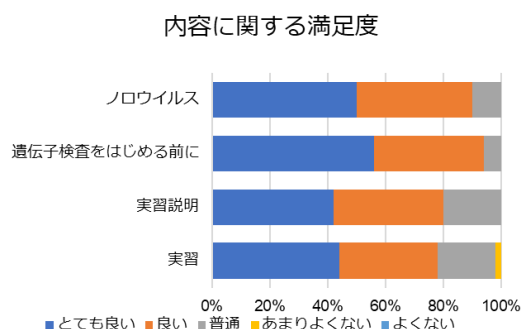


図2 集合型研修に対する満足度

満点で集計）。

D. 考察

Web 研修および対面での研修を実施したところ、満足度も高く研修の継続を望む声が多かった。地衛研では、人事異動が頻繁に行われる自治体もあり、業務に関する事務的な引継ぎのみで、検査業務等に従事している現状がある。研修では、日ごろから行っている検査でも、理解が不足している点があることやルーチン業務から研究へつなげるヒントを得るなど、実践的な内容についての評価が高かった。また、対面での研修では、基礎的な部分を中心に細かく学べた点に加えて、他の自治体との交流も非常に有益であったと考えられる。いずれの研修でも継続を望む声が多く、さまざまな研修に対する要望があると考えられる。

E. 結論

自治体においては、人事異動もあり、人材を確保・維持は難しい現状があるので、研修に対する期待・継続への要望は強い。病原体の検査においては、高度な手法が入ってきており、人材の育成は必要不可欠である。本研修活動をとおして、基礎を学び、応用力を高めて、正確な検査・研究につなげていくことで感染症発生事案における。

謝辞

研修会に多大なご協力をいただきました国立感染症研究所 齋藤智也先生、川崎市健康科学研究所 岡部信彦先生、サーモフィッシャーサイエンティフィック 澤口穰先生、タカラバイオ株式会社 梅田直先生、中筋愛先生、西川聖子先生、篠崎香菜先生、栃木県保健環境センター 齋藤明日美先生、埼玉県衛生研究所 江原勇登先生、さいたま市健康科学研究所センター 蕪木康郎先生、千葉県衛生研究所 蜂巢友嗣先生、花田裕司先生、東京都健康安全研究センター 吉村和久先生、長島真美先生、浅倉弘幸先生、大阪健康安全基盤研究所 左近直美先生、また、事務局としてご協力いただきました一般財団法人日本公衆衛生協会

若井友美様、松原未貴様に感謝申し上げます。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築

研究分担者 長島 真美 東京都健康安全研究センター
研究協力者 浅倉 弘幸 東京都健康安全研究センター

研究要旨

原因不明疾患等における次世代シーケンサー（NGS）の利用は、近年、重要視されており、年々増加傾向にある。一方で、解析法についてはこれといった標準法はなく、地方衛生研究所（地衛研）独自の解析方法の確立が急務である。今回、不明疾患解析検体およびアンプリコン NGS 解析を行う解析ソフト PaHuM ならびに MTAAP の評価を行った。結果として、どちらの解析ソフトも機能的に市販ソフトと同等以上であることが示され、十分に地衛研の NGS 解析に役立つことが示された。また、これらソフトの利用法を含めて、地衛研の職員を対象とした Web 研修会を実施した。

A. 研究目的

原因不明疾患における、次世代シーケンサー（NGS）の利用および解析は、従来より重要視されてきた。特に、茨城県衛生研究所が関与し、報告がなされたオズウイルス感染症の究明では、国立感染症研究所（感染研）の解析システムが使用された経緯がある。一方で、感染研の解析システムは、現在、地方衛生研究所（地衛研）の使用が不可能であり、地衛研独自の不明疾患検査体制の確立（解析方法の確立）が急務であった。

また、多数のプライマーを使用し、PCR を行った後に NGS 解析を行うアンプリコンベースの NGS 解析では、NGS 解析の感度・特異性向上で重要な要素であるが、最終的に使用したプライマーの除去が必須である。この手法は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）解析で、全国で実施されてきた。この解析では、感染研の Web サイト：PathoGenS が利用されているが、SARS-CoV-2 以外の病原体解析には利用できない。

そこで、本研究では、原因不明疾患における網羅的解析やアンプリコン NGS 解析に適した解析ソフトの構築・導入と、地衛研への研修を目的とする。

B. 研究方法

1. 不明疾患解析検体の解析

東京都健康安全研究センターウイルス研究科に搬入され、ノロウイルスが検出された糞便検体 2 検体から抽出した RNA を供試し、NGS データをウイルス解析用パイプライン（PaHuM）（関塚産業有限会社）で解析を行い、検出したウイルスゲノムのリード数で解析ソフトの有用性を検討した。さらに、インフルエンザウイルスウイルスが検出された臨床検体より rRNA の除去の有無による解析データを検討した。

2. アンプリコン NGS 解析

東京都健康安全研究センターウイルス研究科に搬入された SARS-CoV-2 検体で、PCR 増幅後の産物を解析ソフト MTAAP（関塚産業有限会社）と従来法でのプライマー部分の除去、コンセンサス配列の取得を比較検討した。

3. Web 研修会

本研究班で検討したウイルス解析用パイプラインの使用例を地衛研セミナーとして、Web 研修を実施する。

（倫理面への配慮）

本研究班で実施する事項については、東

京都健康安全研究センター倫理委員会で承認されている（6 健研健第 906 号）。

C. 研究結果

1 不明疾患解析ソフトの使用

ウイルス解析用パイプライン（PaHuM）は（図 1）、臨床検体を用いた NGS 解析データ（メタゲノム）中に含まれる宿主（ヒト）ゲノムの除去、およびウイルスデータベースを用いたウイルスリードの検索を行うソフトである。ノロウイルスが Ct 値 30 前後で検出された糞便検体 2 検体の解析で、それぞれ Contig の長さは異なるが、2 検体からノロウイルス GI が検出された（図 2）。

また、rRNA の除去効果を見る目的で、検討したところ、rRNA 除去した方が、各セグメントのリード長、カバレッジともに高い結果が得られた（図 3）。

2 アンプリコン NGS 解析

解析ソフト MTAAP は、アンプリコン内のプライマー配列を除去するのみではなく、コンセンサス配列の取得や、変異解析まで可能である（図 4）。

今回、SARS-CoV-2 の解析を本ソフトで実施したところ、従来、Ubuntu（プライマー除去）+CLC Genomics Workbench（変異解析）で 40 分であったものが、MTAAP では 5 分程度であった（図 5）。また、解析能力については、CLC Genomics Workbench の解析と概ね一致した。一部では、CLC で変異の無いとされた部分が、MTAAP では Mix 塩基と判定されるなど、有用性が示された（図 6）。

3. Web 研修会

テーマ：「不明疾患における NGS 解析法について考えてみる」で地衛研 Web セミナー第 4 回「Mini」を、テーマ：「不明疾患における NGS 解析ソフト PaHuM と PCR 増幅後の NGS 解析用ソフト MTAAP のご紹介」で、地衛研 Web セミナー第 5 回「Mini」を実施した。

●地衛研 Web セミナー第 4 回「Mini」

① 江原勇登（埼玉県衛生研究所）

「不明疾患における NGS 使用と解析について」

② 浅倉弘幸（東京都健康安全研究センター）

「糞便材料を使用した NGS 解析により判明したアストロウイルス」

③ 黒木絢士朗（東京都健康安全研究センター）

「海外のサイトを利用した NGS 解析（原因不明疾患）の比較と問題点」

④ 木村博一（群馬パース大学大学院保健科学研究科）

「メタゲノム解析・ウイルスゲノム解析用バイオインフォマティクスパイプラインプログラムの使用経験」

⑤ 関塚剛史（関塚産業有限会社）

「メタゲノム解析・ウイルスゲノム解析用バイオインフォマティクスパイプラインプログラム PaHuM のライセンス・仕様等について」

●地衛研 Web セミナー第 5 回「Mini」

① 関塚剛史（関塚産業有限会社）

「メタゲノム解析・ウイルスゲノム解析用パイプライン PaHuM の使用方法の説明について」

② 江原勇登（埼玉県衛生研究所）

「マルチプレックスタイピング PCR 増幅断片解析用 バイオインフォマティクスパイプラインプログラム MTAAP の使用経験（その 1）」

③ 浅倉弘幸（東京都健康安全研究センター）

「MTAAP の使用経験（その 2）」

④ 関塚剛史（関塚産業有限会社）

「MTAAP の仕様等について」

D. 考察

今回、不明疾患解析検体およびアンプリコン NGS 解析を行う解析ソフト PaHuM ならびに MTAAP の評価を行った。不明疾患解析での NGS 利用は、オズウイルス感染症の報告から、地衛研の業務としての期待が大きい。一方で、解析を担ってきた感染研の Web 解析ソフトが使用できない現状あった。また、海外でも同様の Web 解析サイトはあり、同様の結果は得られるものの、ヒトゲノムを含む可能性もあり、躊躇する地衛研も多い。今回、新たに導入可能なソフトの有用性を示すことができ、今後の地衛研における使用拡大が期待される。特に、MTAAP については、解析ソフトの開発をこちらから持ち込み、共同開発を行った。

結果として、どちらの解析ソフトも機能

的に市販ソフト以上であることが示された。

一般に、NGS 解析ソフトの値段は著しく高い。今回、検討した解析ソフトは、十分に地衛研の NGS 解析に使用可能であることが示された。

E. 結論

不明疾患解析検体およびアンプリコン NGS 解析を行う解析ソフト PaHuM ならびに MTAAP は、地衛研における NGS 解析用ソフトとして、安価かつ高機能であり、利用可能である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kaku Y, Okumura K, Kawakubo S, Uriu K, Chen L, Kosugi Y, Uwamino Y, Begum MM, Leong S, Ikeda T, Sadamasu K, Asakura H, Nagashima M, Yoshimura K; Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium; Ito J, Sato K.: Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XEC variant., Lancet Infect Dis. 2024 Dec;24(12):e736. doi: 10.1016/S1473-3099(24)00731-X. Epub 2024 Nov 6.

2) Kumagai R, Kawakami M, Kasuya F, Yamada K, Takahashi A, Murayama K, Morita K, Kaneyasu T, Tamai N, Hasegawa M, Harada S, Amano A, Fujiwara T, Miyake H, Nagashima M, Sadamasu K.: Sewage surveillance of SARS-CoV-2 in Tokyo (May 2020-June 2022): method using high-throughput, fully-automated platform., Virusdisease. 2024 Sep;35(3):520-524. doi: 10.1007/s13337-024-00880-z. Epub 2024 Jul 2.

3) 黒木 絢士郎：ノロウイルス遺伝子型別における RNA-Seq NGS 解析サイトの活用、東京都微生物検査情報、45, 6-8, 2024

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

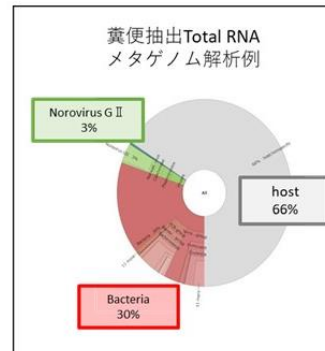
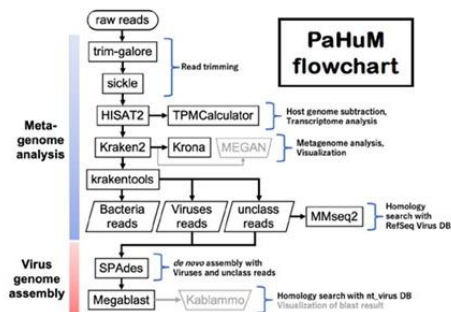
3. その他

なし



メタゲノム解析・ウイルスゲノム解析用パイプライン

- ・メタゲノム中に含まれるホスト（ヒト）ゲノム除去
- ・ウイルスデータベースを用いたウイルスリードの検索



Kraken2 detected virus name	MMseqs2 detected virus name with Kraken2 unclass reads	Num. virus sequence
Norwalk virus (295); Primate norovirus (7)	Norwalk virus (400)	4

Contig length	Coverage read depth	Subject sequence id	Hit seq title
6727	11.0	MK596174.1	Norovirus GI isolate G29-G32 nonstructural polyprotein (ORF1) gene, partial cds; VP1 (ORF2) gene, complete cds; and VP2 (ORF3) gene, partial cds

図1. ウイルス解析用パイプライン (PaHuM) について

ライブラリ調製試薬： SEQuoia Express Stranded RNA Library Prep Kit
 rRNA除去（ヒト）： SEQuoia RiboDepletion Kit
 次世代シーケンサー： iseq 150bp×2 PE
 解析： PaHuM

Sample : 1
 Virus : Norovirus
 GI
 RNA : 糞便乳剤
 Ct : 30.0

Kraken2 detected virus name	MMseqs2 detected virus name with Kraken2 unclass reads	Num. virus sequence
Norwalk virus (295); Primate norovirus (7)	Norwalk virus (400)	4

Contig length	Coverage read depth	Subject sequence id	Hit seq title
6727	11.0	MK596174.1	Norovirus GI isolate G29-G32 nonstructural polyprotein (ORF1) gene, partial cds; VP1 (ORF2) gene, complete cds; and VP2 (ORF3) gene, partial cds
550	3.8	MK596175.1	Norovirus GI isolate G19-003 nonstructural polyprotein (ORF1) gene, partial cds; VP1 (ORF2) gene, complete cds; and VP2 (ORF3) gene, partial cds
434	1.8	MK596176.1	Norovirus GI isolate BA81265 nonstructural polyprotein (ORF1) gene, partial cds; and VP1 (ORF2) and VP2 (ORF3) genes, complete cds
257	0.8	PQ894187.1	Norovirus GI isolate IC_285 nonstructural polyprotein (ORF1) and VP1 (ORF2) genes, complete cds; and VP2 (ORF3) gene, partial cds

Sample : 2
 Virus : Norovirus
 GI
 RNA : 糞便乳剤
 Ct : 29.8

Kraken2 detected virus name	MMseqs2 detected virus name with Kraken2 unclass reads	Num. virus sequence
Norwalk virus (60); Primate norovirus (44); Shallot latent virus (1); Tobacco mild green mosaic virus (1)	Norwalk virus (110); Primate norovirus (51); Shallot latent virus (2)	10

Contig length	Coverage read depth	Subject sequence id	Hit seq title
826	7.0	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
1906	6.3	MN922742.1	Norovirus GI isolate Hu/GI.3/TW3108/2019/TWN nonstructural polyprotein, RdRp region, (ORF1) and VP1 (ORF2) genes, partial cds
372	5.2	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
710	4.2	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
1498	3.9	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
842	3.3	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
915	3.0	PQ632217.1	Norovirus GI isolate NS19217 nonstructural polyprotein (ORF1), VP1 (ORF2), and VP2 (ORF3) genes, complete cds
291	0.8	MK596174.1	Norovirus GI isolate G29-G32 nonstructural polyprotein (ORF1) gene, partial cds; VP1 (ORF2) gene, complete cds; and VP2 (ORF3) gene, partial cds

図2. PaHuMを用いたノロウイルス解析例

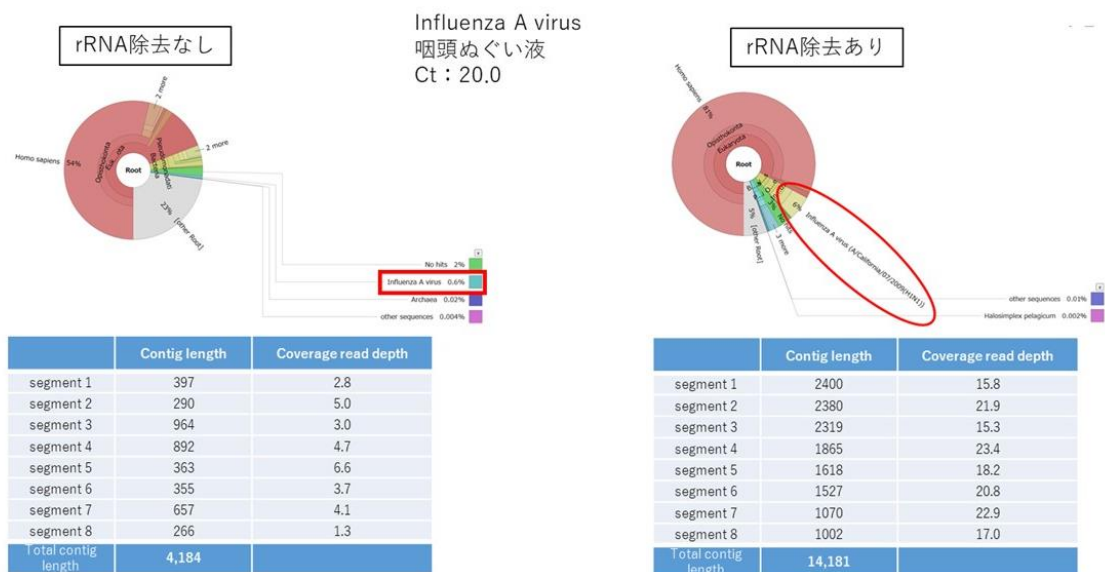
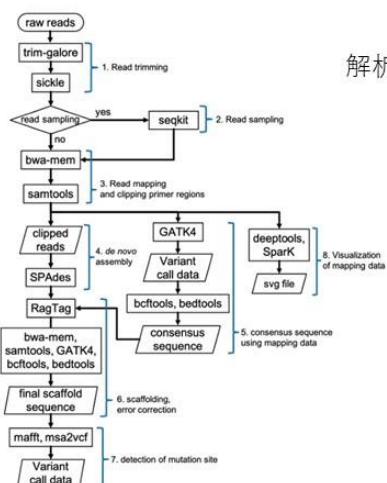


図3. rRNA除去の有無によるインフルエンザウイルス解析例



マルチプレックスPCR 増幅断片解析用パイプライン



解析対象ウイルスゲノムをマルチプレックスPCRで増幅

増幅産物のプライマー部分を除去し、
コンセンサス配列を取得

変異解析

ウイルス特異的な変異の検出

- 大きな欠損
- 混合感染
- ミックスアレル

図4. ウイルス解析用パイプライン (MTAAP) について

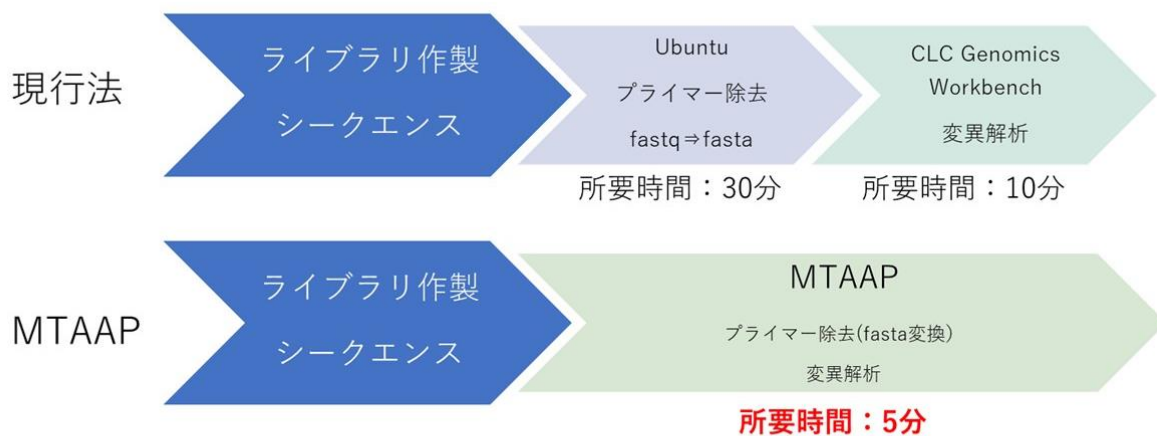


図5.MTAAPを使った新型コロナウイルス解析①



図6. MTAAPを使った新型コロナウイルス解析②

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

原因不明疾患におけるゲノム解析法の構築

研究協力者 江原 勇登 埼玉県衛生研究所 専門研究員
牧野 由幸 埼玉県衛生研究所 主任
(現 埼玉県熊谷保健所)

研究要旨

網羅的ゲノム解析ツールである MePIC、PaHuM 及び CZ ID を比較し、PaHuM 及び CZ ID が MePIC の後継解析ツールとなり得るか調べた。MePIC で病原ウイルスゲノムを検出した 3 検体の NGS データを用い、PaHuM 及び CZ ID で追加の解析を行い、検出したウイルスゲノムのリード数をそれぞれの解析ツール間で比較した。3 検体の内 2 検体は病原ウイルスを 3 つの解析ツール全てで同リード数検出し、残りの 1 検体はリード数には若干の違いがあるものの、目的とする病原ウイルスを検出した。いずれの解析ツールもメタゲノム解析のツールとして相互の信頼性が高いと考えられた。

A. 研究目的

次世代シーケンサー(以下 NGS という。)を用いた原因不明疾患における網羅的解析は、健康危機管理を担う公的検査機関として非常に重要である。これまで国立感染症研究所ゲノム解析研究センターが開発した網羅的ゲノム解析ツールである MePIC により解析を実施していたが、その解析システムは 2023 年に廃止になったことから、後継となる解析ソフトウェアが必要となっていた。そこで、MePIC の開発者が独立後に新規に開発した PaHuM と、国立感染症研究所や地方衛生研究所で解析実績のある海外の解析プラットフォームの 1 つである CZ ID で解析結果を比較し、後継の解析ソフトウェアとなり得るか調べた。

B. 研究方法

2023 年に、埼玉県の感染症重大事案対策事業として当所に搬入された 15 歳以下の急性脳炎・脳症、無菌性髄膜炎及び不明ウイルス感染症等 6 症例 23 検体のうち、NGS データを MePIC により解析し、病原ウイルスゲノムを検出した 3 検体(検体 1~3)の NGS データを用いた。3 検体の NGS データを、PaHuM 及び CZ ID で追加の解析を

行い、検出したウイルスゲノムのリード数をそれぞれの解析ツール間で比較した。

なお、NGS 検査におけるライブラリーキットは、SMARTer Stranded RNA-Seq Kit HT(タカラバイオ)を使用し、AMPureXP (BeckmanCoulter) で精製後、MiSeq Reagent Kit v3 150bp (Illumina) でシングルエンドシーケンスを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、埼玉県感染症重大事案対策事業の一環として実施した。データの学術的利用については埼玉県衛生研究所倫理審査委員会の審査を受け、許可を得た(承認日: 2018 年 8 月 29 日)。

C. 研究結果

1 検体 1

MePIC では全ウイルス 47 リードのうち 4 リード(9%) からムンプスウイルスを検出、PaHuM では全ウイルス 132 リードのうち 4 リード(3%)ムンプスウイルスを検出、CZ ID では全ウイルスリード数はカウントされないが、ムンプスウイルスが 4 リード検出した。MePIC、PaHuM、CZ ID の全ての解析ツールでムンプスウイルスを 4 リー

ド検出した（表 1）。

表1 各ゲノム解析ツールによるリード数の比較(検体1)

解析ツール	全リード数	全ウイルス	ムンプスウイルス	その他のウイルス
MePIC	711,316	47	4	43
PaHuM	711,316	132	4	128
CZ ID	711,316		4	

2 検体 2

MePIC では全ウイルス 8,937 リードのうち 9 リード (0.1%) からパラインフルエンザ 3 型を検出、PaHuM では全ウイルス 6,055 リードのうち 9 リード(0.1%)パラインフルエンザ 3 型を検出、CZ ID では全ウイルスリード数はカウントされないが、パラインフルエンザ 3 型を 9 リード検出した。MePIC、PaHuM、CZ ID の全ての解析ツールでパラインフルエンザ 3 型を 9 リード検出した（表 2）。

表2 各ゲノム解析ツールによるリード数の比較(検体2)

解析ツール	全リード数	全ウイルス	パラインフルエンザ3型 ウイルス	その他の ウイルス
MePIC	2,926,738	8,937	9	8,928
PaHuM	2,926,738	6,055	9	6,046
CZ ID	2,926,738		9	

3 検体 3

MePIC では全ウイルス 1,136 リードのうちヒトヘルペスウイルス 6 が 57 リード(5%)、ヒトヘルペスウイルス 6B が 1,048 リード (92%) を検出、PaHuM では全ウイルス 1,142 リードのうちヒトヘルペスウイルス 6A を 12 リード(1%)、ヒトヘルペスウイルス 6B を 1,098 リード(96%)検出、CZ ID では全ウイルスリード数はカウントされないが、ヒトヘルペスウイルス 6 を含む突発性発疹ウイルス(Roseolovirus)が 1,063 リード検出した。リード数は異なるものの、MePIC、PaHuM、CZ ID の全ての解析ツールでヒトヘルペスウイルス 6A 及びヒトヘルペスウイルス 6B を含むヒトヘルペスウイルス 6 を検出した。

表3 各ゲノム解析ツールによるリード数の比較(検体3)

解析ツール	全リード数	全ウイルス	ヒトヘルペス ウイルス6	ヒトヘルペス ウイルス6A	ヒトヘルペス ウイルス6B	突発性発疹 ウイルス	その他の ウイルス
MePIC	5,426,312	1,136	57		1,048		31
PaHuM	5,426,312	1,142		12	1,098		32
CZ ID	5,426,312					1,063	

D. 考察

MePIC と PaHuM で比較すると、全ウイルスリード数に違いが見られたことから、解析リードの真核生物、細菌、ウイルスへの分類能には差が見られると考えられた。

病原ウイルスのリード数については、検

体 1 ではムンプスウイルス、検体 2 ではパラインフルエンザウイルス 3 型がそれぞれ同じリード数検出したが、検体 3 ではヒトヘルペスウイルス 6 を検出したものの、リード数やウイルス名の表記名は異なっていた。このことからリード数が増えると解析ツールによる誤差が見られることが示唆されたものの、大きな差はなく、全ての解析ツールで目的とする病原ウイルスを同様な信頼性で検出できると思われた。

E. 結論

検証したデータは少ないものの、MePIC、PaHuM、CZ ID で目的とするウイルスを検出することができたことから、いずれの解析ツールもメタゲノム解析のツールとして相互の信頼性が高いと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

次世代シーケンサーに関わる各種検査マニュアルの作成：
疫学調査における NGS 解析の利用に関する研究

研究分担者 久保田 寛顕 東京都健康安全研究センター 課長代理
野本 竜平 神戸市健康科学研究所 副部長

研究要旨

集団食中毒をはじめ病原性細菌に起因する集団感染が発生した場合、地方衛生研究所ではパルスフィールド電気泳動（PFGE）による系統解析を行い、その結果をもって保健所等と連携し、事例究明と収束に向けた対応に当たってきた。今後、PFGE に代わり、一塩基単位の解像度で全ゲノム比較を行うことが可能な次世代シーケンサー（NGS）を用いた菌の比較が求められる。本研究課題では系統解析法としての NGS の活用方法を検討するとともに、その手法を統一化することを目的とした精度保証とマニュアル作りを行い、全国の地方衛生研究所を対象とした研修に落とし込む。特に本課題では NGS により取得したリードデータを解析し、菌株間の近縁関係を数値化する部分を方向づけることに焦点を当てる。

まず、PFGE の代替法という観点から、同一サンプルに対して PFGE と NGS の二法による分析を実施し、直接的な比較検証を行った。*Acinetobacter baumannii* 14 株（うち、13 株が Sequence Type [ST] 208、1 株が ST1316）をテストサンプルとしたところ、同一 ST である 13 株間ではバンドの相違数が 5 本以内、一塩基変異（SNV）数が 35 以内という、両法ともに近縁という結果が得られつつも、それらの数値には明確な相関が見られなかった。したがって、少なくとも全ての菌種に対して一様に PFGE における疫学的解釈を単純に NGS に置き換えることは難しく、集団感染とみなす SNV の線引きについては各菌種において検討する必要があると考えられた。さらに、NGS ではマッピング解析に用いるリファレンスの選定や、遠縁株を含むか否かという条件によっても検出される SNV の数が影響されることを確認した。これらのことは、いずれもリファレンスならびに供試株が共通に保有し、解析対象となるコアゲノム領域の増減によるものであり、リファレンス自身が供試株に対して遠縁な場合や、供試株の中に遠縁な株が含まれた場合にコアゲノム数が減少し、結果として検出 SNV 数の減少につながっていた。

今年度、NGS 解析の注意点として、リファレンスの選定、遠縁株の除外というポイントが明確になった。今後はこれらに加えて低品質のデータを除くといった工程を経た上で、マニュアル整備へと移る。その際は、本研究班における他の個別課題や、地衛研ネットワークの中で行われる研修などに参加するなどし、全国地衛研の職員との情報共有を行っていくことを考えている。

A. 研究目的

集団食中毒をはじめとする病原体による集団感染が発生した際、全国の地方衛生研究所（以下、地衛研）では本庁、保健所等との連携のもと、事例の究明と収束に向けた対応にあたる。この際、地衛研では主としてヒトや環境サンプルなどの分析を行い、科学的データを与えることをもって疫学調査をより強固なものとする役割を担う。特に腸管出血性大腸菌など、細菌が原因となる集団感染が起きた際は、分離株の一致、不一致を見る方法として、これまでパルスフィールド電気泳動（PFGE）法がゴールドスタンダードとして用いられてきた。しかし、PFGE 法に用いる標準的な泳動装置が今後製造終了になり、使用不能となることが知られている。このため、集団感染を追跡する上で、PFGE 法に代わる方法の策定が喫緊の課題である。

そこで、本研究課題では PFGE の代替法として次世代シーケンサー（NGS）の活用を検討する。従来、菌型を比較する方法として PFGE は最も解像度の良い方法であったが、NGS の登場により一塩基単位での比較が可能となり、PFGE と同等か、それ以上の解像度で集団感染を追跡できるようになってきた。その一方で、NGS は機器から出力される膨大なデジタルデータをバイオインフォマティクスにより処理して結果としていく必要がある。また、疫学調査との比較として一定の方法論（表 1）がコンセンサスを得ている PFGE に比べると、NGS では一塩基変異（SNV）の有無による菌の一致、不一致を線引きする基準がいまだ曖昧な状況にある。

表 1 PFGE における解釈
(Tenover et al., 1995, J. Clin. Microbiol.)

相違バンド数	近縁関係	疫学的解釈
0 本	区別不能	集団感染
2 から 3 本	近縁	集団感染の可能性が高い
4 から 6 本	近縁の可能性	集団感染かもしれない
7 本以上	遠縁	非集団感染

そこで、NGS を実務的な集団感染対応へ活用するためにも解析手法の統一化やその精度を保証する仕方を整理するための検討を行っていく。なお、次世代シーケンサーにより生データを取得する工程、すなわちウェットの作業については地衛研ゲノム解析ワーキンググループにおける統一的マニュアルの作成と重複する。さらに、実際に行行政依頼に対して保健所等に結果を発行する形式に関しては各自治体に適した形があると考えられる。したがって、本研究課題ではその間をつなぐデータ解析部分を対象とする（図 1）。

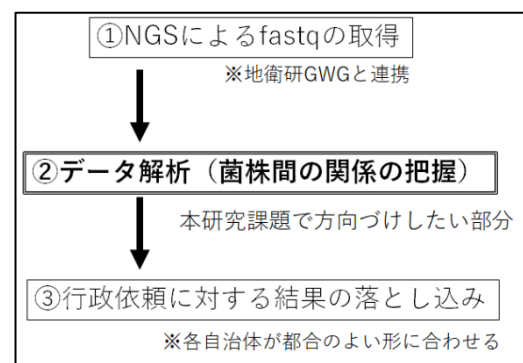


図 1 地衛研における NGS 対応

B. 研究方法

本研究課題は PFGE の代替法としての NGS の活用方法を探るものであるため、まずは同一サンプルに対して PFGE と NGS の分析を行い、出力されたデータについての直接的な比較検討に着手した。加えて、一塩基多型（SNP）解析のマニュアル化を行う上で重要と考えられる、解析結果に対して影響を与えうる要因を特定するために同一データに対して解析条件を変化させ、その結果を評価することとした。

まず、テストサンプルとして、過去に分離された *Acinetobacter baumannii* 14 株（うち、13 株は ST208 であり、残り 1 株は ST1316）について、両法にて分析を行った後、相関の有無の判断や、NGS 解析におけるリファレンス配列の違い等に起因する解析結果の変動について評価を行った。

1) PFGE

米国 CDC の方法に従って菌液からプラグを作成し、制限酵素 *ApaI* にて処理した後、CHEF Mapper システム (バイオラッド) にて電気泳動を行った。EtBr にて染色して得られた泳動パターンから、目視にて異なるバンドの本数を判定した。

2) NGS

菌株から抽出したゲノム DNA を用いて Nextera XT Library Preparation Kit (イルミナ) にてライブラリ調製を行った後、MiSeq (イルミナ) にて 300bp × 2 のペアエンドのリードデータを得た。次に、得られたリードデータを BactSNP を用いてリファレンスに対するマッピング解析により SNP コールを実施した。その後 Snippy によりコア領域の抽出とコアゲノムアライメントを取得した。取得したアライメントファイルから Gubbins を用いることで組換え領域を推定し、その個所を除去した SNP セットを取得した。マッピング時のリファレンスには、国際塩基配列データベース上に登録されている *A. baumannii* の Type Strain である ATCC19606 株 (以下、標準株)、または ST208 である XH386 株 (以下、ST208 株) のゲノムデータを用いた。

3) データ解析結果の検証

Snippy によるアライメント時、ならびに Gubbins 処理時の出力ログファイルを用い、計算に使用された SNP の数を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究で用いた臨床分離株は、分離元とは連結不能な匿名化がされていることに加えて、本研究課題では一切の個人情報を用いず、個人が特定されることはない。また、東京都健康安全研究センター倫理審査委員会により、承認を受けているものである (6 健研健第 906 号)

C. 研究結果

1) PFGE における相違バンド数と SNV 数の比較

NGS で標準株をリファレンスとした場合の結果を図 2 に示した。検討に使用した 14 株の中で ST が異なる一株についてはそのほかの株に対して PFGE では 10 本以上のバンドが異なっており、また、SNV の数も 20 万を超えていたため、図には示していない。

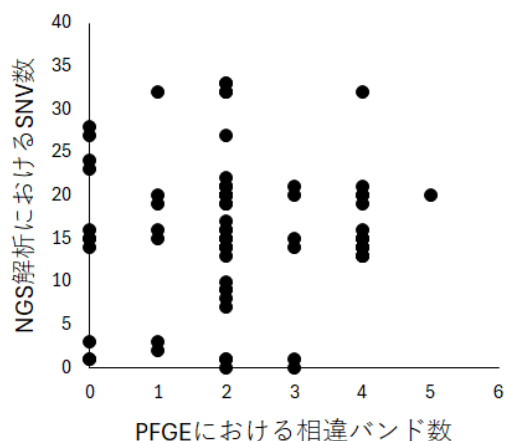


図 2 PFGE と NGS の比較

また、リファレンスを標準株から ST208 株に変更した場合、ならびに解析対象から ST1316 の一株を除いた場合に算出された SNV 数の変化を図 3 に示した。比較しやすいように、標準株と同じ SNV 数だった場合の理論直線を同時に示している。

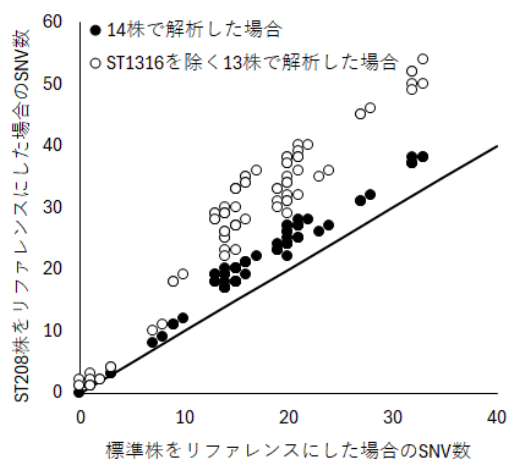


図 3 リファレンス、解析株数による変化

2) 解析対象となった SNP 数の検証結果

今回の解析でリファレンスやサンプルセットを変更した際のコアゲノム (全株に共通の領域) の変化を図 4 に、またそれぞれ

の解析での総 SNV 数と組換え領域内として除去された SNV 数を表 2 に示した。

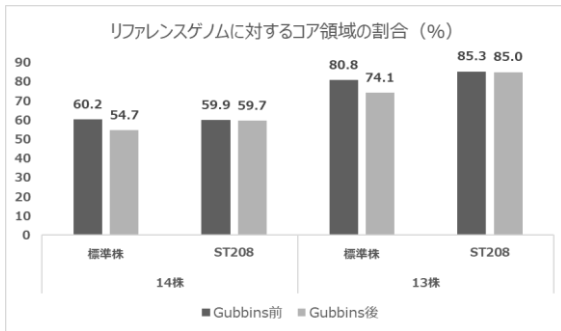


図 4. 各解析によるコア領域の変化

表 2 各解析における SNV 数

解析株数	14 株		13 株	
リファレンス	標準株	ST208	標準株	ST208
総 SNV 数 (Gubbins 前)	242,951	228,239	55,036	648
除去された SNV 数	23,950 (9.9%)	924 (0.4%)	17,392 (31.6%)	478 (73.8%)

リファレンスゲノムに対するコアゲノム領域の割合は 14 株で解析した場合は 60% 前後であったのに対し、異なる ST の 1 株を除いた 13 株の解析では 80~85% となった。一方でリファレンスを変更した場合はコアゲノム領域の割合に与える影響は軽微であった。

また、各解析における総 SNV 数は 14 株で解析した場合はリファレンスに関わらず 20 万個を超える SNV が検出された一方で、13 株での解析では標準株をリファレンスにした場合は約 55,000 個、同一 ST をリファレンスにした場合は約 650 個の SNV となった。Gubbins による組換え領域除去を実施すると、14 株、13 株どちらの解析においても、リファレンスが標準株の場合は 17,000~23,000 個程度の SNV が除去され、リファレンスを ST208 にした場合は数百個の SNV のみが除去された。

D. 考察

当初は PFGE と NGS との結果の間に一定の相関があり、相違バンド数から SNV 数に差し替えることによって PFGE での疫学的解釈を NGS での解析に利用する可能性

も想定していた。しかし、少なくとも同一 ST となった *A. baumannii* 株については二法による相関は小さかったことから、一概にそうした図式は成り立たないと考えられた。ただし、本試行で用いた *A. baumannii* が特に二法の相関が小さい菌種だった可能性も否定できないことや、ST208 が国際流行株として知られる特定の系統だったことから、特異的な結果を生んだ可能性も否定できない。少なくとも、あらゆる菌種に対して菌種の一致、不一致を決める統一的な SNV の線引きを設定することは難しいと考えられた。

また、算出される SNV 数がリファレンスとする配列や、解析に含む株によっても変動することが確認された。コアゲノム領域については、リファレンス配列も含めた解析配列全体で判定されるため、今回の解析において異なる ST が混入していた 14 株の解析では大きくコアゲノム領域が減少することとなった。コアゲノム領域外にある SNV は解析には含まれないため、解析の分解能を向上させるためには遺伝系統的に離れた株は解析から排除することが望ましいと考えられる。また、組換え領域の除去に関してはリファレンスの影響が大きかった。これは Gubbins というソフトの仕様上、一株のみに検出される SNV では組換え領域として判定されないという事が寄与している。今回の解析では遺伝系統的に離れた株は 1 株だったため、その株を除去するかどうかは組換え領域の解析ではあまり影響せず、リファレンスを変更することにより近接 SNV がどれだけ検出されるかどうかの方が影響が大きかったと考えられる。

E. 結論

集団感染を追跡するツールとして PFGE から NGS へと移行するにあたり、まず SNV 数による線引きを決めていくことが急務であるが、それと同時に解析方法についても一定の道筋を提案することが重要である。本研究課題の一年目の結果から導かれる、統一する必要がある、解析結果に影響を及ぼすと考えられる部分はリファレンスの選定と、解析対象に含む株であった。

その一方で、今回は異なる ST という遠縁株が含まれたことによる解析結果の変化が大きかったが、例えば近縁であっても低品質のリードデータが含まれると、その株のみならず全体の解析結果に悪影響を及ぼす可能性があるため、二年目は早々にこのことについても検証を進める。

そして、そうした解析の注意点が絞られ次第、解析マニュアルの作成に移るとともに、地衛研職員との情報共有を図っていく。マニュアル化に際しては、リードデータから SNV 数を導く部分はオープンソース、あるいは市販のソフトウェアの使用方法に準拠することになると想定されるため、本研究課題ではそのようなソフトウェアから出力される結果からリファレンスを選定して再解析を行う方法や、遠縁の株を除くといった自動化されない、使用者の判断に委ねられる部分についてマニュアルを整備していくことを考えている。さらに、他の個別課題における研修や、地衛研ネットワークの中で行われる講習などに一部相乗りするような形で周知も考慮していく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mitobe M, Kubota H, Kobayashi K, Miyake H, Takano M, Mizushima D, Gatanaga H, Oka S, Suzuki J, Sadamasu K. Clustering of Polymorphic Membrane Protein E Clade in *Chlamydia trachomatis* Lineages from Men Who Have Sex with Men. *Emerg Infect Dis.* 30(10):2183-2187. 2024.
- 2) Uchitani Y, Okuno R, Ariyoshi T, Kubota H, Suzuki J, Sadamasu K. Genetic characteristics of invasive pneumococcal disease-derived *Streptococcus pneumoniae* of serogroup 24 isolated in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother.* 202. 31(1):102484. 2025.
- 3) Ando N, Mizushima D, Takano M, Mitobe M, Kobayashi K, Kubota H, Miyake H, Suzuki J, Sadamasu K, Aoki T, Watanabe K, Oka S, Gatanaga H. Prolonged sitafloxacin and doxycycline combination regimen for treating infections by highly resistant *Mycoplasma genitalium*. *J Antimicrob Chemother.* 2025. 80(1):247-253. 2025.
- 4) Kubota H, Okuno R, Kenri T, Ucitani Y, Ariyoshi T, Yoshida I, Kobayashi, K, Mitobe M, Suzuki J, Sadamasu K. Multiplex Amplicon Sequencing for the Comprehensive Genotyping of *Mycoplasma pneumoniae*. *Microbiol. Spectr.* In press.
- 5) Nakamura K, Taniguchi I, Gotoh Y, Isobe J, Kimata K, Igawa Y, Kitahashi T, Takahashi Y, Nomoto R, Iwabuchi K, Morimoto Y, Iyoda S, Hayashi T. Diversity of Shiga toxin transducing phages in *Escherichia coli* O145:H28 and the different Shiga toxin 2 production levels associated with short- or long-tailed phages. *Front Microbiol.* 15:1453887. 2024.
- 6) Nomoto R, Nakanishi N, Komatsu S, Matsui M, Suzuki S. Complete genome sequences of *Escherichia coli* KA0011 clinical isolate used as a quality control strain of carbapenem susceptibility testing in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 13:e0015524. 2024.
- 7) Nomoto R, Osawa K, Kinoshita S, Kitagawa K, Nakanishi N, Sarassari R, Raharjo D, Fujisawa M, Kuntaman K, Shirakawa T. Metagenome and Resistome Analysis of Beta-Lactam-Resistant Bacteria Isolated from River Waters in Surabaya, Indonesia. *Microorganisms.* 12:199. 2024.
- 8) 長島真美, 藤原卓士, 村田ゆかり, 長谷川乃映瑠, 有吉司, 上原さとみ, 小西典子, 門間千枝, 浅倉弘幸, 林真輝, 熊谷遼太, 原田幸子, 永野美由紀, 山崎貴子, 河上麻美代, 糟谷文, 矢尾板優, 黒木絢士郎, 天野有紗, 北村有里恵, 磯貝まや, 小杉知宏, 加來英美子, 鈴木薫, 南須原亮, 田部井由紀子, 小川

麻萌, 中村三琴, 後藤千恵, 村内このみ, 古谷実, 原田順子, 川合由華, 小池浩二, 灘岡陽子, 中村貴恵子, 久保田寛顕, 安中めぐみ, 吉田勲, 小林甲斐, 水戸部森歌, 奥野ルミ, 内谷友美, 田淵優里, 森功次, 高橋由美, 村上昂, 和田紀乃, 河村真保, 赤瀬悟, 三関詞久, 中里彩乃, 小野明日香, 浅山睦子, 新井麻里, 鈴木愛, 岡田若葉, 古田菜摘, 齊木大, 前田雅子, 尾畑浩魅, 西野由香里, 井田美樹, 宗村佳子, 千葉隆司, 新開敬行, 横山敬子, 三宅啓文, 鈴木淳, 貞升健志. 健康危機管理に関連する微生物の分子疫学解析と検査法の開発に関する研究. 東京健安研セ年報.

75. 27-40. 2024.

9) 神田真軌, 小林甲斐, 西野由香里, 大場由実, 中島崇行, 栗田翔, 久保田寛顕, 有吉司, 神門幸大, 吉田勲, 安中めぐみ, 水戸部森歌, 長谷川乃映瑠, 尾畑浩魅, 畠山薫, 福井理恵, 市川めぐみ, 三橋華子, 黒田寿美代, 山崎華恵子, 井田美樹, 小林真紀子, 上原さとみ, 高橋由美, 高林晃子, 浅山睦子, 吉川聡一, 林洋, 松島陽子, 小池裕, 林もも香, 永野智恵子, 富澤早苗, 八巻ゆみこ, 上條恭子, 山本和興, 高田朋美, 小鍛治好恵, 渡邊趣衣, 志良堂裕子, 大澤佳浩, 小山彩音, 野口舞子, 大貫文, 岡優香, 山崎貴子, 相原三菜子, 渡邊喜美代, 鈴木淳也, 小田智子, 鈴木淳, 横山敬子, 大塚健治, 横山知子, 新藤哲也, 中嶋順一, 木下輝昭, 貞升健志, 笹本剛生, 猪又明子. ワンヘルスアプローチに基づく抗微生物薬と薬剤耐性微生物の実態把握に関する研究. 東京健安研セ年報. 75.

41-57. 2024.

10) 安中めぐみ, 長谷川乃映瑠, 久保田寛顕, 吉田勲, 鈴木淳, 貞升健志. 結核菌検査におけるゲノム解析法に関する検討. 東京健安研セ年報. 75. 115-118. 2024.

2. 学会発表

1) 小林甲斐, 久保田寛顕, 水戸部森歌, 有吉司, 鈴木淳, 貞升健志. 染色体上の *blactx-M-14* の増幅が認められたイヌおよびネコ由来基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌 *sequence type 38* の分子疫学的性状. 第36回日本臨床微生物学会総会・学術総会. 2025.

2) 内谷友美, 奥野ルミ, 有吉司, 吉田勲, 久保田寛顕, 鈴木淳, 貞升健志. 侵襲性肺炎球菌感染症由来株の血清型と血清群 24 の分子疫学解析. 第36回日本臨床微生物学会総会・学術総会. 2025.

3) 有吉司, 内谷友美, 奥野ルミ, 吉田勲, 久保田寛顕, 鈴木淳, 貞升健志. 都内医療機関から分離された *bla_{NDM}* 搭載 *IncX3* プラスミド保有腸内細菌目細菌の分子疫学解析. 第36回日本臨床微生物学会総会・学術総会. 2025.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（健康安全・危機管理対策総合推進事業）
分担研究報告書

次世代シーケンサーに関わる各種検査法の開発
ゲノム解析ワーキンググループ活動

研究分担者 岩本 朋忠 神戸市健康科学研究所

研究協力者 地方衛生研究所ゲノム解析ワーキンググループ

研究要旨

地方衛生研究所（地衛研）におけるゲノム解析の普及を目的として、ゲノム解析の1次処理にあたるウェットラボ操作に関するマニュアル作成に取り組んだ。地衛研全国6支部をカバーする検査実務者16名からなるゲノム解析ワーキンググループを構成し、各施設での解析体制に関する情報共有、ゲノムDNAの断片化処理条件やライブラリーのサイズセレクションについての実験的検証作業を経て、地衛研の体制に即したマニュアルが作成できた。

A. 研究目的

地方衛生研究所（地衛研）の体制に即したゲノム検査マニュアルの作成、ならびに、ゲノム解析手法に関する知見の共有と集積を図ることで、地衛研におけるゲノム解析の普及を推進する。

B. 研究方法

マニュアルの対象は、ゲノム解析の1次処理にあたるウェットラボ操作、すなわち、ゲノムDNAライブラリー作製と次世代シーケンサーでのリードデータ取得とした。地衛研全国6支部をカバーする検査実務者16名からなるゲノム解析ワーキンググループを構成し、マニュアル作成における課題の洗い出しと実験データの取得による検証作業を行った。検証作業は、次の2項目について大腸菌 ATCC25922 株を用いて行った。（検証作業項目1）

ゲノムDNA断片化におけるサーマルサイクラーのリード温度および反応時間の影響について

（検証作業項目2）

ライブラリーサイズセレクション方法の

違いによるリードデータへの影響について

（倫理面への配慮）

検査手法の標準化とマニュアル化についての研究であり、個人情報など倫理面での配慮を必要とする情報や行為は一切伴わない。

C. 研究結果

1. マニュアル作成における課題

マニュアル作成にあたっては、ライブラリーのサイズセレクションの方法、各ライブラリーの混合比率を均質化するためのノーマライゼーションのタイミング、ライブラリーの濃度測定方法について意思統一が必要であることが分かった。ワーキンググループメンバー間でのweb会議を繰り返し、サイズセレクションの方法については、ゲル切り出しによる方法とビーズ法の両方の手法を併記し、それぞれの特徴を記載することとした。ノーマライゼーションは、ライブラリー調整に使用するDNA濃度を均一化（20 ng/uL）することとした。濃度測定法は、Qubit Fluorometerを用いた方法に統

一し、定量的 PCR 法をトラブルシューティングのための方法として記載することとした。

2. ゲノム DNA 断片化におけるサーマルサイクラーのリッド温度および反応時間の影響について

ライブラリー作製のフラグメンテーションについては、公式マニュアルでは input DNA 量の違いにより 2~30 分という記載になっている。本マニュアルでは input DNA 量を 50 ng に固定しているため、反応時間が断片化に与える影響は大きい。そのため、大腸菌 ATCC25922 株を用いて、反応時間による断片化の進行具合を検証した。

図 1 の通り、断片化は反応時間 3 分でも十分進行しており、反応時間を 3 分に設定することの妥当性が確認できた。MiSeq を使用してリードデータを取得する場合、片側 250 または 300 bp となるペアエンドリードを想定するケースが多いため、少し長めの断片を残存させる条件で反応時間を設定することが推奨される。

続いて、Lid 温度が断片化に与える影響について検証した。同様に大腸菌 ATCC25922 株を用いてサーマルサイクラーのリッド（ふた）温度を 70℃、80℃、105℃に設定し反応を行った。105℃についてはフラグメンテーション反応中にリッドを開放した状態と閉めた状態の 2 条件で検証を行った。その結果を図 2 に示す。70℃、80℃、105℃（開放）では断片化の進行に大きな違いは見られなかったが、105℃で閉めた場合は若干断片化の進行が早くなる傾向が認められた。リッド温度を調節可能なサーマルサイクラーの場合は 80℃、調節できないサーマルサイクラーの場合は、32℃反応中、リッドを開放して、65℃のステップになってからリッドを閉めるという操作が推奨された。

3. ライブラリーサイズセレクション方法の違いによるリードデータへの影響

大腸菌 ATCC25922 株を用いて、ビーズ精

製とゲル抽出によるライブラリーの状態およびリードデータの質について検証した。両手法によるライブラリーサイズの分布の解析結果を図 3 に示す。ゲル抽出精製が 550bp 付近で比較的シャープな山を形成しているのに対し、ビーズ精製ではアダプターダイマーやプライマーダイマーなどは見られなかったものの、山がブロードで 1000 bp を超えるサイズのフラグメントも残存しているのがわかる。1000 bp を超えるフラグメントは Miseq/iSeq でのクラスター形成過程において Bridge PCR がうまくいかずクラスター形成不全を引き起こすものと思われる。そのため、想定したライブラリーの DNA 濃度から推定したクラスター密度と実際の密度の乖離が大きくなってしまう可能性がある。

続いて、作製したライブラリーから MiSeq Reagent Kit v3 (600 Cycles)を用いてリードデータを取得し、fastp v0.23 によるトリミングを実施した。その結果、リード数の残存率はトリミングの前後でどちらの手法も 98%となり大きな違いはなかったが、残存した総リード長はゲル抽出が約 94%であるのに対し、ビーズ精製は約 74%しか残存せず、大きく差がついた。これはビーズ精製ではリードの後半部分のクオリティが急激に落ちることが原因と考えられる。実際に、図 4 に示す通り、170 サイクル付近からビーズ精製のリードはクオリティの低下が確認される。これは insert size が短いリードでは反応サイクルの後半でアダプター領域以降を解析してしまうためであり、ライブラリー精製過程で短いフラグメントが残存してしまうことに起因すると考えられる。

それぞれのリードデータの Insert size の分布を図 5 に示した。ゲル抽出のピークは

380 bp 付近であるのに対し、ビーズ精製では 160 bp 付近がピークとなった。500 サイクルや 600 サイクルの Reagent kit で解析する際は短い Insert size では無駄になる部分が多いため得られたデータ量に対し、解析に使用できるデータ量の割合が少ないという問題が生じてしまう。一方で、ビーズ精製とゲル抽出ではインサートサイズなどの違いはあるが、SNVs 解析や Assembly では同様の結果が得られることが確認された。

D. 考察

地衛研全国 6 支部をカバーする検査実務者 16 名からなるゲノム解析ワーキンググループを構成することで、地衛研の体制に即したマニュアルが作成できた。ワーキンググループメンバー間で意思統一を行い、ゲノム DNA のフラグメンテーション処理時間、ライブラリーのサイズセレクション手法の違いによる影響、ならびに、サーマルサイクラーの機種の違い（リッド温度設定機能の有無）について実験的な検証データを得て、マニュアルに反映した点で、他にはない、ユニークでかつ信頼性の高いマニュアルに仕上がったといえる。

リードデータの品質とデータ量確保に大きく影響するライブラリーのサイズセレクションについては、磁性ビーズによる方法とゲル切り出しによる方法を比較した。その結果、ビーズ精製は簡便な手法ではあるが、170 サイクル付近からのクオリティが大きく低下することが分かった。その原因として、インサートサイズが短いライブラリーが多く混入することによるものと考えられた。一方、ゲル切り出しの場合は、手間のかかる方法ではあるが、ライブラリーサイズはほぼ均質化しており、インサートサイズも想定通りの物が得られることから、リードデータとして無駄になる部分が少なく、ビーズ精製に比べてより多くのデータ量を確保できることを確認した。両手法での特性を理解することで、地衛研各施設での設備や使用試薬、また、解析目的に合わせた手法の選択が可能になったといえるであ

ろう。マニュアル中では、両者の比較データを appendix として提示し、フラグメント解析が可能な施設においてはビーズ精製も可能ではあるが、それ以外の施設はゲル切り出しによる方法を推奨すると明記した。

ゲノム DNA の断片化の条件として、32°C 3 分処理の妥当性を実験的に確認した。そのうえで、ヒートリッド温度設定機能を持たないサーマルサイクラーを使用する場合の対処法について検討した。断片化は反応時間 3 分でも十分進行しており、input DNA 量を 50 ng に固定した反応系において、妥当な処理時間であると思われる。ヒートリッド温度設定機能を持たないサーマルサイクラーの場合には、反応処理中リッドを開放状態に保つことで、リッド温度を 80°C に保つのと同等の結果が得られることを確認した。様々な機種を有する地方衛生研究所が、自施設の機器を用いる場合の選択肢に対する検証データといえる

E. 結論

ゲノム解析の 1 次処理にあたるウェットラボ操作に関するマニュアル作成に取り組んだ。地衛研全国 6 支部をカバーする検査実務者 16 名からなるゲノム解析ワーキンググループを構成することで、各施設での解析体制に関する情報の共有、ゲノム DNA の断片化処理条件やライブラリーのサイズセレクションについての実験的検証作業を経て、地衛研の体制に即したマニュアルが作成できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

地衛研 ゲノム DNA ライブラリー作製マニユ

アル QIAseq FX DNA Library kit 編

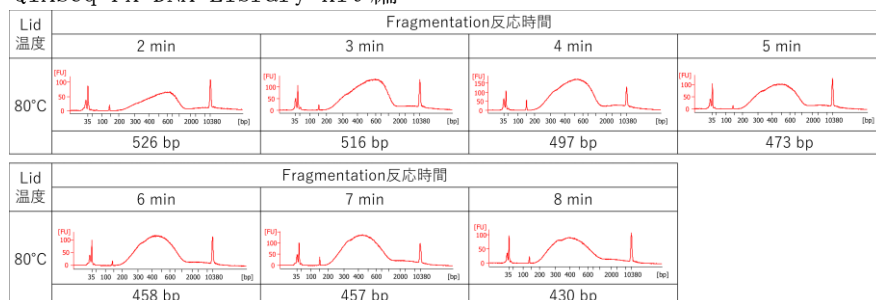


図 1. フラグメンテーションの反応時間における断片化の進行。各ライブラリの平均サイズを泳動像の下に示した。

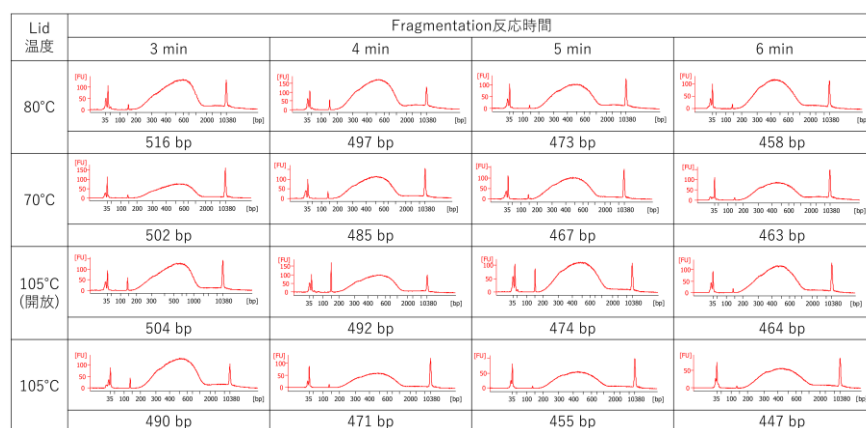


図 2. リッド温度の違いによるフラグメンテーション反応の進行。各ライブラリの平均サイズを泳動像の下に示した。

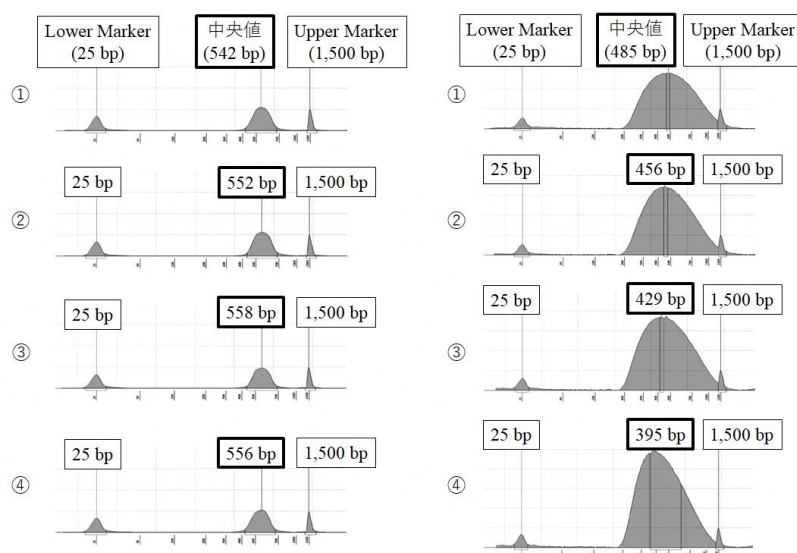


図 3. ライブラリサイズの分布。ゲル抽出 (左) とビーズ精製 (右) を TapeStation により解析した。

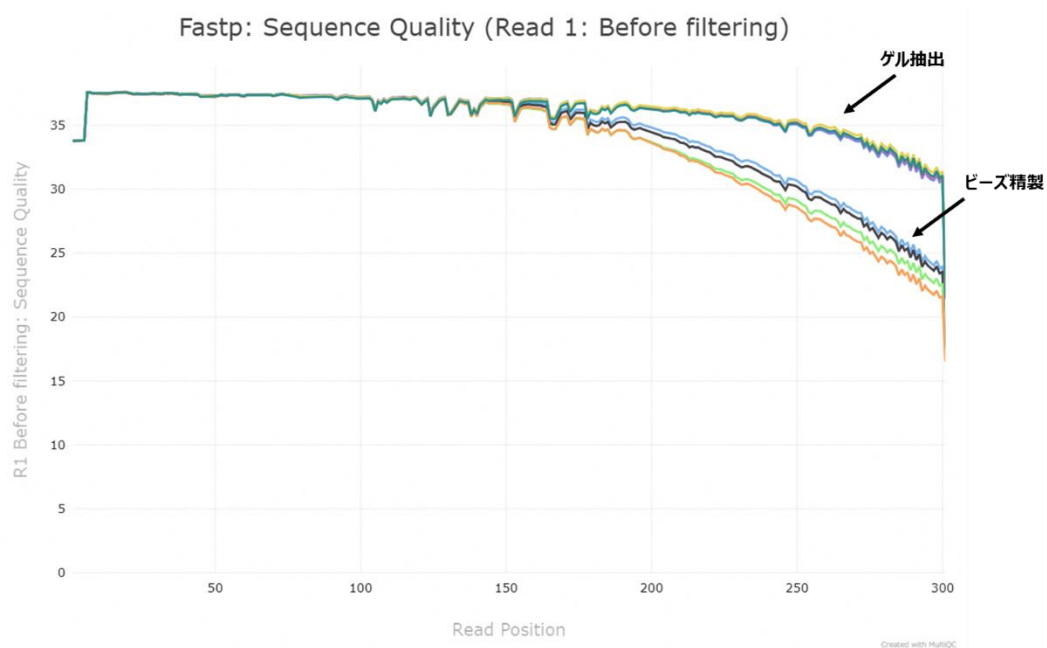


図 4. トリミング前のリードクオリティの推移。X 軸の数字は反応サイクル数と同義

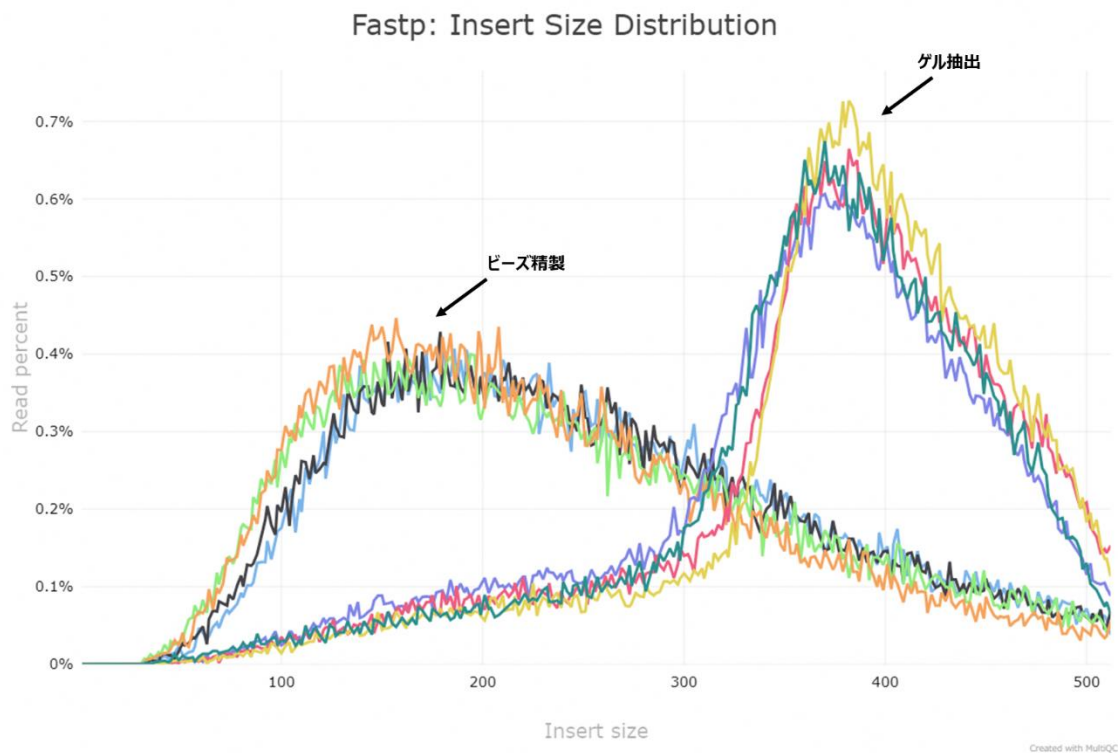


図 5. リードの Insert size の分布

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表
10ポイント入力

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
黒木 絢士郎	ノロウイルス遺伝子型別におけるRNA-Seq NGS 解析サイトの活用	東京都健康安全研究センター微生物部	東京都微生物検査情報	東京都	東京都	2024	6-8

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
貞升健志	地方衛生研究所における次世代シーケンサーの利用と課題	東京健安研セ年報	75	77-81	2024
長島真美, 藤原卓士, 村田ゆかり, 他	健康危機管理に関連する微生物の分子疫学解析と検査法の開発に関する研究	東京健安研セ年報	75	27-40	2024
Kaku Y, Okumura K, Kawakubo S, et al	Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XEC variant.	Lancet Infect Dis.	Dec;24 (12)	e736. doi: 10.1016/S1473-3099(24)00731-X. Epub 2024 Nov 6.	2024
Kumagai R, Kawakami M, Kasuya F, et al	Sewage surveillance of SARS-CoV-2 in Tokyo (May 2020-June 2022): method using high-throughput, fully-automated platform.,	Virusdisease	Sep;35 (3)	520-524	2024
Mitobe M, Kubota H, Kobayashi K, et al	Clustering of Polymorphic Membrane Protein E Clade in Chlamydia trachomatis Lineages from Men Who Have Sex with Men.	Emerg Infect Dis.	30(10)	2183-2187.	2024
Uchitani Y, Okuno R, Ariyoshi T, et al	Genetic characteristics of invasive pneumococcal disease-derived Streptococcus pneumoniae	J Infect Chemother.	202	31(1): 102484.	2025

	of serogroup 24 isolated in Tokyo, Japan.				
Ando N, Mizushima D, Takano M, et al	Prolonged sitafloxacin and doxycycline combination regimen for treating infections by highly resistant <i>Mycoplasma genitalium</i> .	J Antimicrob Chemother.	80(1)	247–253	2025
Kubota H, Okuno R, Kenri T, et al	Multiplex Amplicon Sequencing for the Comprehensive Genotyping of <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .	Microbiol. Spectr.	In press		
Nakamura K, Taniguchi I, Gotoh Y, et al	Diversity of Shiga toxin transducing phages in <i>Escherichia coli</i> O145:H28 and the different Shiga toxin 2 production levels associated with short- or long-tailed phages.	Front Microbiol.	15	1453887	2024.
Nomoto R, Nakanishi N, Komatsu S, et al	Complete genome sequences of <i>Escherichia coli</i> KA0011 clinical isolate used as a quality control strain of carbapenem susceptibility testing in Japan.	Microbiol Resour Announc.	13	e0015524	2024
Nomoto R, Osawa K, Kinoshita S, et al	Metagenome and Resistome Analysis of Beta-Lactam-Resistant Bacteria Isolated from River Waters in Surabaya, Indonesia.	Microorganisms.	12	199	2024
神田真軌, 小林甲斐, 西野由香里, 他	ワンヘルスアプローチに基づく抗微生物薬と薬剤耐性微生物の実態把握に関する研究.	東京健安研セ年報	75	41–57	2024
安中めぐみ, 長谷川乃映瑠, 久保田寛顕, 他	結核菌検査におけるゲノム解析法に関する検討	東京健安研セ年報	75	115–118	2024

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 東京都健康安全研究センター
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 吉村 和久

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 東京都健康安全研究センター・参事研究員
(氏名・フリガナ) 貞升 健志・サダマスケンジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☒	☐	☒	東京都健康安全研究センター	☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 神戸市健康科学研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 岩本 朋忠

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 神戸市健康科学研究所 所長
(氏名・フリガナ) 岩本 朋忠・イワモト トモタダ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年5月23日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 東京都健康安全研究センター
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 吉村 和久

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 東京都健康安全研究センター・課長
(氏名・フリガナ) 長島 真美・ナガシマ マミ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☒	☐	☒	東京都健康安全研究センター	☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

令和7年5月30日

機関名 群馬県衛生環境研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 猿木 信裕

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 群馬県衛生環境研究所 保健科学係長
- (氏名・フリガナ) 塚越 博之・ツカゴシ ヒロユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無 の 場 合 は そ の 理 由 :)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無 の 場 合 は 委 託 先 機 関 :)

当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無 の 場 合 は そ の 理 由 :
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有 の 場 合 は そ の 内 容 :

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
 ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 神戸市健康科学研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 岩本 朋忠

次の職員の令和 6 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 神戸市健康科学研究所 副部長
(氏名・フリガナ) 野本 竜平・ノモト リョウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 東京都健康安全研究センター
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 吉村 和久

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 厚生労働行政推進調査事業補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
2. 研究課題名 地方衛生研究所におけるゲノム検査等に係る人員体制及び人材育成法を確立するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 東京都健康安全研究センター・統括課長代理
(氏名・フリガナ) 久保田 寛顕・クボタ ヒロアキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☒	☐	☒	東京都健康安全研究センター	☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。