

# 原因不明疾患の病原体検索（ウイルス）

微生物部 ○新田 真依子、成田 翼、津路 優菜  
鬼塚 咲良、水流 奈己、矢野 浩司

## 1 はじめに

当研究所では感染症発生動向調査事業実施要領に基づき搬入された検体について病原体の探索を行っており、感染症の発生及びまん延防止に努めているが、ウイルスによる感染症が疑われるものの原因ウイルスが特定されずに原因不明のまま調査が終了するものが存在する。原因ウイルスが特定されない理由としては、事例がウイルス性の疾患ではない、あるいは原因病原体が検索対象外であるなどが考えられる。現在、当研究所では細胞培養によるウイルス分離及び PCR 検査によるウイルス検索を行っているが、すべての病原ウイルスを検索することは困難であり、想定外の原因ウイルスが隠れている可能性も否定できない。そのため、次世代シーケンサー(NGS)を用いたメタゲノム解析<sup>1,2)</sup>で網羅的な遺伝子検索を実施し、現状の検査方法では検出できなかった原因ウイルスの推定を行う。また、現状の検査方法で検出できなかったウイルスについて不検出となった原因の検証を行い、必要に応じて検出方法の見直しを行うことで今後の発生動向調査をより精密なものとし、感染症対策に有用な情報を得ることができると考えられる。

## 2 対象

平成 26 年から令和 8 年までに感染症発生動向調査事業実施要領に基づき当研究所に搬入され、原因ウイルスが検出されなかった検体のうち、NGS を用いたメタゲノム解析に適すると考えられる以下の条件を満たす検体を対象とする（約 400 検体）。

- ・血液・髄液（常在菌の混入が少ないと考えられる）検体
- ・発症から 5 日以内に採取した検体
- ・脳炎や髄膜炎、その他全身症状のある検体

## 3 方法

ヒトの遺伝子を除外するため、細胞培養により分離された上清を用いて遺伝子を抽出する。その後、前処理 (DNase)、逆転写、増幅、精製を行い、QIAseq FX Library Kit を用いて DNA 断片のライブラリ調製を行う。シーケンスは iSeq100(Illumina 社)を用い、得られたデータはゲノム解析用の web ベースプラットフォーム及び Windows Subsystems for Linux 2(WSL2)上のゲノムデータ解析ソフトにより解析する。ウイルスが推定された場合、PCR 検査などの他の方法を用いて検出を行い、現状の検査方法で不検出となった原因の検証を行うとともに、必要に応じて所内の検出方法の見直しを行う。



図 NGS を用いたパイローム解析

## 4 調査研究の効果等

県内の感染症の発生状況を正確に把握し分析を行うことで、感染症の発生及びまん延の防止に寄与できる。

## 参考文献

- 1) 西村瑠佳, 井ノ上逸朗. メタゲノムデータからのウイルス探索とパイローム構築. JSBi Bioinformatics Review 2023 ; 4 : 68-80.
- 2) 黒田誠. 公衆衛生および感染症診断に貢献する微生物ゲノム研究の変貌. モダンメディア 2016 ; 62(7) : 241-249.