

**地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)**  
**研究課題別中間評価報告書**

**1. 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 (2010年4月-2015年3月)

**2. 研究代表者**

2. 1. 日本側研究代表者: 吉田 真一 (九州大学・大学院医学研究院・教授)
2. 2. 相手側研究代表者: Nina G. Gloriani (フィリピン大学・公衆衛生学部・学部長)

**3. 研究概要**

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%が死亡していると推測されている。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。

本研究では、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目指し、フィリピンにおけるヒト、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と共に、感染に伴う疾病負担と経済的負担を分析する。また、ベッドサイドや外来で迅速かつ簡便に確定診断できる迅速診断キット、多様な血清型に対して有効な DNA ワクチン、流行株を対象とした不活化ワクチン及び成分ワクチンを開発する。さらに感染予防のための啓発活動を行う。

**4. 評価結果**

**総合評価 (A+) : 所期の計画をやや上回る取り組みが行われ、大きな成果が期待できる)**

プロジェクト全般において、国際共同研究は極めて順調に進展しており、期待通りの成果が得られている。

レプトスピラ感染実態調査においては、レプトスピラの選択培養に有効な選択剤の組み合わせが開発された。これにより、環境中の水・土壌から高率にレプトスピラの分離培養が可能となり、環境中の菌の分布状況を把握することが容易となった。新種の発見にもつながり、地域による分布状況、優勢菌の検出など、今後の研究を推進する上で非常に有益なものであると高く評価される。

診断キットの開発においては、レプトスピラ症の標準診断法である顕微鏡凝集試験 (MAT) に替わる、安価かつ簡便な抗体診断法として、マイクロカプセル凝集試験 (MCAT) を開発した。MAT との比較試験にて、MCAT がレプトスピラ症診断の一次スクリーニングに使用できる可能性が示され、室温 (約 20-28°C) 保存でも 6 ヶ月間性能を維持できることが明らかとなった。今後、フィリピンにおいても簡便に使用できる方法として汎用される可能性が高いと評価される。

また、感染初期の迅速診断法として、イムノクロマトシステムを利用した Dip-stick による尿中抗原

簡易診断法を開発した。同診断キットの使用により早期診断、早期治療が実現し、重症化予防に繋がるものと期待される。実用化に向けた試験研究を積極的に推進してもらいたい。

これらの進捗状況を鑑み、本プロジェクトの計画が着実に実施されていると高く評価する。

今後の課題として、研究成果の普及のための具体活動を期待するとともに、本プロジェクト終了後も見据えた社会実装に向けた具体的活動計画や今後の研究活動の持続体制の構築を早めに検討いただきたい。

本プロジェクト終了までにこれらの課題を検討し、引き続き本研究が進められることを期待する。

#### 4-1. 国際共同研究の進捗状況について

本プロジェクトの上位目標は、流行国の一つであるフィリピンにおいて、レプトスピラ感染を予防しコントロールすることを第一の目的とし、最終的には地球規模でのレプトスピラ感染症の予防とコントロールに資することである。

本プロジェクトは4つのワーキンググループ（WG）で構成されている。具体的には、グループ（A）微生物学的研究：サブグループ A1) 感染症実態の把握、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）啓発活動である。各グループとサブグループは、日本サイドのリーダーと副リーダーの下、フィリピン側の研究者と共同で課題に対応するチームが構成されている。日本側研究者及びフィリピン側研究者が相互に十分議論を深めながらプロジェクトが進行しており、全体として研究は当初の計画通り進捗し、一定の成果が上げられている。

##### 1) 感染実態の把握

レプトスピラ感染実態に関する疫学調査においては、レプトスピラ感染症患者または感染疑い患者の抗体検査、健常人の抗体保有率調査により、レプトスピラの血清型と陽性率が確認された。また、特にマニラ首都圏における動物の抗体保有率と主要なレプトスピラの血清型が確認され、野生ラットの駆除、家畜の感染防御等の対策の必要性、重要性及び家畜とペットに対するワクチン施行の必要性が明らかとなった。

さらに、マニラ首都圏でラットから分離された株の遺伝子学的性状とその抗生物質感受性を明らかにし、そのデータをもとに、環境からのレプトスピラの分離をするため、選択剤の新規組み合わせを開発した。環境中における病原体の分離法を確立したことは、高く評価される。

##### 2) 診断キットの開発と評価

診断キットの開発においては、レプトスピラ症の標準診断法である顕微鏡凝集試験（MAT）に替わる、

安価かつ簡便な抗体診断法として、マイクロカプセル凝集試験（MCAT）が開発され、MAT との比較試験にて、MCAT がレプトスピラ症診断の一次スクリーニングに使用できる可能性が示された。また感作マイクロカプセルは、4℃、室温（約 20-28℃）保存でも 6 ヶ月間性能を維持できることが明らかとなり、今後、フィリピンにおいても汎用される可能性が高い。

さらに、感染初期の迅速な診断法として、イムクロマトシステムを利用した尿中抗原簡易診断法を開発した。早期診断が実現できることで、早期治療に繋がることは非常に意義が高いと評価される。実用化に向けて、継続して改良、情報収集を進めていただきたい。

### 3) ワクチンの開発

無血清培地を使用し、不活化ワクチンを製造する作業が開始された。DNA ワクチングループでは、LipL41、OmpL1 と LipL32 遺伝子をカクテル DNA ワクチンとして血清型の違いを越えて有効なワクチンを開発すべく、ハムスターに接種し効果を見ているが、強い有効性を示す結果が安定して得られていない。不活化ワクチンを開発し、比較対照とすることで、成分ワクチン、DNA ワクチンの開発に繋げる等今後更なる研究推進が望まれる。

### 4) レプトスピラ症の疫学と疾病負担、啓発活動

マニラ地域の住民（約 1,000 名）を対象とした抗体検査と質問票によるデータを収集し、抗体保有率、障害調整生存率（DALYs）、経済的負担を算出した。DALYs は 25.76/100,000 人であり、デング熱（21.96）や日本脳炎（19.2）を上回る結果が出ている。しかしながら、比較した数値は、2002 年に換算されたものであり、レプトスピラ症以外の DALYs 値においても最新の数値を入手の上、再度比較検討することが望まれる。

### 5) 環境因子の解析

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実施された。今後、動物の病原性レプトスピラ保有率、環境中からの病原性レプトスピラの分布など調べることで、GIS を利用した患者発生との関連の有無を検討する必要がある。

## 4-2. 国際共同研究の実施体制について

本プロジェクト代表機関である九州大学と相手国側研究機関のフィリピン大学公衆衛生学部（CPH-UPM）は、長い期間に渡り研究協力を続けており、本プロジェクトはその強い協力関係の上に実施されている。両国研究代表者のリーダーシップのもとに、国際共同研究の実施体制は適切に構築され機能している。

長期駐在の日本人研究者を中心とし、研究代表者も年に 3-4 回と頻りに渡航、また他の研究参加者の多くにおいても積極的に渡航し相手国側と十分なコミュニケーションを構築の上、研究を推進している。

プロジェクト活動全般の運営管理を目的として、相手国側研究代表者を議長に、各ワーキンググループ代表者と日本側研究者、関連機関代表者が参加し定期的協議と打ち合わせの場である Lepcon Regular

Meeting を月例開催している。また、目的によってさまざまな運営会議を組織しフィリピン人研究者がプロジェクト活動に関わっており、プロジェクトに対する認識及びオーナーシップは非常に高く、プロジェクト活動の円滑な実施を支えている。

GPH-UPM 内に本プロジェクトにて、血清実験室、遺伝子実験室と動物実験室を竣工した。予定された研究機器の整備は概ね終了しており、研究進捗と共に有効に利用されている。供与された機材の多くは GPH-UPM のような研究機関にとっては必要不可欠なものであり、様々な研究に応用できることから、その選択は非常に適切であったと判断される。また実験室管理は極めて良好であり、ラボ運営管理のための定例会議が発足されるなどラボの課題や解決策を GPH-UPM で組織的に扱う体制が構築されている。

#### 4-3. 科学技術の発展と今後の研究について

フィリピンでは、レプトスピラ症が蔓延しているが、これまでその感染実態は明確に把握されておらず、迅速に診断する方法や有効な予防対策も存在しない状況にある。特にレプトスピラ症の臨床診断は難しいため、早期発見・早期治療が遅れて重篤な症状に陥るケースが多い。日本では輸入ペットのレプトスピラ感染が危惧されており、かつ検疫所におけるリスク分析で最も危険な病原体の一つと位置づけられているにも関わらず、その認識は極めて希薄であり対策も遅れている。それゆえ当該疾病の実態把握、予防対策に焦点を当てた本プロジェクトは社会のニーズに合致しており、研究・調査の遅れていた同疾病対策を進展させることは世界的にも意義が高い。本プロジェクトにて開発された尿中抗原診断法、抗体診断法の利用で早期診断が実現でき、早期治療に繋げることが可能となる。また重篤な病態を引き起こす病原性因子が解明されていない中、フィリピン国においてレプトスピラ症に関する基礎研究を実施している機関は GPH-UPM の他になく、同機関の能力強化を図ることはフィリピン国公衆衛生の改善に貢献するといえ、近隣諸国への波及も大いに期待できる。

レプトスピラには約 230 の血清型が存在し、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、現在レプトスピラ症ワクチン候補として想定されている。しかし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）の開発が望まれており、本プロジェクトにおいて 3 種の混合 DNA ワクチン開発を進めているところである。同時にフィリピン政府より外部資金を獲得し、同定したフィリピン流行株に対する不活化ワクチン開発に取り組んでいる。ワクチン開発技術をフィリピン側に移転することは重要であり、本開発を土台に比較対照研究として、成分ワクチン開発、DNA ワクチン開発に繋げるという意味においても意義がある。

本プロジェクトにおいては日本側研究機関の修士・博士課程の学生も多く参画し、国際的に活躍できる人材も育成されている。また日本側研究者として、GPH-UPM 卒業後、九州大学にて修士・博士課程を取得したフィリピン人研究者が研究参画している。フィリピン側と日本側の橋渡し役として大きな役割を担っており、今後の活躍も大いに期待できる。

#### 4-4. 持続的研究活動等への貢献の見込み

フィリピンにおいては、保健省に属する熱帯医学研究所（RITM）がレプトスピラ症を含む全ての感染症のリファレンス・ラボと位置づけられているが、レプトスピラ症に関しては CPH-UPM のほうが RITM よりも高い能力を有していることを保健省が認めている。本プロジェクトにより実験室が整備されたことにより、公共サービスを提供できるようになった。フィリピン側研究代表者の強いリーダーシップの下、自主的に運営できる実施体制を構築する努力が大いに認められる。

また、本プロジェクトにて整備した実験室を使用し、WHO（WPRO）による 5 日間の「レプトスピラ症ラボ・トレーニングコース」を、本プロジェクト日本側研究者を中心にフィリピン側の研究者とともに運営し、周辺 3 カ国（カンボジア、ラオス及びベトナム）も含め計 15 名が参加した。レプトスピラ症のコントロールに向けその成果を他国へ普及することは非常に意義が深い。フィリピン側研究機関は強いパートナーシップを発揮し、プロジェクトの管理だけではなく、知識や未経験の技術習得に意欲をもった研究者による研究活動への熱心なコミットメントが示されている。

本レプトスピラ症に係る研究はフィリピンの保健政策において重要課題とされており、研究の成果がフィリピンにおけるレプトスピラ症予防対策の推進に直結すると期待される。一方で、本プロジェクトにおける成果を十分に普及させるためにも、フィリピン保健省や保健セクター等の他機関との連携の強化が望まれる。

#### 5. 今後の研究の課題

1) 尿中抗原検出キット、抗体測定キットの開発は、早期診断、早期治療が実現し、重症化予防に繋がるものと期待される。実用化に向けた試験研究を積極的に推進してもらいたい。

2) ワクチン開発について、DNA ワクチン、成分ワクチン開発を視野に入れることは非常に重要である。一方で、フィリピンでは未だ不活化ワクチンも製品化されていない状況を鑑み、まずは不活化ワクチンを確実に開発し、それを比較対照として成分ワクチン、DNA ワクチンと開発を進めることを強く推奨する。ワクチン作成技術をフィリピン側研究者へ移転するという意味でも大いに意義がある。

3) 本プロジェクトにて推進している各研究項目（診断キットの開発、ワクチンの開発、レプトスピラ症の疫学と疾病負担、環境因子の解析、啓発活動）において、研究成果をどのように社会実装するのか、検討し推進を図っていただきたい。保健省との連携の強化等、今後、プロジェクトの成果を活用し普及に繋がるよう取り組んでいただきたい。

以上

付随的成果			
レビュー付雑誌への掲載	広域DNAワクチンの開発	疾病負荷	新規診断法
	病態解析と病原性因子	野生ラットの感染率と分離菌株の種・血清型・病原性	分離菌株の抗菌剤感受性
特許出願	新規診断法の特許出願	広域DNAワクチン開発の特許出願	
人材育成	参画学生名でのレビュー付雑誌への論文掲載	特任准教授名でのレビュー付雑誌への論文掲載	PD名でのレビュー付雑誌への論文掲載
生物資源へのアクセスの確立	臨床分離株持ち帰りによる日本でのストック確保	対象疾病罹患患者の臨床サンプルへのアクセス	



図1 成果目標シートと達成状況 (2012年12月時点)