

地球規模課題対応国際科学技術協力 (SATREPS)  
分野・領域「感染症」

課題・案件名「レプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発」  
(相手国:フィリピン)

## 終了報告書

期間 平成 22年 4月～平成 27年 3月

代表者氏名： 吉田 真一

九州大学大学院医学研究院・教授

## § 1 プロジェクト実施の概要

### 【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ので、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た)

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活動の中心となるベキリーダーと、副リーダーを置き、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され、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 が開かれ関係者にとって情報共有の良い機会となった。この会議は 2014 年 10 月までに計 23 回開催された。

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された。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、感染と相関する因子、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を試作し、その論文も平成25年5月に発表された。現在、モノクローナル抗体の大量生産が北海道大学の鈴木定彦教授研究室の協力で成功したので、診断キットメーカーとの共同研究を実施し製品化に向けて条件を検討している。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、フィリピンで広く侵淫している血清型を明らかにし、それに基づいて死菌ワクチンを製造しハムルターでその効果が確認された。無血清培地を使って培養した菌をワクチンとする作業が継続して行われている。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ものの明確な有効性は認められなかった。

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 Scientific Meeting)”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。併設された動物飼育室と動物感染実験室では死菌ワクチンの効果がハムスターを使って検定されている。

2012年11月-12月にかけて JICA および JST による中間評価が実施され、第2回 Scientific Meeting (2012年11月5日) と第3回 Joint Coordinating Committee (JCC) Meeting も開催された。

Scientific Meeting は第3回が2014年2月2日に開催され、2015年3月6日には Wrap Up Seminar となる “National Symposium on the Outcome of the Program for the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines” がダイヤモンドホテルで開催された。

第4回 JCC は2013年12月17日に、最終回となる第5回 JCC は2015年2月5日に開催した。

2013年10月8日から11日にかけて吉田が大会長となり International Leptospirosis Society (ILS) の Scientific Meeting を九州大学キャンパスで開催した。

#### 【プロジェクトの成果】

フィリピンの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剤の新しい組合せの開発、環境中のレプトスピラの分布と生態の研究、新種 *Leptospira idonii* の発見、唾液による菌の凝集現象の発見、黄疸発症の機序の解析、レプトスピラ由来酵素の尿中排泄の証明、迅速診断キットの開発などの成果を得た。これらの成果はすべて論文としてまとめられ、国際誌に合計16報掲載された。そのほか、フィリピン側の成果は PCHRD への報告書として提出された。DNAワクチンは有効性が確認されず、まだ論文にはなっていない。

#### 【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、成果が上がった。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、腎不全、出血の成因を明らかにするための研究を始める必要がある。

## § 2. プロジェクト構想(および構想計画に対する達成状況)

### (1) 当初のプロジェクト構想

フィリピンにおけるレプトスピラ感染症の実態を明らかにするために、感染疑い患者、一般人、家畜、ペットが保有する抗体の種類(血清型)と抗体価を調べる。迅速診断キットを開発し早期診断が行えるようにする。ワクチンを開発して動物の感染予防に寄与する。感染症の環境要因を明らかにする。啓発活動をおこなう。感染症特に重症化した場合の病態形成を明らかにする。フィリピン大学で研究が行える体制づくりを行う。

### (2) 新たに追加・修正など変更したプロジェクト構想

新しい選択剤の組合せを開発したので環境中からのレプトスピラの分離培養成績が飛躍的によくなり、新種の発見をはじめ環境中のレプトスピラ分布を明らかにするのに貢献した。

### (3) 活動実施スケジュール (実績)

(Plan of Operation に実績のバーチャートを線引きしたもの)

## §3 プロジェクト実施体制・投入実績

### 3.1. 実施体制

#### (1) 「微生物学的研究(感染実態把握)グループ

##### ① 研究参加者

##### 【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	吉田 眞一	九州大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	柳原 保武	静岡県立大学	名誉教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	齋藤 光正	九州大学	准教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	飯田 健一郎	九州大学	助教	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	Sharon Villanueva	九州大学	学術研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	山口 孝治	九州大学	テクニカルスタッフ	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	宮原 敏	九州大学	博士課程	2010. 10. 1～2015. 3. 31
	瀬川孝耶	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	王 常楽	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	尾鶴 亮	九州大学	博士課程	2012. 4. 1～2014. 3. 31
	麻生 達磨	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2014. 3. 31
	Yunus Amran	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2014. 3. 31

##### 【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Nina G. Gloriani	CPH-UPM	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Lolita L. Cavinta	CPH-UPM	助教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Rubelia Baterna	CPH-UPM	研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Ana Kriselda B. Rivera	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31

	Edwin Buentiempo	CPH-UPM	助手	2010. 8. 1～2015. 3. 31
	Azita Launa	CPH-UPM	助手	2010. 8. 1～2015. 3. 31
	Crystal Amiel M. Estrada	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Micaella Castro Dato	CPH-UPM	研究補助員	2011. 11. 1～2015. 3. 31

②研究項目

ヒトと家畜の抗体検査、環境水中の菌分離等による感染の実態と病態形成のメカニズムの分析

(2)「診断キットの開発と評価」グループ

① 研究参加者

【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	増澤 俊幸	千葉科学大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	吉田 眞一	九州大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	福井 貴史	千葉科学大学	講師	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	岡本 能弘	千葉科学大学	准教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Dian Widiyanti	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2014. 3. 31
	Muslich Lisa Tenriesa	九州大学	修士課程	2012. 4. 1～2014. 3. 31
*	山口 孝治	九州大学	テクニカルスタッフ	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Yunus Amran	九州大学	博士課程	2010. 4. 1～2014. 3. 31
	鈴木 定彦	北海道大学	教授	2014. 4. 1～2015. 3. 31

【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Nina G. Gloriani	CPH-UPM	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Lolita L. Cavinta	CPH-UPM	准教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Rubelia Baterna	CPH-UPM	研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Ana Kriselda B. Rivera	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Crystal Amiel M. Estrada	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Micaella Castro Dato	CPH-UPM	研究補助員	2011. 11. 1～2015. 3. 31

②研究項目

- ・ 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(国内のみ)。
- ・ 動物を用い、開発された診断キットの評価(感受性・特異性)を行う。

(3)ワクチンの開発と評価グループ

① 研究参加者

【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	吉田 眞一	九州大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	柳原 保武	静岡県立大学	名誉教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	齋藤 光正	九州大学	准教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	増澤 俊幸	千葉科学大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	Sharon Villanueva	九州大学	学術研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31

【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Nina G. Gloriani	CPH-UPM	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Lolita L. Cavinta	CPH-UPM	助教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Rubelia Baterna	CPH-UPM	研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Ana Kriselda B. Rivera	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Crystal Amiel M. Estrada	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Micaella Castro Dato	CPH-UPM	研究補助員	2011. 11. 1～2015. 3. 31

②研究項目

- ・ 流行株による死菌ワクチン及び成分ワクチン開発
- ・ DNAワクチン開発（国内のみ）
- ・ 実験動物を用い開発されたワクチンの効果と安全性評価を行う

(4) グループB：レプトスピラ症の疫学と疾病負担グループ

① 研究参加者

【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	吉田 真一	九州大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	矢部 光保	九州大学	教授	2010. 7. 1～2015. 3. 31
*	野村 久子	九州大学	講師	2010. 7. 1～2015. 3. 31

【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Maridel P. Borja	CPH-UPM	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Paula Jane America.	CPH-UPM	研究員	2010. 8. 1～2011. 3. 31
	Elaina Al-Qaseer	CPH-UPM	研究補助員	2010. 9. 1～2011. 6. 30
	Ryan Oliver Alba	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Darwin Cagang	CPH-UPM	研究補助員	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Maria Leonora A. B. Casas	CPH-UPM	研究補助員	2010. 10. 1～2010. 11. 30
	Roderick Napulan	CPH-UPM	研究補助員	2011. 3. 1～2012. 3. 31
	Micaella Castro Dato	CPH-UPM	研究補助員	2011. 7. 1～2015. 3. 31

② 研究項目

- ・ マニラ首都圏の住民を対象にした疫学調査による感染実態と感染要因の研究
- ・ 予防・診断・治療における負担コストの分析
- ・ レプトスピラ症に関する疾病負担の計量分析

(5)「グループ C: 環境因子の解析」グループ

① 研究参加者

【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	柳原 保武	静岡県立大学	名誉教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
*	Sharon Villanueva	九州大学	学術研究員	2010. 4. 1～2015. 3. 31

【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Lolita L. Cavinta	CPH-UPM	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	Bobby Crisostomo	Phil-Health	コンサルタント	2010. 8. 1～2015. 3. 31
	Oro Yra	CPH-UPM	研究補助員	2010. 11. 1～2011. 7. 31
	Jerwin Mendoza	CPH-UPM	研究補助員	2011. 1. 1～2011. 7. 31
	Paz Montano	CPH-UPM	研究補助員	2010. 8. 1～2011. 7. 31
	Kristopher Edward Reralta	CPH-UPM	研究補助員	2010. 8. 1～2011. 11. 30
	Joseph Tagayuna	CPH-UPM	研究補助員	2010. 8. 1～2011. 10. 31

②研究項目

- ・ 首都圏における過去 10 年間の患者二次データと様々な環境データのGIS化による環境因子解析研究

(6) グループ D: 啓蒙活動グループ

①研究参加者

【日本側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	吉田 眞一	九州大学	教授	2010. 4. 1～2015. 3. 31
	藤井 潤	九州大学	准教授	2010. 8. 1～2013. 3. 31
	野村 久子	九州大学	講師	2010. 7. 1～2015. 3. 31

【相手国側】

種別	氏名	所属	役職	参加期間
○	Jonathan P. Guevarra	CPH-UPM	助教	2010.10.1～2013.9.30
	Paula Jane America.	CPH-UPM	研究員	2010. 8. 1～2011. 3. 31
	Elaina Al-Qaseer	CPH-UPM	研究補助員	2010. 9. 1～2011. 6. 30
	Ryan Oliver Alba	CPH-UPM	研究補助員	2010. 10. 1～2010. 11. 30
	Darwin Cagang	CPH-UPM	研究補助員	2010. 9. 1～2015. 11. 30
	Jed Asiaii Mariano Dimaisip	CPH-UPM	研究補助員	2013. 3. 1～2013. 9. 30
	Maribel Oidem	CPH-UPM	研究補助員	2013. 11. 1～2014. 12. 31
	Yves Miel H. Zuniga	CPH-UPM	研究補助員	2014. 10. 1～2015. 3. 31
	Sofia Lemuelle C. Capistrano	CPH-UPM	研究補助員	2014. 11. 1～2015. 3. 31

③ 研究項目

- ・ マニラ首都圏の住民を対象にしたレプトスピラ症に関する KAP 調査に基づく効果的な啓蒙活動の開発。
- ・ 本プロジェクト成果の啓蒙普及活動（国際学会への参加等）

## § 4 プロジェクト実施内容及び成果

### 4.0 プロジェクト全体

#### (1) グループを統合した全体の成果

##### グループ A

- ① ラット分離株の遺伝学的、血清学的解析(原著論文1)、
- ② その抗生物質感受性(原著論文2)、
- ③ 病原性(原著論文9)、
- ④ 黄疽の病態形成を明らかにしたこと(原著論文12)、
- ⑤ ヒト感染者とラットから分離されたレプトスピラの遺伝学的近縁性(原著論文10)、
- ⑥ 環境からレプトスピラを分離するための選択培地の開発(原著論文3)、
- ⑦ 環境中のレプトスピラの分布と生態(原著論文 5 と 14)、
- ⑧ 新種 *Leptospira idonii* の発見(原著論文6)、
- ⑨ 免疫クロマト法による尿中レプトスピラ抗原迅速診断キットの作成(原著論文7)、
- ⑩ MCAT による抗体検出キットの開発
- ⑪ レプトスピラは水系よりも土壌からの分離率が高く、土壌細菌と位置づけた方が良い、との概念の形成。
- ⑫ 感染経路の研究において、唾液成分による繊維状凝集を発見した(原著論文13)、
- ⑬ 皮膚の角化層の感染防御への貢献を明らかにした(論文投稿中)。
- ⑭ Patoc に対する抗体が多く出現する現象が動物実験で再現できた。Patoc 陽性患者は病原性株に感染している可能性が高いことがわかった。
- ⑮ フィリピン流行株を特定し、不活化ワクチンを作成してハムスターでその有効性を確認した。

グループ B は患者とその家族のインタビューを行い、重症化の原因や経済負担などを明らかにして報告書「レプトスピラ感染症による経済的負担要因分析－負担緩和のための政策提言－」(報告書)を作成し、“Socioeconomy Survey on the Burden of Leptospirosis”(著書)として出版した。

グループ C はマニラ首都圏地域の患者と危険因子の相関について 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 代表が発表した。

グループ D は、KAP 調査を行いそれを元にしてポスターやうちわを作成した。医療関係者向けのレプトスピラ感染症ポケットマニュアルを作成した。

##### カウンターパートへの技術移転として

- 1) PCR法、リアルタイムPCR法、パルスフィールドゲル電気泳動法などの技術、
- 2) MCAT 法や ELISA 法など診断技術の移転
- 3) 超音波ホモジナイザーなど機器の使用法、
- 4) 無タンパク培地を使った培養法、連続培養法
- 5) ハムスターの飼育方法、繁殖方法、感染実験法
- 6) 死菌ワクチン、外膜成分ワクチン、DNA ワクチンの作成方法などがある。

## 成果の位置づけ

- 1) 選択剤の新しい組合せの開発は環境中のレプトスピラの分布を明らかにするのに貢献している。
- 2) 免疫クロマト法による診断キットの開発とその報告は実用化された場合、早期診断、重症化の予防に寄与するところは大きい。
- 3) DNA ワクチンの効果は弱く、死菌ワクチンの効果は強いことがわかった。

## (2) 今後期待される効果

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、成果が上がった。これらの成果をレプトスピラ感染のコントロールに活かしたい。とくに、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、黄疸発生のメカニズムを明らかにした手法を用いて、腎不全の病態形成の機序や感染が慢性化したときに菌が腎臓に定着する機序、さらに、出血の成因を明らかにしたい。九州大学齋藤光正准教授が産業医科大学微生物学の教授に内定したので、日本側の研究継続が可能となった。

## 4.1 細菌学的研究（感染実態の把握、グループ A1）

### (1) 研究実施内容及び成果

#### 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り、人的被害のみならず、家畜の感染による産業、経済に与える影響は大きい。グループ A (A1) ではヒトのほか、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報告した(表 1)。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。

表1. フィリピンにおけるヒトと動物の血清抗体陽性率と主な血液型(フィリピン)

	血液検 体数	陽性数(率)	主な血液型(例数)
ヒト患者 a	71	53 (75%)	Poi(40), Tarassovi(22), Manilae(9)
野生ラット	106	98 (92%)	Manilae(15), Hebdomadis(11), Lostanos(9)
スイギュウ	190	155 (82%)	Hardjo(37), Tarassovi(27), Hebdomadis(21)
ブタ	45	30 (67%)	Semarang(6), Patoc(4), Hebdomadis(4)

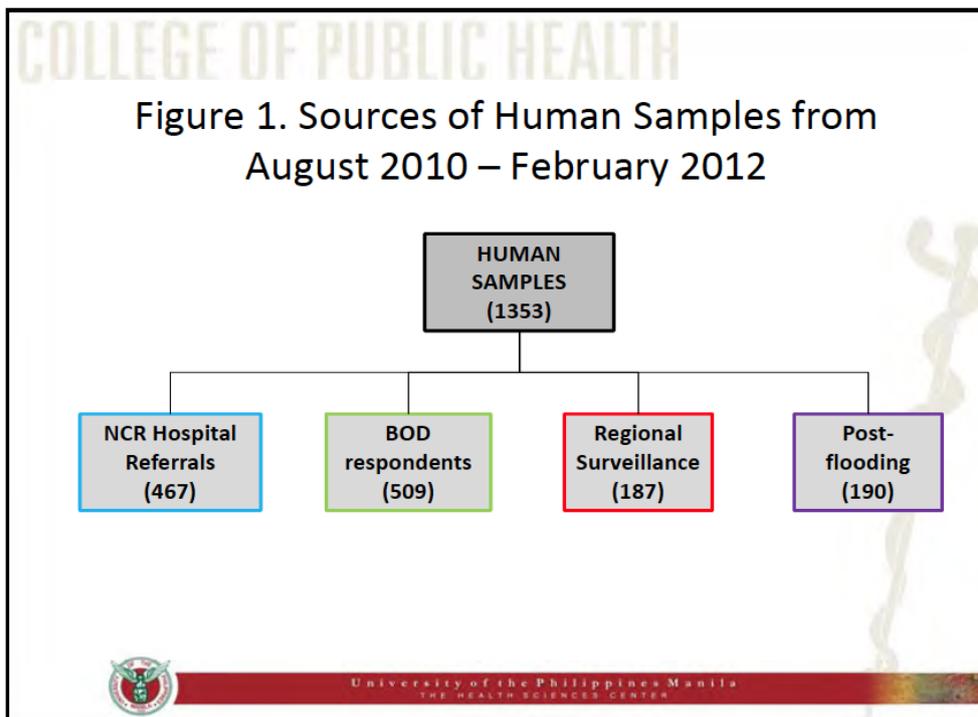
a; 1999年～2001年にかけて調べられた感染疑い患者。  
ヒト以外の動物の血清は2006年～2008年に調べられた。

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%)、ウシ(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に報告されたデータをfigure 1 (単独血清 Single serum sampleのみ)とTable 2に示す。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%), Semarang (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、症状が見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。



**Table 2. Distribution of MAT Result According to Region, Single Serum Samples**

Region	MAT-positive N=493		MAT-negative N=825		MAT-positivity per region	
	No.	%	No.	%	No. of positives over total no. of samples the region	%
National Capital Region Hospital	295	59.8	153	18.5	295/448	65.8
Community (BOD)	13	2.6	496	60.1	13/509	2.6
Region I	32	6.5	34	4.1	32/66	48.5
Region III	25	5.1	18	2.2	25/43	58.1
Region IV-A	11	2.2	11	1.3	11/22	50.0
Region V	8	1.6	11	1.3	8/19	42.1
Region VI	73	14.8	45	5.5	73/118	61.9
Region VIII	8	1.6	15	1.8	8/23	34.8
Region X	28	5.7	42	5.1	28/70	40.0
<b>Overall seropositivity</b>					<b>493/1318</b>	<b>37.4</b>

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、嘔吐 63.0%、腹痛 58.7%、下痢 36.3% など、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、環境中のレプトスピ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。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。これまでのわれわれの調査から、レプトスピラは水環境よりも土壌から分離される率が高く、土壌細菌と考えた方が良いとの見解に立って調査を続けている。

(2) 研究成果の今後期待される効果

新しい選択剤の組合せを開発し選択培地を使用することにより環境中のレプトスピラの分離率が格段に向上し、遺伝学的に病原性がある種も分離できるようになった(原著論文3)ので、今後本菌の自然界分布が一層明らかになるであろう。

4. 2 細菌学的研究(診断キットの開発と評価、グループ A2)

(1) 研究実施内容及び成果

4. 2. 1. 1 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が、抗菌薬による治療は可能であり、早期の治療開始が、その予後を決定すると言える。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、実用化を目指す。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行った。

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勞した。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を 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掲載され(原著論文7)、また、国内・国外への特許を出願した。

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):

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):

フィリピンラボでの MAT の実施手技に問題がある部分が判明し、その改善を提案した。具体的には、抗原として使用する培養菌が、培養中に自然凝集を起こしており、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。

#### 4.2.1.2 リアルタイム PCR による尿中、血清中レプトスピラ遺伝子の検出

① 研究のねらい

これまでマイクロカプセル凝集試験による血清学的診断法、イムクロマトによる抗原検出診断法の開発を目指していた。これは PCR 等による遺伝子診断は、コストが高く、高価な機器を必要とすることからあえて避けてきた。一方で、近年フィリピンの急速な経済発展により、比較的成本のかかる遺伝子診断の実施も可能な状況となった。そこでより高感度、迅速な診断法としてリアルタイム PCR による遺伝子診断の導入を行った。

② 研究実施方法

レプトスピラの鞭毛遺伝子 *flaB* を標的とする SYBR Green リアルタイム PCR 系を確立した。健常人尿に培養レプトスピラを添加して調製した模擬試料、実験的感染犬の尿を材料に検出感度を評価した。また、試験試料としてフィリピンの培養陽性患者尿 6 検体、陰性患者尿 98 検体を用いて、*flaB* Nested PCR と感度を比較した。

- ③ 初の計画（全体計画）に対する現在の進捗状況  
リアルタイム PCR のプライマー設計、増幅条件の検討、各種尿試料からの検出と Nested PCR による検出感度との比較を行い、実施目標を達成した。一段階増幅のみのリアルタイム PCR の感度は、2 回増幅を行う Nested PCR の感度には及ばなかった。一方、リアルタイム PCR は迅速であり、1 時間ですべての解析が終了することから、有効な診断法となる。
- ④ カウンターパートへの技術移転の状況  
フィリピンの研究室に導入されたリアルタイム PCR 機のセットアップ、現地スタッフへの実施方法等の技術指導を行った。とりあえず、現地でリアルタイム PCR を実施できるようになった。フィリピン側では Taqman-リアルタイム PCR の実施を希望している。
- ⑤ 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  
今回、培養陽性の尿でも遺伝子が検出できないサンプルが見られた。尿サンプルは-30°C で凍結保存されているが、保存中、あるいは凍結融解繰り返しによる DNA の分解も考えられる。新鮮な尿から DNA を調製して検出を検討する必要がある。

#### 4. 3 細菌学的研究(ワクチンの開発と評価、グループ A3)

##### (2) 研究成果の今後期待される効果

##### 4.3.2.1. 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である。死菌ワクチンは血清型特異的なので、フィリピンのマニラ首都圏で流行する主な血清型を決定する必要がある。われわれは人の抗体保有率が高くラットが持っている血清型は *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(原著論文10)。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 Manilae 8 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とめ凍結乾燥し、-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 x 10<sup>8</sup>/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。

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。

#### 4.3.2.2. 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 *lip32*, *lip41* 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を作製し有効性を検討したが安定した有効性は認められなかった。

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):

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。

### 4.4 レプトスピラ症の疫学と疾病負担(グループB)

#### 4.4.1. 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名分の質問票の回答を得た。

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、クワ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。

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

#### 4.4.2 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(Contingent Valuation method, 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。

#### ④ 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、199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10月から2012年10月までマニラ市内のバランガイ住民で家族がレプトスピラ症に感染した世帯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186人であった。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、186人分の詳細なレポートを作成し、本として出版した(著書1)。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):

患者とその家族へのインタビューをまとめた、“Socioeconomy Survey on the Burden of Leptospirosis”を出版した(2014年12月)

### 4.5 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

#### 4. 5. 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する綿密な情報把握とその分析に基づく的確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、頻繁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である。

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 月までに行い、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。

これらの結果は PCHRD/DOST へ報告書として提出された。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を作成し、同対象地域で配布した。

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が検討された。

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、これを基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で作成しており、最終年度には製本して、フィリピンの医療施設に配布する予定である(2015 年 2 月現在、Department of Health が内容を検討中である)。

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た。

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。

## § 5 成果発表等

(1) 原著論文発表(国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 17 件)

1. 著者、論文タイトル、掲載誌 巻、号、発行年

1) Sharon Yvette Angelina M. Villanueva, Hirokazu Ezoe, Rubelia A. Baterna, Yasutake Yanagihara, Maki Muto, Nobuo Koizumi, Takashi FukuiYoshihiro 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) 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

3) 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

4) 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

5) 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.

6) 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 idonii* sp. nov., isolated from an environmental water in Fukuoka, Japan.

International Journal of Systematic and evolutionary Microbiology, 63(7):2457-62, 2013.

7) 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, 20(5):683-690, 2013.

8) Arbiol Joseph, Maridel Borja, Mituyasu Yabe, Hisako Nomura, Nina Gloriani, Shin-ichi Yoshida, Valuing Human Leptospirosis Prevention Using the Opportunity Cost of Labor, International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(5), pp. 1845-1860, 2013. 05.

9) Sharon Yvette Angelina M. Villanueva<sup>1#</sup>, Mitsumasa Saito<sup>1</sup>, Yutaka Tsutsumi<sup>2</sup>, Takaya Segawa<sup>1</sup>, Rubelia A. Baterna<sup>3</sup>, Antara Chakraborty<sup>1†</sup>, Tatsuma Asoh<sup>1</sup>, Satoshi Miyahara<sup>1</sup>, Yasutake Yanagihara<sup>3</sup>, Lolita L. Cavinta<sup>3</sup>, Nina G. Gloriani<sup>3</sup>, Shin-ichi Yoshida<sup>1</sup>

High Virulence in Hamsters of Four Dominantly Prevailing *Leptospira* Serovars Isolated from Rats in the Philippines

Microbiology, 2014 Feb; 160 (Pt 2): 418-28

- 10) Sharon Yvette Angelina M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Rubelia A. Baterna, Crystal Amiel M. Estrada, Ana Kriselda B. Rivera, Micaella C. Dato, Takaya Segawa, Lolita L. Cavinta, Takashi Fukui, Toshiyuki Masuzawa, Yasutake Yanagihara, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
A Novel Aspect of *Leptospira*-rat-human relationship in Luzon, Philippines  
Microbes and Infection 2014, in press
- 11) Segawa T, Nomura KH, Villanueva SYAM, Saito M, Nomura K, Gloriani N, and Yoshida S:  
Identification of leptospiral 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase released in the urine of infected hamsters.  
BMC Microbiology 14:132-141, 2014
- 12) Miyahara S, Saito M, Kanemaru T, Villanueva SYAM, Gloriani N, and Yoshida S:  
Destruction of the hepatocyte junction by intercellular invasion of *Leptospira* causes jaundice in a hamster model of Weil's disease.  
International Journal of Experimental Pathology 95(4):271-281, 2014
- 13) Tatsuma Asoh, Mitsumasa Saito, Sharon Y. A. M. Villanueva, Takaaki Kanemaru, Nina Gloriani, and Shin-ichi Yoshida:  
Natural Defense by Saliva and Mucosa against Oral Infection by *Leptospira*  
Can. J. Microbiol. 60(6), 383-9, 2014
- 14) Mitsumasa Saito, Satoshi Miyahara, Sharon Y. A. M. Villanueva, Natsumi Aramaki, Mami Ikejiri, Yoshie Kobayashi, Jonathan P. Guevarra, Toshiyuki Masuzawa, Nina G. Gloriani, Yasutake Yanagihara, and Shin-ichi Yoshida  
PCR and culture identification of pathogenic *Leptospira* from coastal soil in Leyte, Philippines after a storm surge during Super Typhoon Haiyan (Yolanda).  
Applied and Environmental Microbiology 80(22), 6926-32, 2014
- 15) Muslich LT, Villanueva SYAM, Amran MY, Segawa T, Saito M, and Yoshida S:  
Characterization of *Leptospira* infection in suckling and weaning rat pups.  
Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 38:47-55, 2015
- 16) Joseph Arbiol, Mitsuyasu Yabe, Hisako Nomura, Maridel Borja, Nina Gloriani, and Shin-ichi Yoshida:  
Using Discrete Choice Modeling to Evaluate the Preferences and Willingness to Pay for *Leptospirosis* Vaccine. (和訳：レプトスピラワクチンに対する選好と支払意思額の評価のための選択実験モデルの適応)  
Human Vaccines & Immunotherapeutics 2015 accepted.
- 17) Mitsumasa Saito, Sharon YAM Villanueva, Toshiyuki Masuzawa, Yusuke Haraguchi, Shuhei Ita, Satoshi Miyahara, Ryo Ozuru, Takayoshi Yamaguchi, Michinobu Yoshimura, Mami Ikejiri, Natsumi Aramaki, Muhammad Yunus Amran, Lisa Tenriesa Muslich, Ken-ichiro Iida, Yasutake Yanagihara, Nina G Gloriani, and Shin-ichi Yoshida.  
The usefulness of semi-solid medium in the isolation of highly virulent *Leptospira* strains from wild rats in an urban area of Fukuoka, Japan.

Microbiology and Immunology, 2015 in press.

(2) その他の著作物 (総説、書籍など)

<総説>

- 1) 吉田 眞一：レプトスピラの感染実態と気象環境の影響 『化学療法の領域』 12月号 (vol.26, No.12) p.48-56, 2010
- 2) 柳原保武：ライム病、レプトスピラ症 『人獣共通感染症』改訂版(木村 哲、喜田 宏編集)、医薬ジャーナル社、2011年2月.
- 3) 柳原保武：細菌学各論 『微生物学 ー病原微生物の基礎』改定第6版 (今井康之、増澤俊幸編集)、 南江堂、2011年8月.
- 4) 増澤俊幸： レプトスピラ症 最新医学 第66巻12号、2697-2702, 2011
- 5) 吉田眞一、齋藤光正：レプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発 環境科学会誌 24(6)：626-630, 2011
- 6) 増澤俊幸、福井貴史、柳原保武、吉田眞一：フィリピンにおけるレプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発 (LepCon 計画)、『化学療法の領域』 Vol. 28, No. 6, 1384-1392, 2012
- 7) 齋藤光正、Sharon Y.A.M. Villanueva, 増澤俊幸、柳原安武、吉田眞一：レプトスピラ感染症～ワイル病病原体発見から百年～、日本細菌学雑誌 2015

<著書>

- 1) Yabe, Mitsuyasu, Joseph Arbiol and Hisako Nomura, *Socioeconomic Survey on Burdens of Leptospirosis, Project Report for Burden of Disease Study*, Laboratory of Environmental Economics, Faculty of Agriculture, Kyushu University, pp.1-245, 2012

<報告書>

- 1) 野村久子、矢部光保、アルビオール・ジョセフ、吉田眞一  
「レプトスピラ感染症による経済的負担要因分析ー負担緩和のための政策提言ー」研究グループB報告書、JICA/JST 地球規模課題対応 国際科学技術協力事業 (SATREPS)、  
「レプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発プロジェクト」(平成22~26年度)、九州大学、2013年3月.

<研修コースや開発されたマニュアル等>

- ① 研修コース概要 (コース目的、対象、参加資格等)、研修実施数と修了者数

2012年10月15-19日にかけて Lepcon Laboratory において “Leptospirosis Laboratory Training for Western Pacific Countries” を開講した。これは WHO/WPRO の支援により WHO/WPRO が管轄する西太平洋地域諸国の研修者にレプトスピラの検査法、実験法を教育するためのものである。研修受講者はラオス2名、ベトナム2名、カンボジア2名、フィリピン6名のほか、オブザーバー3名であった。講師として柳原保武、増澤俊幸、齋藤光正、シャロンなどプロジェクトグループから参加した。さらに2014年12月1-6日には第2回目に当たる” Training for Strengthening of Leptospirosis Laboratory Testing for Countries in Asia” を開催した。

② 開発したテキスト・マニュアル類

上記の研修コースのために、講義と実験手技を説明したマニュアルが作成され受講者に渡された。

(3) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 2 件、国際会議 1 件)

第 51 回日本熱帯医学会総会 (平成 22 年 12 月 4 日 仙台国際センター)

シンポジウム [熱帯地で問題となっている人獣共通感染症]

『レプトスピラ感染症』 吉田 眞一

PCHRD(DOST) 設立 29 周年セミナー「Challenges and Innovations in Local Health Technologies」(2011 年 3 月 18 日)

『A Comprehensive Public Health Program for the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines』 Prof. Nina G. Gloriani, MD. PhD.

『The Place Behind the Case: Leptospirosis Environmental Risk in Metro Manila』 Assoc. Prof. Lolita L. Cavinta, MSc.

齋藤光正、Sharon Villanueva、増澤俊幸、柳原保武、吉田眞一： レプトスピラ感染症～ウイルス病病原体発見から百年～ シンポジウム「忍び寄る人獣共通病原体」 第 86 回日本細菌学会総会 (幕張) 2013 年 3 月

② 口頭発表 (国内会議 2 件、国際会議 15 件)

Joseph Arbiol, Maridel Borja, Mitsuyasu Yabe & Hisako Nomura, Economic Valuation of Leptospirosis Control and Prevention Program Using Contingent Valuation Method, the 8th International Symposium between Japan and Korea, Tottori University, Japan, November 16, 2011

Joseph Arbiol, Maridel Borja, Mitsuyasu Yabe and Hisako Nomura, “Economic Valuation of Leptospirosis Control and Prevention Program Using Contingent Valuation Method.” The 1st Scientific Symposium on the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines, University of the Philippines Manila, the College of Public Health, the Philippines, 2012.01.26

Hisako Nomura, Mitsuyasu Yabe, and Joseph Arbiol, “Where are micro policies necessary in the scope to mitigate a neglected disease?” ACSPRI Conferences, RC33 Eighth International Conference on Social Science Methodology, Sydney, Australia, 2012.07.11.

Joseph Arbiol, Maridel Borja, Mitsuyasu Yabe and Hisako Nomura, “Valuation of the economic burden of Leptospirosis: a causal study and a stated preference approach for Leptospirosis vaccine attributes.” The 2nd Scientific Symposium on the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines, University of the Philippines Manila, the College of Public Health, the Philippines, 2012.11.05

Joseph Arbiol, Mitsuyasu Yabe & Hisako Nomura. Assessing the Preferences for Leptospirosis Vaccine Attributes: A Discrete Choice Modeling Approach. The International Symposium on Agriculture, Food, Environmental and Life Science in Asia 2012, Chungnam National University, Daejon, South Korea, November 7,

2014年2月20日 Lecture on Leptospirosis “Updates in Leptospirosis” Angeles 大学医学部にて講義。

Joseph Arbiol, Mitsuyasu Yabe, and Hisako Nomura, An Estimation of the Economic Burden of Leptospirosis Using Cost-of-Illness Approach, International Symposium on Agricultural, Food, Environmental and Life Sciences in Asia (International Joint Symposium among Japan, Korea and China), Miyazaki, 2013.11.07

Sharon Yvette Angelina M. Villanueva\*, Mitsumasa Saito, Rubelia A. Baterna, Crystal Amiel M. Estrada, Ana Kriselda B. Rivera, Micaella C. Dato, Takaya Segawa, Lolita L. Cavinta, Takashi Fukui, Toshiyuki Masuzawa, Yasutake Yanagihara, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida

*Leptospira* Isolates from Humans and Rats in the Philippines: Insights into the *Leptospira*-Rat-Human Relationship (oral presentation during the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013)

Takaya Segawa, Kazuko H. Nomura, Sharon Y.A.M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Kazuya Nomura, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida. “急性レプトスピラ感染症ハムスターの尿中レプトスピラタンパクの同定” 第66回日本細菌学会九州支部総会. (Oral presentation, No. 05). Nagasaki, Japan. September 6-7, 2013.

Satoshi Miyahara\*, Mitsumasa Saito, Takaaki Kanemaru, Sharon Y.A.M. Villanueva, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida

Ripping the hepatocyte junction apart by intercellular invasion of *Leptospira* causes jaundice in a hamster model of Weil’ s disease  
the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013

A Survey on the Prevailing *Leptospira* Serovars Among Humans and Animals in the Philippines, August 2010 to February 2012

Nina G. Gloriani\*, Lolita L. Cavinta, Rubelia A. Baterna, Crystal Amiel M. Estrada, Ana Kriselda B. Rivera, Micaella C. Dato, Sharon Yvette A. M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida  
the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013

Behavioral and Environmental Determinants of Leptospirosis Seroconversion in Metro Manila, Philippines

Maridel Pasag Borja\*, Roderick M. Napulan, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013

A study of the Environmental Determinants of Leptospirosis in Metro Manila, Philippines using Geographic Information System (GIS)  
Lolita L. Cavinta, Bobby Crisostomo, Jesus N. Sarol, Sharon Y.A.M. Villanueva, Rubelia A. Baterna, Yasutake Yanagihara, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
*the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013*

A novel immunochromatography-based methods for detection of leptospiral antigen in human urine  
Dian Widiyanti, Koizumi Nobuo, Fukui Takashi, Lisa Tenriesa Muslich, Takaya Segawa, Sharon Y.A.M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Toshiyuki Masuzawa, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
*the 8<sup>th</sup> International Leptospirosis Society Scientific Meeting in Fukuoka, Japan on October 10, 2013*

Sharon Y. A. M. Villanueva\*, Mitsumasa Saito, Marohren T. Altura, Rubelia A. Baterna, Micaella C. Dato, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
Exploration of Environmental Leptospire in Selected Colleges of University of the Philippines-Manila  
*(the 51<sup>st</sup> Leptospirosis Symposium in Tokyo, Japan on March 29, 2014)*

益田翔、岡本能弘、福井貴史、Rubelia A. Baterna, Lolita Cavinta, Nina G. Gloriani, 増澤俊幸：リアルタイム PCR によるレプトスピラ迅速検出法の確立 第 51 回レプトスピラシンポジウム (東京) 2014 年 3 月 29 日

③ ポスター発表 (国内会議 12 件、国際会議 19 件)

兼村淳、福井貴史、岡本能弘、増澤俊幸：人獣共通感染症であるレプトスピラ症の迅速・簡便な診断薬開発 日本薬学会第 131 年会 (静岡) 2011 年 3 月 29 日 (東日本大震災のため中止)

兼村淳、増澤俊幸、岡本能弘、福井貴史、柳原保武：フィリピンにおけるレプトスピラ症診断を目的としたマイクロカプセル凝集試験法の開発 第 23 回微生物シンポジウム(銚子) 2011 年 9 月 3 日

Toshiyuki Masuzawa, Takashi Fukui, Jun Kanemura, Yoshihiro Okamoto, Yasutake Yanagihara, and Villanueva Sharon Y.A.M, Rubelia Baterna. Development of microcapsule agglutination test (MCAT) to diagnose Leptospirosis in the Philippines. VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) 2011 年 9 月 22 日

Effectiveness of a novel combination of selective agents for the isolation of leptospire from environmental soils and water.

Mitsumasa Saito, Antara Chakraborty, Satoshi Miyahara, Sharon Y. A. M. Villanueva, Nina G. Gloriani, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida  
VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) S e p

t. 22, 2011

Identification of Prevalent *Leptospira* Serovars in the Philippines

Nina G. Gloriani, Lolita L. Cavinta, Rubellia A. Batterna, Crystal Amiel Estrada, Anna Kriselda Rivera, Shin-ichi Yoshida, Sharon Y.A.M. Villanueva, Yasutake Yanagihara

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

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

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

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

Pathogenicity in Hamsters of 4 *Leptospira* Isolates from the Philippines: Histopathological Studies

Sharon Yvette Angelina M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Yutaka Tsutsumi, Rubelia A. Baterna, Takaya Segawa, Tatsuma Asoh, Satoshi Miyahara, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

*Leptospira interrogans* serovar Losbanos invades mainly through oral or esophageal mucosa in oral infection.

Tatsuma Aso, Mitsumasa saito, Sharon Y.A.M. Villanueva, Takaya Segawa, Satoshi Miyahara, Ryo Ozuru, Dian Widiyanti, Shin-ichi Yoshida

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

Development of microcapsule agglutination test (MCAT) for the diagnosis of leptospirosis in the Philippines

Toshiyuki Masuzawa, Takashi Fukui, Jun Kanemura, Yoshihiro Okamoto, Yasutake Yanagihara, Sharon Y.A.M. Villanueva, Shin-ichi Yoshida, Rubelia baterna, Nina G. gloriani

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

Genome sequence of *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae strain Ictero No. 1

Ken-ichiro Iida, Takaya Segawa, Tian Qin, Hideki Hirakawa, Xiao-kui Guo, Shin-ichi Yoshida

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

Characterization of LipL32, the major surface antigen of pathogenic *Leptospira*, as a hemoglobin binding protein

Takashi Fukui, Ryoki Iwata, Yoshihiro Okamoto, Toshiyuki Masuzawa

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22,

2011

Proteomic analysis of urine of rats infected with *Leptospira interrogans* serovar manilae

Takaya Segawa, Kazuko H. Nomura, Sharon Y.A.M. Villanueva, Jun Fujii, Shin-ichi Yoshida

VII International Leptospirosis Society meeting (ILS2011) (Merida, Mexico) Sept. 22, 2011

Toshiyuki Masuzawa, Jun Kanemura, Takashi Fukui and Yoshihiro Okamoto : Development of rapid methods for serodiagnosis and identification of *Leptospira*. 1st Scientific Symposium on the Prevention and Control of Leptospirosis in the Philippines (LEPCON) (Manila, Philippine) January 26, 2012.

兼村淳、福井貴史、岡本能弘、柳原保武、Villanueva Sharon Y. A. M、吉田真一、増澤俊幸：患者、野鼠、環境水より分離されたフィリピンのレプトスピラの血清型同定 第49回レプトスピラシンポジウム (福岡) 2012年3月

増澤俊幸、兼村淳、福井貴史、岡本能弘、岩渕紳一郎：イムノクロマト法による迅速な血清型別 第49回レプトスピラシンポジウム (福岡) 2012年3月

兼村淳、福井貴史、岡本能弘、柳原保武、Villanueva Sharon Y. A. M、吉田真一、増澤俊幸：フィリピンの患者、野鼠、環境水より分離されたレプトスピラの血清型同定 第85回日本細菌学会総会 (長崎) 2012年3月

福井貴史、兼村淳、Sharon Y. A. M. Villanueva、吉田真一、岡本能弘、増澤俊幸：フィリピンにおけるレプトスピラ症診断用 ELISA の開発とその有用性の検討 第86回日本細菌学会総会 (幕張) 2013年3月18日

増澤俊幸、福井貴史、岡本能弘、大橋典男：極東ロシア由来マダニのヒト顆粒球アナプラズマとライム病ボレリアの共感染 第86回日本細菌学会総会 (幕張) 2013年3月18日

麻生達磨、齋藤光正、シャロン ヴィリヤヌエヴァ、吉田真一： Natural defense by saliva, mucosa and gastric acid against oral infection of *Leptospira*. 第86回日本細菌学会総会 (幕張) 2013年3月

Sharon Y. A. M. Villanueva、齋藤光正、柳原保武、吉田真一： PFGE and serological analysis of *Leptospira* isolates from humans and rats in the Philippines. 第86回日本細菌学会総会 (幕張) 2013年3月

瀬川孝耶、Sharon Villanueva、齋藤光正、吉田真一： レプトスピラ感染ハムスターの尿タンパク解析 第86回日本細菌学会総会 (幕張) 2013年3月

福井貴史、兼村淳、Sharon Y. A. M. Villanueva、吉田真一、岡本能弘、増澤俊幸：フィリピンにおけるレプトスピラ症診断用 ELISA の開発とその有用性の検討。 第86回日本細菌学会総会抄録集、幕張、2013

Toshiyuki Masuzawa, Jun Kanemura, Takashi Fukui, Yoshihiro Okamoto.

Development of *Leptospira* detection devices based on immunochromatography.

8th International Leptospira Society meeting (ILS2013), Fukuoka, Japan, 2013-10.

Takashi Fukui, Jun Kanemura, Sharon Y.A.M. Villanueva, Rubelia A. Baterna, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida, Yoshihiro Okamoto, Toshiyuki Masuzawa:

Evaluation of microcapsule agglutination test (MCAT) for the serodiagnosis of leptospirosis in the Philippines.

8th International Leptospira Society meeting (ILS2013), Fukuoka, Japan, 2013-10.

Sharon Yvette Angelina M. Villanueva\*, Mitsumasa Saito, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida

PFGE and serological analyses of *Leptospira* isolates from humans and rats in the Philippines

(poster presentation during the 86<sup>th</sup> Japanese Society for Bacteriology conference in Makuhari, Chiba, Japan on March 2013).

Takaya Segawa, Kazuko H. Nomura, Sharon Y.A.M. Villanueva, Mitsumasa Saito, Kazuya Nomura, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida.

“Identification of leptospiral 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase secreted in the urine of infected hamsters.”

8th International Leptospirosis Society Meeting (ILS 2013). (PS1-27). Fukuoka, Japan. October 8-11, 2013.

Characterization of *Leptospira* Infection in Suckling and Weaning Rat Pups

Lisa Tenriesa Muslich\*, Sharon Y. A. M. Villanueva, Muhammad Yunus Amran, Takaya Segawa, Mitsumasa Saito, Shinichi Yoshida

8th International Leptospirosis Society Meeting (ILS 2013).. Fukuoka, Japan. October 8-11, 2013.

New insights in the study of *Leptospira* in the environment using a novel combination of selective agents

Mitsumasa Saito\*, Sharon Y.A.M. Villanueva, Ken-ichiro Iida, Antara Chakraborty, Satoshi Miyahara, Takaya Segawa, Tatsuma Asoh, Ryo Ozuru, Yoshiaki Kawamura, Junko Tomida, Eri Kohnno, Akiko Umeda, Nina G. Gloriani, Yasutake Yanagihara, Shin-ichi Yoshida

8th International Leptospirosis Society Meeting (ILS 2013).. Fukuoka, Japan. October 8-11, 2013.

Natural Defense by Saliva, Mucosa, and Gastric Acid against Oral Infection by *Leptospira*

Tatsuma Asoh\*, Mitsumasa Saito, Sharon Y.A.M. Villanueva, Takaaki Kanemaru, Nina Gloriani, Shin-ichi Yoshida

8th International Leptospirosis Society Meeting (ILS 2013).. Fukuoka, Japan. October 8-11, 2013.

Development of Health Communication Materials for the Prevention and Control of Leptospirosis in the National Capital Region, Philippines

Jonathan P. Guevarra\* and Nina G. Gloriani  
8th International Leptospirosis Society Meeting (ILS 2013).. Fukuoka, Japan. October  
8-11, 2013.

宮原敏、齋藤光正、Sharon Y. A. M. Villanueva、吉田眞一 レプトスピラ症のハムスター  
感染モデルにおける黄疸の機序の解析 第87回日本細菌学会総会 東京 2014年3月26-28  
日 (ポスター)

宮原 敏, 齋藤光正, Sharon Y. A. M. Villanueva, 荒牧夏美, 池尻真美, 小林好江, Jonathan  
P. Guevarra, 増澤俊幸, Nina G. Gloriani, 柳原保武, 吉田眞一  
台風 Haiyan による高潮被害を受けたフィリピン・レイテ島の土壌からの病原性レプトスピ  
ラ分離  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

Sharon Y. A. M. Villanueva, Yasutake Yanagihara, Mitsumasa Saito, Rubelia A. Baterna,  
Amiel  
Crystal M. Estrada, Ana Kriselda B. Rivera, Takaya Segawa, Ryo Ozuru, Mami Ikejiri,  
Yusuke Hidaka, Changle Wang, Nina G. Gloriani, Shin-ichi Yoshida  
Development and Evaluation of Vaccines Using 5 Leptospira Serovars Prevailing in the  
Philippines  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

柳原保武, 齋藤光正, 増澤俊幸, Sharon Y. A. M. Villanueva, 宮原 敏, 小林好江,  
日高悠介, 牧夏美, 池尻真美, Rubelia A. Baterna, Bong. X. Mingala, Jonathan P. Guevarra,  
Nina G. Gloriani, 吉田眞一  
レプトスピラの生態に関する新たな視点  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

ウイルス病原体発見から 100 年目の研究の現状(特別講演)  
吉田眞一 (九州大学大学院医学研究院細菌学分野)  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

尾鶴亮, 齋藤光正, 吉田眞一  
Luciferase 発現 Leptospira を用いた in vivo イメージング  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

池尻真美, Sharon Y. A. M. Villanueva, 齋藤光正, 吉開泰信, 吉田眞一  
レプトスピラ感染症における抗Patoc抗体出現の意味  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

日高悠介, 齋藤光正, Sharon Y. A. M. Villanueva, 増澤俊幸, 金丸孝昭, 柳原保武, Nina  
G. Gloriani, 吉田眞一  
環境分離レプトスピラ株の病原性の検討  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

益田翔, 増澤俊幸, 岡本能弘, 福井貴史, 吉田眞一  
フィリピンにおける感染症制御を目的とした患者尿中及び血清からのレプトスピラ迅速検  
出法の開発  
第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

増澤俊幸, 縁川むつみ, 工藤芳子, 齋藤光正, Sharon Villanueva, 岡本能弘, 福井貴史, 柳原保武, 吉田真一

日本全国の土壌, 環境水からのレプトスピラ分離株の性状解析

第 52 回レプトスピラシンポジウム 2015 年 3 月 28 日岐阜

#### (4)知財出願

##### ① 国内出願 (1件)

1. 発明の名称:An antibody that binds to leptospiral antigen
2. 発明者: 吉田 真一、齋藤 光正、ウィディアンティ ディアン  
ビラスエバ シャロン、増澤 俊幸、福井 貴史、小泉 信夫
3. 出願人:国立大学法人九州大学、学校法人加計学園、国立感染症研究所長
4. 出願日:2013 年 5 月 24 日
5. 出願番号:特願 2013-110086

##### ② 海外出願 (1件)

1. 発明の名称:An antibody that binds to leptospiral antigen
2. 発明者: 吉田 真一、齋藤 光正、ウィディアンティ ディアン  
ビラスエバ シャロン、増澤 俊幸、福井 貴史、小泉 信夫
3. 出願人:国立大学法人九州大学、学校法人加計学園、国立感染症研究所長
4. 出願日:2014 年 3 月 5 日
5. 出願番号:PCT/JP2014/0563842013-110086
6. 出願国:未定

\*産業技術力強化法第 19 条(日本版バイ・ドール条項)により、所属機関帰属となった特許につきましても、別途、出願人の知的財産担当者より、委託研究契約内容に基づき JST に「知的財産権出願・譲渡通知書」等にて報告いただきますようご手配下さい。

#### (5)受賞・報道等

##### ①受賞

柳原保武博士が国際レプトスピラ学会より、研究発展に貢献した業績により顕彰された。  
(2013 年 10 月の福岡での ILS 2013 国際学会にて)

##### ②マスコミ(新聞・TV等)報道(プレス発表をした場合にはその概要もお書き下さい。)

NNA 社 2012 年 1 月 30 日付配信 「国内初のレプトスピラ研究所:UPマニラ校」

#### (6)成果展開事例

##### ①実用化に向けての展開

迅速診断キットに使われるモノクローナル抗体 1H6 は国内外に特許を出願した。現在大量生産が成功した。製品化が成功すれば免疫クロマト法を応用した迅速診断キット実用化の可能性は高まる。

##### ② 社会実装(研究成果の社会還元)への展開活動

グループD(啓発活動)はレプトスピラ感染症予防のためのポスターと団扇を作成し市民や医療関係者に配布した。

## §6 プロジェクト期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

### ① “ワークショップ、シンポジウム

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2012.10.15-19	1st Leptospirosis Laboratory Training for Western Pacific Countries	CPH-UPM	30(25)	ラオス、ベトナム、カンボジア、フィリピンからの研修生が5日間、実習、講義を含む研修を受けた。
2012.01.26	1st Scientific Symposium of LEPCON	CPH-UPM	104(93)	プロジェクトメンバーの研究成果に基づく11演題の発表と参加者との議論が行われた。
2012.11.05	2nd Scientific Symposium of LEPCON	CPH-UPM	47(31)	プロジェクトメンバーの研究成果に基づく12演題の発表と参加者との議論が行われた。
2014.12.2	3rd Scientific Symposium of LEPCON	CPH-UPM	53	プロジェクトメンバーの研究成果に基づく12演題の発表と参加者との議論が行われた。
2014.12.1-6	2nd Leptospirosis Laboratory Training for Western Pacific Countries	CPH-UPM	16(3)	ラオス、ベトナム、カンボジア、フィリピンからの研修生が6日間、実習、講義を含む研修を受けた。
2015.03.06	National Symposium on the Outcome of the Program for the Control and Prevention of Leptospirosis in the Philippines”	Diamond Hotel Manila	88(12)	プロジェクトメンバーの研究成果に基づく9演題の発表と参加者との議論が行われた。

### ② 合同調整委員会開催記録

(開催日、出席者、議題、協議概要等)

年月日	名称	場所 (開催国)	参加人数 (相手国からの 招聘者数)	概要
2010.7.5	KickOff Meeting	フィリピン大学 マニラ校公衆 衛生学部 (CPH-UPM)	16(8)	プロジェクト活動開始

2010.8.17	Advocacy Planning Meeting	CPH-UPM	5(3)	ワーキンググループ WG-D 活動計画策定
2010.8.23	Diagnostic Kits Meeting	CPH-UPM	5(2)	WG-A2 活動計画策定
2010.8.31	Environmental Factors Meeting	CPH-UPM	5(2)	WG-C 活動計画策定
2010.8.31	Microbiology Meeting	CPH-UPM	4(1)	WG-A1&A3 活動計画策定
2010.9.01	Burden of Disease Meeting	CPH-UPM	6(3)	WG-B 活動計画策定
2010.9.03	1 <sup>st</sup> Joint Coordinating Committee	CPH-UPM	25(18)	各WGの活動内容とその進捗状況の報告および Plan of Operation の更新とミニッツサイン取り交わし。
2010.10.6	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	14(11)	プロジェクト月例会議
2010.11.03	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	14(9)	プロジェクト月例会議
2010.12.09	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	12(8)	プロジェクト月例会議
2011.01.20	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	11(9)	プロジェクト月例会議
2011.02.17	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	21(12)	プロジェクト月例会議
2011.04.13	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	14(8)	プロジェクト月例会議
2011.05.27	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	16(11)	プロジェクト月例会議
2011.06.22	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	15(10)	プロジェクト月例会議
2011.08.05	LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	17(11)	プロジェクト月例会議
2011.10.17	#10 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	17(13)	プロジェクト月例会議
2011.12.07	#11 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	15(9)	プロジェクト月例会議
2012.01.26	Inauguration Ceremony of LEPCON Laboratory	CPH-UPM	47(33)	プロジェクトの設計施工及び機材供与により完成したレプトスピラ実験室の開所式
2012.01.26	2nd Joint Coordinating Committee	CPH-UPM	40(27)	日比各チームの活動進捗及び計画の報告、Plan of Operation の更新とMOU(覚書)へのサイン取交。
2012.03.05	#12 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	15(12)	プロジェクト月例会議

2012.04.18	#13 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	12(9)	プロジェクト月例会議
2012.06.27	#14 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	12(8)	プロジェクト月例会議
2012.07.03	#3 LEPCON Laboratory Management Meeting	CPH-UPM	9(6)	ラボラトリー管理会議
2012.08.10	#15 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	17(9)	プロジェクト月例会議
2012.09.20	#4 LEPCON Laboratory Management Meeting	CPH-UPM	12(10)	ラボラトリー管理会議
2012.10.10	#16 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	15(9)	プロジェクト月例会議
2012.11.08	3rd Joint Coordinating Committee	CPH-UPM	40(28)	中間レビューの報告、 日比各チームの活動進 捗及び計画の報告、 Minutes of Meeting への サイン取交。
2013.01.23	#17 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	12(8)	プロジェクト月例会議
2013.03.18	#18 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	12(8)	プロジェクト月例会議
2013.06.03	#19 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	17(10)	プロジェクト月例会議
2013.07.19	#20 LEPCON Regular Meeting	CPH-UPM	15(10)	プロジェクト月例会議
2013.10.09	#21 LEPCON Regular Meeting	Kyushu University	19(6)	日比各チームの活動 進捗及び計画の報告
2013.12.17	4 <sup>th</sup> Joint Coordinating Committee (JCC)	CPH-UPM	35(24)	日比各チームの活動 進捗及び計画の報告、 Minutes of Meeting へ のサイン取交。
2014.01.10	Laboratory Management Meeting	CPH-UPM	6(5)	ラボラトリー管理会議
2015.2.5	5 <sup>th</sup> Joint Coordinating Committee (JCC)	CPH-UPM	53(10)	日比各チームの活動 進捗及び計画の報告、 Minutes of Meeting へ のサイン取交。

## § 7 国際共同研究実施上の課題とそれを克服するための工夫、教訓など

### (1) 共同研究全体

我々のプログラムがうまく遂行されているのはいくつかの要因がある。まず、相手側の UPM/CPH

がフィリピン政府から予算を獲得し、自力で研究を遂行して結果を出していることである。このように相手側が予算を獲得しないと研究費が続かず、従って研究が続けられなくなる。次に JICA 調整員の努力により、定期的(1~2ヶ月に1回)に研究成果を報告しあう Lepcon meeting を開催することが定着しており、すでに18回開いている。その他に実験室の使い方に関するミーティング、動物舎を使うためのミーティングが開かれている。

各WGと日比間の活動に関するコミュニケーションを確実にするべく、月例運営会議(LEPCON Regular Meeting)を開催し、各WG毎(日本人研究者も含)の活動進捗と活動計画の情報が共有された。

研究施設整備と機材整備に関しては施工・設置後には CPH-UPM の運営管理が求められるため、保守管理の面の優位性から現地設計会社への委託や機材現地調達での整備を行った。

比国側のプロジェクト管轄機関である DOST-PCHRD への報告会において WG-A の検体収集実態状況が考慮され、対象地域の見直しを行った。全国ネットワーク全てを対象とすることに無理があるため、7つの Regions (NCR, I, III, IV-A, V, VI & VIII)を主要な対象地域とし、確実に2200検体を収集することを重視しつつ、必ずしも2011年8月を期限としないことで PCHRD の了解が得られた。2011年8月には2012年1月末までWG-Aの活動の延長が PCHRD に承認された。

フィリピン側予算配置の遅れから消耗品調達が一部遅れたため、これ以上の検体検査遅れを防ぐべく、CPH側からの要請に基づき在外事業強化費での負担を一部行った。

フィリピン側では日常的にMATで診断を実施している。同時にMCATのデータをとるよう依頼してあったが、十分意志の疎通ができておらず、進展しない時期があった。それも、現地の実施者を日本に招いて、討論する過程で問題が明らかになった。まず、現地研究者とのメール等により連絡を密にとり、進捗状況を正確に把握することの必要性が分かった。新しい実験を始めるときなど、ともすると日常の業務に流されて、新しいことに挑戦しない現地研究者をいかにコントロールして、新しい実験に立ち向かわせるか、それが奏功するかどうかでプロジェクトの進捗が大きく変わるの、考え方の変化が求められる。

## (2)グループ別

### 1)WG-A1 研究グループ/感染実態の把握

ヒトの感染実態に焦点をあて、疾病負担を明らかにするために、血清抗体検査という細菌学的サポートをおこなった。グループB. Burden of Disease との密な連携が必要である。

### 2)WG-A2 研究グループ/診断キットの開発と評価

MCAT を本格的に導入し、多くの疑診患者血清を用いて、広範に診断を展開するためには、是非とも製造を請け負う企業の参画が必要である。現在、九州の企業に診断キットの作成を依頼している。また、MCATの性能評価を正しく実施するために、日本とフィリピンの研究者間の連絡を密に行うことが重要である。この診断キット開発については、日本研究者が複数回フィリピンに出張した。

### 3)WG-A3 研究グループ/ワクチン開発と評価

ワクチン開発にもとなう実験動物の飼育に関しては、実験動物飼育施設が完成した。今後は十分に飼育方法を習得したラボスタッフによる管理運営が必要とされる。

死菌ワクチンの開発後の実施については関係行政機関との協議が必要となってくる。

### 4)WG-B 研究グループ/疫学と疾病負担

MATによる抗体検査では1,000以上の検体を扱うには時間がかかるため、ELISA検査を先行させた。検査試薬の調達(輸入)に時間がかかったが、2010年12月初めに到着し、ELISA検査は完了した(1,136検体)。

なお、WHOの協力で本調査研究に利用されたELISA法による検査結果が、MATによる検査結果で一部異なる反応を示していたため、本研究における抗体検査はELISAの判定データのみを

採用することとなった。

#### 5)WG-C 研究グループ/環境因子の解析

協力機関の保健省から当初得た 2003-2009 年患者情報中、住所の詳細がGIS情報としては不足していたが(バランガイ名までの記載)、保健省に情報開示の依頼をし、Street 名を含むデータを入手し、デジタルマップを作成した。

#### 6)WG-D 研究グループ/啓発活動

研究調査報告は 2011 年 8 月には報告書の提出がされる予定であったが、グループ B の研究報告と合冊して PCHRD へ提出するため、その提出は 2012 年 1 月となった。

## § 8 結び

### 1. 研究の目標から見た達成度

- 1) フィリピンにおける感染実態と、環境中の菌の分布明らかにすることができた。
- 2) 迅速診断キットは実験室レベルで作成する事ができた。
- 3) ワクチンは死菌ワクチンを作成しその有効性を確認した。
- 4) アウトブレイクの環境関連リスクファクターを確認することができた。
- 5) 実験室、動物感染実験室を設置し有効利用をしている。

### 2. 得られた成果の意義

- 1) レプトスピラ対策の必要性が明らかになり政策への提言も行えた。
- 2) 迅速診断キットの製品化へ一歩近づけた。
- 3) フィリピンの流行株に対するワクチン作成により、まず家畜やペットへのワクチン接種が可能となる。

### 3. 今後の研究の展開

- 1) 黄疸の病態形成機序が明らかと成ったので、同じ手法を用いて腎臓へ菌が移行する機序を明らかにする。
- 2) 迅速診断キットの大量生産を行う。
- 3) ワクチンの試験を行う。
- 4) Lepcon Laboratory の有効活用を持続させる。

### 4. 研究代表者としてのプロジェクト運営について

- 1) 柳原保武先生には、長期間マニラに滞在していただき若手研究者の研究指導をしていただきました。その貢献は大きい物があります。プロジェクトの目的に沿って研究していただいた共同研究者にも恵まれました。
- 2) 研究の実践を通して、Sharon Villanueva さんを初め、フィリピン側、日本側双方の若手研究者がプロジェクトに参加し、研究論文を作成できました。
- 3) Nina Gloriani 先生を初め優秀で協力的なフィリピン側研究者に恵まれました。

### 5. SATREPS に対する意見、要望など

最初はプロジェクトの仕組みが良く理解できず特に計画書や実施報告書の作成にとまどいましたが、あとになると仕組みも分かってきて、よく考えられて実施されていることが分かりました。研究費の額も適当であり研究費の心配をせずに研究に集中でき、教育や人材育成ができたことを感謝します。

下の写真は 2013 年 10 月 11 日 ILS 2013 を九州大学で開催したときの集合写真で、九大細菌学教室所属の研究者と千葉科学大学、フィリピン大学マニラ校、JICA, JST の関係者など SATREPS

プロジェクトに関わっている職員も一緒に写った。



以上

### § 9 PDM の変遷 (該当する場合)

(当初 PDM から終了までのすべての改訂 PDM および PDM 改訂経緯の解説)

該当せず

研究課題名	レプトスピラ症の予防対策と診断技術の開発
研究代表者名 (所属機関)	吉田真一 (九州大学 教授)
研究期間	H21採択 平成22年4月1日から平成27年3月31日まで (5年間)
相手国名	フィリピン共和国
主要相手国研究機関	フィリピン大学

### 付随的成果

日本政府、社会、産業への貢献	高潮に襲われた地域でもレプトスピラは土の中に生息していることがわかり、塩水をかぶったからレプトスピラ患者の発生は少ないと考えてはいけないことを明らかにした。
科学技術の発展	新しい選択剤の組合せを開発することにより環境中からのレプトスピラの分離培養が飛躍的に改善された。
知財の獲得、国際標準化の推進、生物資源へのアクセス等	迅速診断キットに使うモノクローナル抗体についての特許を出願した。
世界で活躍できる日本人人材の育成	今後のレプトスピラ研究を国際的にリードできる人材を育成した。 MD-PhDコースの学生は卒業後もレプトスピラの研究を続ける希望を持っている。
技術及び人的ネットワークの構築	フィリピン大学公衆衛生学部とは技術および人的ネットワークを構築することができた。
成果物(提言書、論文、プログラム、マニュアル、データなど)	国際誌への掲載論文合計17編、政策提言を含んだ報告書を1編、著書1冊、講習会のマニュアル1編を作成した。

### 上位目標

レプトスピラ感染症の地球規模での予防、コントロール

Phase 1を行うに値するワクチンおよび診断キットが大動物などを用いた試験により効果が確認される

### プロジェクト目標

前臨床試験を行うに値するワクチン候補および尿中抗原検出キットの開発

感染源を断つことに寄与する病原性因子の解明

多様な血清型に有効なDNAワクチンの開発

感受性と特異性の高い診断キットの開発

自然・獲得免疫からのエスケープ機序の解明

流行株を対象とした、成分ワクチンの開発

尿中抗原を検出する診断キットの開発

発症機序の解明

流行株を対象とした不活化ワクチンの開発

抗体を検出する診断キットの開発

侵入・定着の機序解明

遺伝子組み換え実験系の確立

血清学および細菌学的検査による流行型の同定

マニラ分離株の病原性の評価

病態解析と病原性因子

DNAワクチン

診断キット