

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)

平成 24 年度実施報告書

代表者：吉田 真一

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

【プロジェクトの目標】

年間 30 万人～50 万人の重症レプトスピラ患者が発生、うち 10-20%が死亡と推測されている。患者発生は熱帯～亜熱帯の多雨地域で多いが、世界各国から報告されている。本プロジェクトは地球規模の課題となっているレプトスピラ感染症のコントロールをめざし、フィリピンをフィールドとし、プロジェクト目標の一つである「共同研究を通じて、CPH-UPM(フィリピン大学マニラ校公衆衛生学部)のレプトスピラ症予防対策の研究開発能力が強化される。」ことを達成するべく次のような成果目標を設定して始まった。

1. 感染実態の把握:ヒト、家畜、野生ラットおよび野犬の抗体検査等により感染の実態と病態形成のメカニズムを明らかにする。また感染に伴う疾病負担を分析する。
2. 迅速診断キットの開発:臨床診断に頼っている現状では治療が遅れる。ベッドサイドや外来で迅速に簡便に診断できるキットを開発する。
3. DNA ワクチンの開発:血清型の違いを越えて予防できるワクチンを開発する。
4. 感染予防のための啓発活動を行う。
5. レプトスピラ研究拠点として研究室(レプトスピラ症予防対策センター)を設置する。

【これまでのプロジェクトの概要】

目的を達成するために以下のように 4 つのワーキンググループ (WG) を構成した。

グループ A:微生物学的研究(さらに3つのサブグループに分ける)

サブグループ A1) 感染実態の把握

A2) 診断キットの開発と評価

A3) ワクチンの開発と評価

グループ B:レプトスピラ症の疫学と疾病負担

グループ C:環境因子の解析

グループ D:啓発活動

各グループとサブグループには日本サイドのリーダーと、副リーダーを置き、活動の中心となる。フィリピン側も対応するグループを形成した。

【プロジェクト進捗状況】

2010 年 4 月 1 日より 5 年間のプロジェクトとして R/D 署名がなされ、7 月 5 日にプロジェクトの Kick Off Meeting を関係機関及び専門家参加のもと開催し実質的活動が開始、各グループの日本側リーダー派遣時に活動計画がグループ毎に作成された。

さらに、プロジェクト正式名称「The Project for Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines」の略称を“LEPCON”とすることが決定された。

2010 年 9 月 3 日には第 1 回 Joint Coordinating Committee(JCC)を開き、各グループの活動計画案に沿った Plan of Operation 修正案への承認を得た。また 10 月以降、プロジェクト運営管理のための月例の LEPCON Regular Meeting が開かれ情報共有の良い機会となっている。2013 年 03 月までに計 18 回開催済みである。

フィリピン側の研究予算も配置され 2010 年 10 月以降フィリピン側の研究活動も活発に開始。グループ A (A1) 細菌学的疫学グループは、ヒト、動物の感染実態をあきらかにし、論文で発表、または PCHRD への報告を行っ

た。グループBとDは共同でマニラ地域の住民(約1,000名)を対象に抗体検査と質問票によるデータ収集を2011年1月に完了し、2012年1月現在、検体のELISA検査とデータ解析から、抗体保有率、感染と関連する因子、DALYsを明らかにした。またグループCでは過去に日本人専門家と保健省により収集された患者データをGIS上にまとめる作業が行われた。

診断キット(A2サブグループ)は免疫クロマトグラフィー法を原理としたdipstick法とlateral flow法による尿中抗原検出キットが試作され、その論文も平成25年5月に発表される予定である。今後マニラ(CPH-UPM)で試験的に使用される予定である。抗体を検出するMicrocapsule agglutination test (MCAT)の試作品もつくられ、マニラ(CPH-UPM)で、特異性、感受性の検討が行われて良い成績が得られた。

ワクチン(A3サブグループ)については、無血清培地を使って死菌ワクチンを製造する作業が行われている。DNAワクチンは九州大学でLipL41, OmpL1とLipL32をターゲットとした3価DNAワクチンの実験をしている。

2012年1月26日には、Leptospirosis Control(“LEPCON”) Laboratoryの落成式が行われ、同日、第2回Joint Coordinating Committee (JCC) Meetingを開き、各グループの活動計画案に沿ったPlan of Operation修正案への承認を得た。さらに、同日午後には、第1回Scientific Symposium on the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines(LEPCON)”が開催され、日本側から7人、フィリピン側から4人の研究者が、プロジェクト開始からの研究成果を発表した。

新装になったCPHのラボでは、これまで同様、MATによる抗体検査が続けられ、死菌ワクチン作製のための菌の培養が行われている。

【プロジェクトの成果】

グループA, サブグループA1からはラット分離株とその抗生物質感受性、環境からのレプトスピラの分離をするための選択培地の開発、環境中のレプトスピラの分布と生態、新種*Leptospira idonii*の発見、についての論文が国際誌に6報掲載された。サブグループA2により作成された迅速診断キットの論文が米国微生物学会誌に受理された。マニラ首都圏地域の患者と危険因子の関連に関する発表を2011年3月に開催されたPCHRD-DOSTのセミナーの席上でグループC代表が行った。

【今後の見通し】

感染実態調査、経済的損失の調査研究、環境因子の研究、啓発活動も日本側とフィリピン側の協力がうまくいっており、成果が上がっている。今後は迅速診断キットの実用化が最も期待される。さらに死菌ワクチンの実用化に目途をつけたい。病態形成の研究では、黄疸、腎不全、出血の成因を明らかにする。

2. 研究グループ別の実施内容

2.1. 細菌学的研究

2.1.1. 感染実態の把握(グループA1)

① 研究のねらい:

レプトスピラ感染症は代表的な人獣共通感染症である。人的被害のみならず、家畜の感染による産業、経済に与える影響も大きい。グループA(A1)では人のほか、野生ネズミ(レプトスピラを腎臓に保有し尿中に排泄するので最も重要な感染源である)、イヌ(人間の生活に入り込んでいる代表的動物)、家畜(スイギュウ、ブタ)の感染実態を知るための血清抗体検査を行う。そのほか、新たに開発した選択培地を使って、環境水中のレプト

スピラの分布を調査する。

② 研究実施方法:

動物から採血しMATにて、血清抗体価を測定した。レプトスピラ感染疑い患者検体の MAT 血清抗体価検査についてはフィリピン全域を研究対象にするのは無理があるため、7つの Regions (NCR, I, III, IV, V, VI, VIII) を主要な対象地域とした。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

フィリピン特にマニラ首都圏における動物の抗体保有率と血清型についてはすでに学会で報告した。ラット(92%)、スイギュウ(82%)、ブタ(67%)、イヌ(79%)といずれも高率に抗体を保有していることが確認され、主要血清型も明らかにされた。

その後も2010年8月から2012年1月まで野生ネズミ51頭、野犬84頭、スイギュウ50頭、牛25頭、豚12頭の合計222検体についてMATを行った。各動物で最も多く見られた血清型は、野ねずみ(Copenhageni 39.2%)、野犬(Manilae 27.4%)、スイギュウ(Tarassovi 36.0%)、ウン(Patoc 36.0%)、ブタ(Poi 58.3%)であった。

ヒトレプトスピラ症疑診患者については、UPM/CPHよりPCHRDに報告された。2010年8月16日から2012年2月29日までの約1年半の間に集められた1353検体の結果である。マニラ首都圏病院(NCR hospital)採取448検体では2/3が陽性、Region IV-A, V, VI, VIIIでの採取187検体では約50%がMAT陽性であった。血清型で多いのはPatoc(80.5%)、Semaranga(27.6%)、Copenhageni(26.4%)、Poi(19.5%)、Manilae(8.9%)、Pyrogenes(8.7%)の順であった。

なお、2011年から2012年1月にかけてフィリピン国内で洪水被害が報告された地域(Region I, III及びX)において、症状のみられた被災民からの検体計190を収集しMAT検査を実施、うち92検体が陽性、その血清型が確認された。

同時に行ったアンケート調査では、症状はこれまでの報告と同様であったが、私たちにとっては、嘔吐63.0%、腹痛58.7%、下痢36.3%と、消化器症状が多いとの印象を受けた。

④ カウンターパートへの技術移転の状況:

MAT法、MCAT法の技術移転を行った。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

感染実態を理解する上で、環境中のレジオネラの生息分布を知ることは重要である。九大グループはレプトスピラを培養するための選択剤の組合せを考案し発表した。その組合せとは、sulfamethoxazole, trimethoprim, amphotericin B, fosfomycin, 5-fluorouracil であり頭文字をとってSTAFFと名付けた。この選択剤の使用により環境中のレプトスピラの分離率が格段によくなり、遺伝学的に病原性がある種も分離できるようになった。さらなる成果として、新種を発見し、井戸泰博士の名前をとって、*Leptospira idonii* と命名し専門誌に発表した。

2.1.2. 診断キットの開発と評価(グループ A2) : 診断法の開発と有用性の評価

① 研究のねらい:

レプトスピラ症は、治療しなければ5~30%の致死率を示す重篤な感染症である。一方、抗菌薬による治療が可能であり、早期の治療開始が、その予後を決定的と言える。このため迅速簡便な診断法の導入が求められている。低コストで実施可能な汎用的方法として、受身感作凝集反応にもとづくマイクロカプセル凝集試験(MCAT)の開発にはほぼ成功したが、その診断精度感度の評価を継続して行い、実用感を目指す。そのためには、疑診患者のみならず、健常者血清のMCAT反応性を調べ、陽性陰性のカットオフ値の設定を行うこととした。さらに疑診患者血清については、顕微鏡凝集試験に加えて、ELISAを行い、広く陽性血清を見だし、MCAT

の診断成績と比較した。さらに血清診断と比較して、より早期診断が可能なイムノクロマトグラフィーに基づく尿中抗原検出診断法の開発をさらに進めた。

② 研究実施方法:

フィリピン疑診患者 50 検体、健常者血清 25 検体を用いて、MAT、および ELISA によりこれら血清中のレプトスピラ抗体の有無を判定した。MCAT において、すべての健常者血清が抗体陰性と判定できる最大希釈倍率を調べ、これを診断のカットオフ値として設定した。疑診患者血清を用いて、MAT と ELISA の診断結果と MCAT の診断結果を比較し、検出感度、精度を求めた。

レプトスピラリポ多糖体(LPS)のコアを認識する単クローン抗体を金コロイド標識抗体、並びにテストライン抗体として用いたイムノクロマトグラフィーを作成し、実験的感染ハムスター尿を用いて、検出感度を評価した。さらに、レプトスピラ患者尿を用いて、検出感度・精度を PCR による尿中遺伝子検出、並びに MAT による血清抗体検出結果と比較した。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

フィリピンでは健常者血清を得ることが容易でなく、カットオフ値の設定ができずに苦労した。カウンターパートの努力で、使用可能な健常者血清を何とか得ることができた。その血清を用いることで、MCAT の診断カットオフ値を 600 倍に設定できた。これまで疑診患者の診断 MAT のみで行っていたが、ELISA を併用することで偽陰性の見逃しが少なくなり、疑診患者をより精度高く診断できるようになった。その診断結果をもとに、MCAT の診断感度、精度を評価したところ、それぞれ 85%程度であることが判明し、実用に供するに支障のないことが判明した。

また、疑診患者尿を用いた検討で、尿中抗原検出イムノクロマトグラフィーは、PCR 並びに MAT に比して、十分な感度と精度を有することが判明した。この内容を記した論文はすでに米国微生物学会誌に受理されている。また、現在特許の出願を準備中である。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):

MCAT の試作品を提供し、現地での普及を依頼した。ELISA システムの技術移転を行った。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば) :

MAT で抗原として使用する培養菌が、培養中に自然凝集を起しており、特異抗体による凝集と判別が難しい場面があった。MAT 実施前に、培養液を軽く遠心して自然凝集塊を取り除く操作を加えることで、レプトスピラ凝集の有無の判定が容易になった。現在は、問題なく実施できている。

2.1.3. ワクチンの開発と評価(グループ A3)

2.1.3.1. 死菌ワクチンと成分ワクチンの開発研究

①研究のねらい:

現時点でもっとも効果的で現実的な予防ワクチンは死菌全菌ワクチンあるいは成分ワクチンである。死菌ワクチンは血清型特異的であり、われわれはフィリピンのマニラ首都圏で流行する主な血清型は *Leptospira interrogans* serovar Manilae および *L. interrogans* serovar Losbanos であることを明らかにしてきたので、われわれがレプトスピラ病患者より分離したこれら血清型を中心に菌株をワクチン候補株として選択開発する。

全人口の約 20%が集中するマニラ首都圏でのレプトスピラ病抑制はフィリピンのレプトスピラ病抑制に大きく貢献する。

②研究実施方法:

ワクチン株選択:われわれがマニラ首都圏の患者より分離した血清型 Manilae8 株、血清型 Losbanos 9 株を

無蛋白合成培地 (Shenberg, 培地および Bey-Johnson 培地) で継代培養してワクチン株を選択する。

死菌ワクチン: ワクチン候補株を jar fermenter を用い、無蛋白培地、30°C で大量培養して菌をあらかじめ凍結乾燥し、-80°C 保存する。集めた菌をホルマリンあるいは 56°C、30 分熱処理で死菌として、生理食塩・リン酸緩衝液に懸濁して死菌ワクチン (2.5×10^8 /ml) とする。

成分ワクチン (outer envelope, OE ワクチン): レプトスピラ細胞を NaCl 処理して OE を SDS で可溶化、分離して OE ワクチンとする。

感染防御実験: ハムスターに死菌、OE ワクチンを投与、病原株で攻撃して防御効果を調べる。ワクチンの安全性、安定性などについて確かめる。

③ 当初の計画 (全体計画) に対する現在の進捗状況:

マニラ首都圏のレプトスピラ病患者から分離した血清型 Manilae 8 株、血清型 Losbanos 9 株、合計 17 株を Shenberg の合成培地に接種、継代培養を重ね、大量培養可能な菌株の選択を行っている。Korthof のウサギ血清培地から移植した 1 代目、2 代目培養では殆どの株で良い増殖が見られた。現在実験中であるが、ウサギ血清の影響がほとんどないと思われる 3 代目では、血清型 Manilae で 3 株、血清型 Losbanos 2 株で増殖が見られ、現在 4 代目培養の継続中であり、有望な候補株と思われる。Bey-Johnson 培地による培養実験も開始しているが、まだ結果は出ていない。

④ カウンターパートへの技術移転の状況 (日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):

無タンパク培地の作成法とその培地を使った培養法の技術を移転した。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況 (あれば):

DNA ワクチンの開発を先んじて行って来たが、ハムスターモデルでの効果が弱く、すぐれた DNA ワクチンを開発するには時間がかかると考えられるので、基本に戻り、死菌ワクチンを作成する事にした。

2.1.3.2. DNA ワクチン開発グループ

① 研究のねらい:

人間と動物に感染症を引き起こし、死亡の原因となる病原体の根絶は感染症研究の一つの最終目的である。しかし、天然痘ウイルスの根絶のように成功することは現実的に困難である。特にレプトスピラは、自然界に生息し、多くの動物が保有している。このような病原体の場合、ワクチンがもっとも有効な予防方法であり、その開発と実用化は非常に重要である。

レプトスピラには約 230 の血清型が存在する。死菌ワクチンのほか弱毒ワクチンや外膜タンパク、またはリポ多糖体の無細胞ワクチンが、現在抗レプトスピラ症のワクチン候補として想定される。しかし殆どの市販のレプトスピラワクチンは血清型特異的であるため、長期間有効で、かつ血清型の違いを越えて有効なレプトスピラワクチン (ユニバーサルワクチン) の開発が望まれている。

② 研究実施方法:

これまでの研究では病原性レプトスピラによく保存されている外膜タンパク (OMPs) がユニバーサルワクチンの候補としてあがっている。LipL32, Loa22, leptospiral immunoglobulin-like protein A と B (LigA and B), OMPL1, LipL41 などはレプトスピラの病原性に関連すると考えられている。

③ 当初の計画 (全体計画) に対する現在の進捗状況:

以前 *ligA* と *loa22* の DNA ワクチンを開発して、ハムスターでの有効性を検討した。しかし結果はこの 2 つのレプトスピラの OMP に対する抗体は産生されたものの、菌のチャレンジに対して防御免疫は得られなかった。今回 *lipl32*, *lipl41* と *ompl1* の DNA ワクチンを作成しており、これらの三つの DNA ワクチンを "cocktail" (カクテル) ワク

チンとしてハムスターに免疫した。途中経過であるが、DNAワクチン接種群での生残率は、コントロールより高い。LipL32 はレプトスピラがもつ一番多い外膜タンパクであり、OmpL1 と LipL41 は相乗作用をもつと以前報告されている。われわれはこのカクテルワクチンで殆どのレプトスピラの血清型に有効な DNA ワクチンを開発する計画である。さらに、このワクチンの有効性を長期に持続させることも視野に入れて実験を行う。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):

DNA ワクチンの作り方、接種法、チャレンジの仕方の技術を移転した。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):

DNA ワクチンの開発を先んじて行って来たが、ハムスターモデルでの効果が弱く、すぐれた DNA ワクチンを開発するには抗原の選択、ワクチン接種の time schedule を再検討する必要がある。防御効果が最も強く現れた time schedule での再検を行っているところである。

2. 2. レプトスピラ症の疫学と疾病負担(グループB)

2.2.1. 大都市におけるレプトスピラ症の疾病負担研究グループ

① 研究のねらい:

住民のレプトスピラ抗体検査を行うと共に同じ住民を対象に質問票調査を実施し、罹患危険因子 (Risk factor) との相関関係の解析を行い、レプトスピラ症の感染予防や診断、治療の実態を明らかにし、必要となるそれらの経済的コストの概算を明らかにすると共にマニラ首都圏におけるDALYs(障害調整生存年数)値を換算する。

② 研究実施方法:

2010～2011年にグループDと共に計画しているマニラ地域の360世帯(1,072人分検体)を対象とした抗体保有率調査 (seroprevalence survey) の対象者から得る質問票回答に基づき環境因子データを収集し、地域住民の抗体の有無と感染要因の相関関係を解析した。マニラ首都圏全17市町(729バラングイ)中の16市町にある30のバラングイ(最小行政単位)において全413世帯から検体採取と質問票回答を収集し、そのデータに基づき解析を行った。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

2010年8月がフィリピン側政府予算研究の開始日となっていたが、実際に運用可能となったのが10月となった。フィールド調査準備作業(質問票開発・プレテスト等)を9月までに行い、10月よりマニラ首都圏中の15市にある30のバラングイを対象に質問票回答と抗体検査用検体の収集を2011年1月までに完了し、データ整理分析を行った。計413世帯(計1,825名の構成員)からELISA検査用の1,136の有効な検体と413名分の質問票回答を得た。

疾病負担調査採取検体について抗体保有率をELISAにて検査した結果”強陽性”は1,136検体中297(26%)であった。

抗体保有率と相関がみられた因子は、1)30才以上、2)汚れた用水路が近くにある、3)蓋のないゴミ集積容器が家屋近くにある、であった。

DALYsは25.76/100,000人であり、デング熱(21.96)や日本脳炎(19.2)を上回った。

治療に関する直接費用は(11,982.44ペソ)であった。これは、最低賃金の一か月分11,076ペソを上回り、低賃金階級層には自己負担が困難で、公的な支援が必要であることが判明した。

2010-2011のBOD報告書は、クロアチアで行われた欧州レプトスピラ会議で報告された。また、最終報告書は、PCHRDならびにWHOに提出された。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

抗体陽性率、リスクファクター、DALYs, seroconversion のデータをまとめて、論文を書くために打合せをする予定である。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

特になし

2.2.2 疾病負担の経済分析グループ

① 研究のねらい

レプトスピラ感染症の罹患率は、その感染経路から見て、職業や所得階層、教育水準等の社会経済的条件に応じて異なることが予想される。そこで、GIS データに加え、疫学的データの中でも特に患者の社会経済的特性に注目し、そのデータを分析することにより、どのような社会経済的属性をもつ人たちが、レプトスピラ感染症にかかりやすいを明らかにすることで、効率的かつ重点的な予防対策に資する。さらに、この分析結果に基づき、レプトスピラ病がもたらす社会的損失を経済的に評価することで、対策プロジェクトや関連施策に対する効率的予算支出に貢献する。

② 研究実施方法

i)レプトスピラ症の感染者・被害者に対する面接調査、社会経済的損失に関する記述的分析を行う。

ii)社会経済的損失に関する経済的評価のために、仮想評価法(CVM)と選択実験によるアンケート調査を実施する。

iii)マニラ首都圏の一般市民に対するレプトスピラ症による経済的損失を評価する。

iv)社会経済的特性も視野に入れ、疫学的発生率を考慮したレプトスピラ症の経済的損失を評価する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

2011年5月に行われた抗体保有率調査(seroprevalence survey)の対象者に対する追跡調査に際して、CVMに関する質問票も合わせて配布・調査し、192 人から分析可能な回答を得た。レプトスピラ感染症予防プログラムに対して協力してもよいと考える時間の機会費用に基づき、プログラムの経済価値を推計したところ、年間平均 47 ドル/世帯となった。これにマニラ市の 260 万世帯を乗ずると、同地域においてレプトスピラ感染症予防は年間約 1.23 億ドルの価値を有すると推計された。また、洪水に瀕する危険が高い地域ほど、レプトスピラ感染症に関する知識が多いほど、より高い評価額になることも明らかになった。

他方、2011年8月3日から10月21日までマニラ市内のバランガイ住民でレプトスピラ症に感染した225人を対象者名簿に挙げ、面接調査を試みた。実際に面接できたのは83人であった。現在、このデータをもとに、レプトスピラ症に感染した本人と家族が被った経済的負担及び治療開始に要した時間と社会経済的要因との関係について分析を進め、83 人分の詳細なレポートの大半ができあがった。さらに、選択実験の分析手法を用い、住民が重要と考えるワクチンの特性(有効期間、接種開始年齢、副作用、価格)とその経済価値についても分析を進め、国際研究集会で報告を行った。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):

Contingent Valuation Survey の技法を移転した。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):

なし

2.3. 環境因子の解析 (グループC)

① 研究のねらい:

フィリピンにおけるレプトスピラ病の流行には様々な要因が挙げられており、解析の一つの手段として地理的情報システム GIS(Geographic Information System) の利用があり、マニラ首都圏のレプトスピラ病患者分布のデジタル地図を作成し、洪水などの要因との相関解析の基礎を確立する。

② 研究実施方法:

日本側研究者(柳原)が1998年から2001年にかけてマニラ首都圏で調査した患者情報(382名分)とフィリピン保健省疫学センターより提供された2003年から2009年のマニラ首都圏の患者情報(3,490名分)の2種のデータを利用しマニラ首都圏における患者分布をデジタル地図化し、2~10年、50~100年周期の洪水多発地帯の衛星写真と重ねることによる洪水や、これら患者住居周辺における調査から得られる環境因子との相関関係を解析する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

1998年から2001年にかけて収集された596名分の患者データのデジタル地図上への登録、並びに2003-2009年分患者データの登録を完了した。1998年-2001年の週間降雨量と月間患者発生との相関を調べ、50mmの降雨で患者が発生する。CPH側研究チームはGISを応用してレプトスピラ症多発と降雨量、河川、洪水多発地帯、発生源との関係をデジタル地図で示した。

またGPSを利用した環境因子フィールド調査を行うことで得られる地形の危険因子情報をデジタル地図上への入力を行った。

④ カウンターパートへの技術移転の状況:

Barangayレベルで患者分布のデジタル地図を作る目的で、患者分布データをフィリピン側に提供した。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):

なし

2.4. 啓発活動(グループD)

① 研究のねらい:

2009年には台風襲来後のマニラ周辺でのレプトスピラ症流行に伴い、急遽、保健省や州政府により住民へのレプトスピラ症対策に関する啓蒙活動がなされたが、レプトスピラ症に焦点を当て、より効果を上げるのに十分な内容の健康増進プログラムを実施するためには、レプトスピラ症に関しての綿密な情報把握とその分析に基づく確かな活動を戦略性を持って計画することが求められる。そのため関係者や住民を対象にした横断的調査を実施解析し、その結果に基づき啓発活動教材やその利用も含む健康増進プログラムの開発を行い、頻りに洪水被災地となるマニラ市地域でその活動を実施しその効果を測定することが本研究の狙いとなっている。

② 研究実施方法

プロジェクト初年にグループBが計画しているマニラ地域の360世帯(1072名)を対象とした抗体保有率調査(seroprevalence survey)の対象者から得る質問票回答に基づき地域住民のレプトスピラ症に関する知識・態度・行動(KAP)の様態を明らかにするとともに、多くの環境因子と住民のKAPとの関連性について解析し、効果的な健康増進プログラム開発を考案し計画する。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

2010年8月がフィリピン側政府研究予算の運用開始となっていたが、実際に支出可能となったのが10月となった。フィールド調査準備作業(質問票開発・プレテスト等)を9月まで行い、10月22日よりマニラ首都圏の15市にある30のバラングイ(最小行政単位)で計360世帯を対象に質問票回答の収集とそのデータ整理を開始、

翌 1 月までに計 413 名(世帯)分の質問票回答の収集を終えた。データ整理、解析の結果、KAP について次の事が明らかとなった。

- ・感染ラットの尿がヒトへの感染源となることはよく知っている。
- ・ウイルスと細菌の区別はつかない予防、治療の知識はある。
- ・環境の清潔、洪水の水に浸からない、長靴を履く、を実行しているのはそれぞれ 36%、24%、21%であった。
- ・知識を得た主たる情報源はマスメディア(46%)であった。
- ・一方でビラ、ポスター、チラシ等の印刷物でレプトスピラの情報を得たケースは、それぞれ 9.2%、8.5%、6.8%であった。

現在は PCHRD/DOST への提出用報告書の推敲中。なお以上の調査結果によれば、地域住民はレプトスピラに関する知識と態度において非常に高いレベルを示しつつも行動面は約 40%程度のレベルに留まっている。また、レプトスピラに関する情報源としては TV ラジオ等のマスメディアがほとんどであり、印刷物によるケースがあまり見られなかった。このため地域住民の高い「知識」と「態度」のレベルを保ちつつ、「行動」レベルの改善を図るべく、今回の調査結果に基づき、住民啓蒙用のポスター等の印刷物の開発し、同対象地域での配布とその効果測定を含んだ研究を来年度の活動として計画之中である。

九州大学アジア遠隔医療開発センター (Telemedicine Development Center of Asia) は TEMDEC (テムデック) と呼ばれている。アジアを中心に各国の医療機関との間に構築された研究教育用の超高速インターネットを活用し、医療分野におけるその効率的かつ継続的な取り組みの中心的な役割を果たしている。フィリピン大学マニラ校公衆衛生学部(CPH-UPM) Nina Gloriani 学部長、Maridel Borja 教授、Jonathan Guevarra 教授を九州大学に招き、アジア遠隔医療開発センターのこれまでの実績と今後の展開について説明を受けた。TEMDEC を用いて 2013 年に九州で開催される ILS(International Leptospirosis Society)の国際学会を会場と CPH-UPM をつなぎ、テレカンファレンス形式の国際会議にすることを概ね了承された。

2012 年 6 月 21 日は公衆衛生学部の創立85周年記念の学会が開かれた。Dr. Guevarra による講演がおこなわれ、医師、看護師、主婦、衛生指導員、バランガイの世話人ら総勢 65 人が参加した。ポスター3000 部、うちわ 3000 部が印刷され配布された。

④ カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む) :

九州大学藤井准教授の 2010 年 8 月派遣時に CPH-UPM 側と本グループ D 分野における長期計画案を検討し P.O. にまとめられた。1-2 年目は現在 CPH が主体的に実施している KAP 調査とそれに基づく啓発活動計画策定や教材開発が主たる活動となる。2013 年に九州で開催される ILS(International Leptospirosis Society)の国際学会開催の際に九州大学とフィリピン総合病院(CPHに隣接)間に設置されている高速光ネットワークを利用しての多くのプロジェクト関係者の遠隔地参加構想について大枠の合意がなされた。

Nina Gloriani 学部長、Maridel Borja 教授、Jonathan Guevarra 教授に対して、公衆衛生情報 2011 年 5 月号(ライフ出版社)を手渡した。この号には、藤井潤が執筆した「レプトスピラ症」の背景、予防対策、診断・治療がコンパクトにまとめられており、これを下にしてフィリピンの医療従事者向けのポケットマニュアルを英語、タガログ語で作成しており、平成 24 年度には製本して、フィリピンの医療施設に配布する予定である。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば) :

当初活動計画案(PDM)では、プロジェクト開始直後の KAP 調査等において保健医療従事者が対象に計画されていたが、フィリピン側の 2010-2011 年における、DOST 承認がなされ実施された調査内容は住民対象のみ(②参照)となっている。そのため保健従事者対象の研究調査等については住民対象調査の結果とそれに基づき現在計画されている健康増進啓発ポスター配布の状況を見ながら、今後の調査研究を計画する際の対象とし

て検討することとしている。

中間評価の結果を受けて、啓発活動の効果を共同で評価にむけて話し合いが持たれた。H24 年度に作成した啓発活動用の教材を用いて、25 年度に向けて保健医療従事者対象に啓発活動を行い、その効果を評価する合意がおおむね得られた。具体的には、潜在価値や行動要因など、啓発活動効果に影響を与えるか要因分析を行い、新たな啓発活動の戦略策定につなげることを目的とする。また、対象地区のレプトスピラ患者の経費の軽減あるいは患者数の増減に変化が見受けられるか分析することになった。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

①本年度発表総数(国内 0 件、国際 3 件、うち in press 2件)

②本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 7 件)

③論文詳細情報

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

Antara Chakraborty*, Satoshi Miyahara, Sharon Y. A. M. Villanueva, Nina G Gloriani and Shin-ichi Yoshida.

In vitro sensitivity and resistance of 46 *Leptospira* strains isolated from rats in the Philippines to 14 antimicrobial agents.” Antimicrob. Agents Chemother. 54(12):5403–5405, 2010

Antara Chakraborty, Satoshi Miyahara, Sharon Y.A.M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Nina G. Gloriani and Shin-ichi Yoshida

A novel combination of selective agents for isolation of *Leptospira* species

Microbiol. Immunol. 55(7):494–501, 2011

Antara Chakraborty, Akemi Takade, Sharon Y.A.M. Villanueva, Nina G. Gloriani and Shin-ichi Yoshida

Electron microscopic study of the effects of antimicrobial agents on the cellular architecture of *Leptospira*.

J. Infect. Chemother. Published on line 20 May 2011

Saito M, Villanueva SY, Chakraborty A, Miyahara S, Segawa T, Asoh T, Ozuru R, Gloriani NG, Yanagihara Y, Yoshida S:

Comparative analysis of *Leptospira* strains isolated from environmental soil and water in the Philippines and Japan.

Applied and Environmental Microbiology 79(2):601–609, 2013.

Saito M, Villanueva SY, Kawamura Y, Iida KI, Tomida J, Kanemaru T, Kohno E, Miyahara S, Umeda A, Amako K, Gloriani NG, Yoshida SI:

Leptospira idonei sp. nov., isolated from an environmental water in Fukuoka, Japan.

International Journal of Systematic and evolutionary Microbiology, in press.

Widiyanti D, Koizumi N, Fukui T, Muslich LT, Segatwa T, Villanueva SY, Saito M, Masuzawa T, Gloriani NG, Yoshida S:

Development of Immunochromatography-Based Methods for Detection of Leptospiral Lipopolysaccharide Antigen in Urine.

Clinical and Vaccine Immunology, in press.

(2) 特許出願

① 本年度特許出願内訳(国内 0件、海外 0件、特許出願した発明数 0件)

② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0件、海外 0件)

4. プロジェクト実施体制

(1) 感染実態の把握: グループ A1

① 研究者グループリーダー: 吉田 真一(九州大学・教授)

② 研究項目: 感染実態の疫学調査

細菌学的・免疫学的調査

分離菌株の病原性検査

(2) 診断キットの開発と評価: グループ A2

① 研究者グループリーダー: 増澤 俊幸(千葉科学大学・教授)

② 研究項目: 診断法の開発と有用性の評価

(3) ワクチンの開発と評価: グループ A3

① 研究者グループリーダー: 吉田 真一(九州大学・教授)

② 研究項目: 死菌ワクチンと成分ワクチンの開発

DNA ワクチン開発

(4) レプトスピラ症の疫学と疾病負担: グループ B

① 研究者グループリーダー: 吉田 真一(九州大学・教授)

② 研究項目: 大都市におけるレプトスピラ症の疾病負担研究

疾病負担の経済分析

(5) 環境因子の解析: グループ C

① 研究者グループリーダー: 柳原 保武(静岡県立大学・名誉教授)

②研究項目:レプトスピラ感染症のリスク因子の解析

(6)啓発活動:グループ D

①研究者グループリーダー: 野村久子(九州大学・講師)

②研究項目:市民の知識、意識調査

市民への啓発活動

以上