

# 地球規模課題対応国際科学技術協力

(感染症研究分野「開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究」領域)

## レプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発

(フィリピン共和国)

平成21年度実施報告書

代表者: 吉田 眞一

九州大学・大学院医学研究院・教授

<平成 21 年度採択>

## 1. プロジェクト全体の実施の概要

レプトスピラ感染症は熱帯、亜熱帯地方を中心に世界に広く分布する典型的な人獣共通感染症で病原体はレプトスピラ・インテロガンズである。感染源は主にネズミの尿で汚染された洪水などの表面水(淡水)で、人間にはワイル病に代表される多臓器不全、すなわち黄疸(肝障害)、腎不全、肺出血を引き起こし、致死性感染症である。動物にも致死性な病態や、流産・死産を引き起こす。WHO(1999)は患者発生を年間50万人、致死率23%と推測している(Weekly Epidemiological Record 74:237-242)が、アフリカ、東南アジア、南米など多くの地域での調査報告は殆どないために、患者数、死亡数ともに過少評価されている。熱帯地方の途上国ではマラリア、結核、エイズ、インフルエンザ、ウイルス性肝炎などが援助の対象となっている一方、レプトスピラ症はその重大さ、深刻さ、緊急性が正当に認識されていない。病原レプトスピラには230以上の血清型があり、その培養・分離・同定は容易ではなく繁雑で高度の専門的技術を要する。そのため、研究者も、また、投入される研究費も少なく、従って、迅速診断キットや有効なワクチンの開発が遅れている。とくに外来やベッドサイドで使用可能な診断キットがないことは、診断の遅れにつながり患者の重症化や死亡を招いている。本プロジェクトはヒトや家畜、野生ネズミの感染実態を明らかにし、その社会や経済に与える影響を評価すると共に、感染症の病理・病態形成を明らかにし、診断キットの開発、血清型の違いを越えて感染防御を行えるDNAワクチンの開発、感染予防のための広報・啓蒙活動を行い、フィリピンのレプトスピラ症のコントロールに寄与することを目的とする。

これまで、感染実態調査では、野生ネズミ、水牛、ブタ、イヌが高率に感染し抗体を保有していることとその血清型を明らかにし、動物の感染実態を明らかにしつつある。フィリピンで分離されたレプトスピラの病原性も調べ、病原性の強さを確認した。診断キットはポリクローナル抗体とモノクローナル抗体の作成を行い、サンドイッチELISAとイムノクロマトグラフィーによるキットの作成に向けて準備が進んでいる。DNAワクチンもハムスターに免疫してその効果を検証している。

本プロジェクトは、国際的、学際的であるので、契約手続きを行わなければならない。これまで、平成21年8月、詳細計画策定調査に赴き、8月19日、JICA、フィリピン大学マニラ校、研究代表者(吉田眞一)、研究協力機関代表者(Dean Nina. G. Gloriani)の間で、Minutes of Meetingが締結された。さらにJICAとフィリピン政府機関との間でのRecord of Discussion(R/D)が平成22年3月26日に締結された。その他、九州大学とJICAの間の取極め(平成22年3月29日)、九州大学とJICAの間の個別事業契約(平成22年4月30日)、フィリピン大学、九州大学、千葉科学大学の間のJoint Research Agreement(JRA)(平成21年12月18日)とMaterial Transfer Agreement(MTA)(平成22年6月)の締結が行われた。九州大学では本プロジェクトを研究倫理、動物実験、遺伝子組換え実験、病原体取扱の各審査委員会に諮り承認を得た。

## 2. 研究グループ別の実施内容

### (1) 微生物学的研究グループ

#### 1) 細菌学的サーベイランス(フィリピン大学グループ、九州大学グループ)

##### ① 研究のねらい:

疫学調査によって、フィリピンのレプトスピラ症の実態を明らかにする

## ②研究実施方法:

- ・ 動物とヒトの血液と尿、及び動物の腎臓からレプトスピラの分離を試みる。ヒトと動物からの分離株について、実験動物を用いて血清型、遺伝子型、病原性を同定・調査する。ワクチン開発のために流行している血清型を特定する。

## 2) 診断キット開発(千葉科学大学グループ、九州大学グループ)

### ①研究のねらい

抗レプトスピラ抗体とレプトスピラ抗原の迅速検出法を開発する

### ②研究実施方法

- ・ フィリピン の 流行株を診断できる凝集試験(MCAT)を再開する。
- ・ 血清中の抗体を検出するためのELISAシステムを開発する。
- ・ 尿中のレプトスピラ抗原を検出するためのELISAシステムを開発する。
- ・ 尿中のレプトスピラ抗原を検出するためのイムノクロマトグラフィ法を開発する。
- ・ 実験動物を用いて、上記の診断法の感受性と特異性を評価する。
- ・ 家畜(水牛・犬)を用いて、上記の診断法の感受性と特異性を評価する。
- ・ レプトスピラ症患者の尿と血清を用いて、上記の診断法の感受性と特異性を評価する。

## 3) DNAワクチン(九州大学グループ)

### ①研究のねらい

実験動物で有効なDNAワクチンを開発する

### ②研究実施方法

- ・ 流行している菌株を使って不活化ワクチン、成分ワクチン、DNAワクチンを開発する。
- ・ 実験用動物(ハムスター)を用いて開発されたワクチンの有効性と安全性を評価する

## (2). 疾病負担調査研究グループ(フィリピン大学グループ、九州大学グループ)

### ①研究のねらい

フィリピンのレプトスピラ症の罹患者数、新規感染者数、DALYsを明らかにし、レプトスピラ症がもたらす経済的損失を明らかにする。

### ②研究実施方法

- ・ 調査チームの形成、標本抽出法の決定、調査手法の決定、調査マニュアルの作成などを含むフィールド調査の準備を行う
  - ・ フィールド調査を実施する
  - ・ 血清学検査と細菌学検査を実施する
  - ・ データ入力・加工と分析を行う
- 疾病負担調査のレポートを作成する

上記のデータを解析し、レプトスピラ症がもたらす経済的損失についてレポートを作成する

(3). 環境要因分析による疫学研究グループ(フィリピン大学グループ、九州大学グループ)

①研究のねらい

レプトスピラ感染に影響を及ぼす環境要因を特定するための調査計画を策定する。

②研究実施方法

- ・ 地理情報システム(Geographic Information System:GIS)での環境要因分析に活用するために、マニラ首都圏とその近郊に関する既存データを解析し選定する
- ・ GIS にデータを入力し、疾病分布図を作成する

(4) 啓蒙活動実施グループ(フィリピン大学グループ、九州大学グループ)

① 研究のねらい

レプトスピラ症の予防対策に関する啓蒙活動を強化し、医療従事者(医師、看護師、その他の医療従事者)にレプトスピラ症に関する知識を普及させる。一般市民がレプトスピラ症の予防方法、感染ルート、症状、治療に関する知識普及する。

②研究実施方法

- ・ 対象とする病院とヘルスセンターを特定する
- ・ 医療従事者のレプトスピラ症の認識度に関するデータを収集する
- ・ 医療従事者向けのレプトスピラ症に関する教材(ハンドブックやリーフレットなど)を作成する
- ・ 開発した教材を配布するとともに、医療従事者がレプトスピラ症に精通するようトレーニングする
- ・ レプトスピラ症に関する情報を一般住民に向けて発信する
- ・ 啓蒙活動の結果を評価する
- ・ 学会、ワークショップ、フォーラムなどを開催してプロジェクトの進捗や活動結果を発表し、政策決定者に対してレプトスピラ症の対策の必要性を伝える

### 3. 成果発表等

(1) 原著論文：国内 0 件、国際 1 件

Sharon Yvette Angelina M. Villanueva, Hirokazu Ezoe, Rubelia A. Baterna, Yasutake Yanagihara, Maki Muto, Nobuo Koizumi, Takashi Fukui, Yoshihiro Okamoto, Toshiyuki Masuzawa, Lolita L. Cavinta, Nina G. Gloriani and Shin-ichi Yoshida  
Serological and Molecular Studies on *Leptospira* and Its Infection Among Rats in the Philippines  
American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 82(5), 889-898, 2010

(2) 特許出願：0 件

## 4. プロジェクト実施体制

### (1)「微生物学的研究」グループ

① 研究グループリーダー：吉田 眞一（九州大学・教授）

② 研究項目

血清疫学調査、分離菌の解析、迅速診断キットの開発、DNA ワクチンの開発

### (2)「疾病負担研究」グループ

① 研究グループリーダー：吉田 眞一（九州大学・教授）

② 研究項目

疾病負担調査フィリピンでのレプトスピラ症の罹患者数、新規感染者数、DALYs を明らかにする)、レプトスピラ症がもたらす経済的損失を明らかにする。

### (3)「環境要因分析による疫学研究」グループ

① 研究グループリーダー：柳原 保武（静岡県立大学・名誉教授）

② 研究項目

環境要因分析による疫学,

地理情報システム(Geographic Information System:GIS)での環境要因分析上記のデータを解析し、レプトスピラ症がもたらす経済的損失についてレポートを作成する

### (4)「啓蒙活動」グループ

① 研究グループリーダー：藤井 潤（九州大学・准教授）

② 研究項目

レプトスピラ症の予防対策に関する啓蒙活動、医療従事者(医師、看護師、その他の医療従事者)のレプトスピラ症に関する知識普及、一般市民のレプトスピラ症の予防方法、感染ルート、症状、治療に関する知識普及、予防対策活動に活用する資料(教材)の作成。

以上