

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 倍以上長いと、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

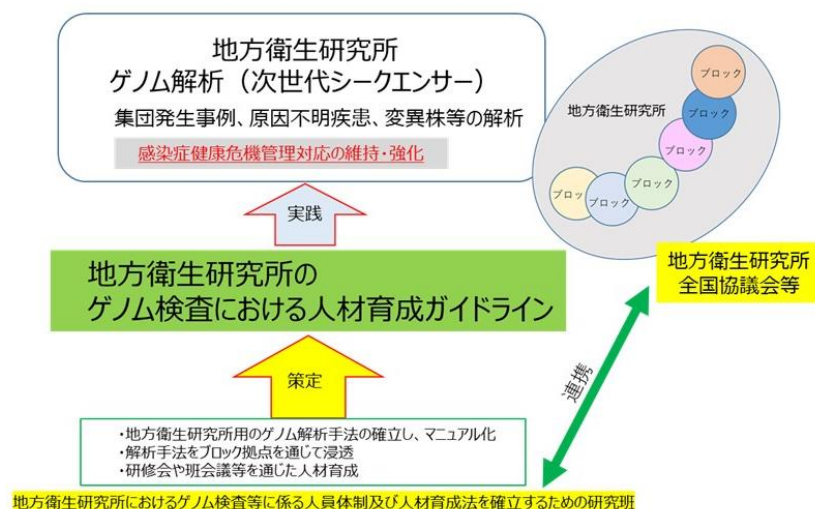


図1 研究班の目的・概要

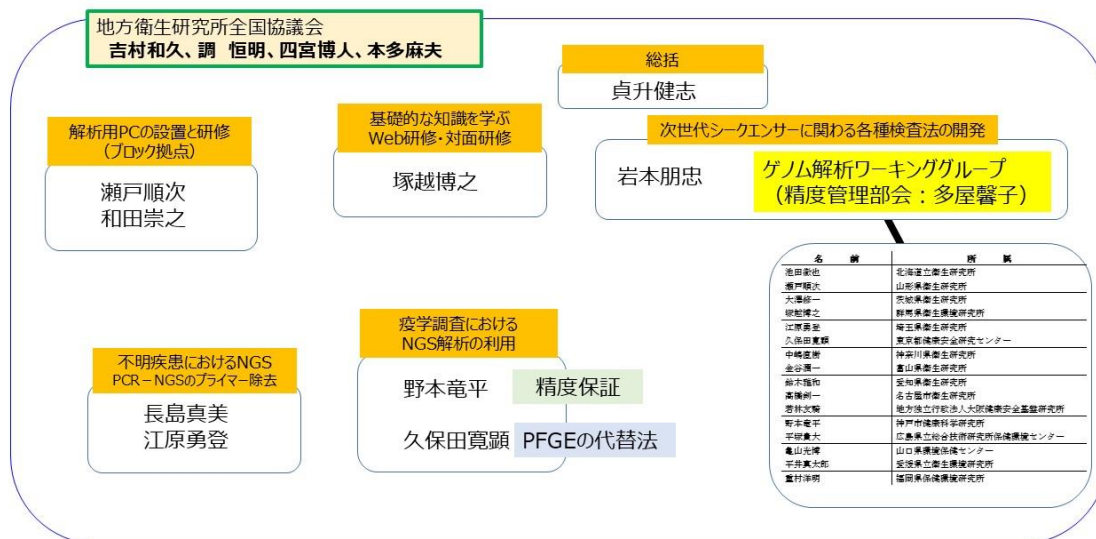


図2 研究班の人員体制