

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2023

課題番号：17K16227

研究課題名（和文）フィリピン マニラにおけるレプトスピラ症の病態解明と包括的マネジメント法の確立

研究課題名（英文）Elucidation of the pathology and establishment of comprehensive management;
Leptospirosis in Manila, Philippines

研究代表者

北庄司 絵美（Kitashoji, Emi）

長崎大学・熱帯医学研究所・客員研究員

研究者番号：30772561

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：レプトスピラ症は、*Leptospira* spp.による人畜共通感染症であり、軽症から重症例まで多様な臨床像を呈する。明確な診断法や治療法が確立されておらず、重症例では死亡率が高い疾患である。本研究では、フィリピン マニラに位置する国立感染症病院である、サンラザロ病院に入院となった、レプトスピラ疑い患者について前向き入院コホート研究を行い、重症レプトスピラ症の臨床・検査データを収集し、レプトスピラ症の予後予測法および治療法の開発に取り組んだ。また研究代表者が有用性を確立したLigA-IgM ELISA法およびLAMP法を含むレプトスピラ症の診断検査技術を現地に定着させ、診断機能を強化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では前向きコホート研究を行い、確定診断となったレプトスピラ症患者の臨床・検査データを収集することで質の高いデータセットを作成し、レプトスピラ症の重症化要因の特定を行った。血清型によるレプトスピラ患者の臨床特性の違いを明らかにすることで、今後臨床特性に応じた、効果が期待される治療法を選択することができる。予後改善効果と費用対策効果が期待でき、これらに基づいて蔓延地域における、重症レプトスピラ症患者の予後改善に貢献することを目指す。

研究成果の概要（英文）：Leptospirosis is a zoonotic disease caused by *Leptospira* spp., and exhibits various clinical manifestations ranging from mild to severe. Clear diagnosis and treatment has not been established, and severe cases have a high mortality rate. In this study, we conducted a prospective inpatient cohort study of suspected leptospirosis patients admitted to San Lazaro Hospital, a national infectious disease hospital located in Manila, the Philippines. We collected clinical and laboratory data from severe leptospirosis patients and worked on the development of prognosis prediction methods and treatment methods. We also established new diagnostic testing techniques in San Lazaro Hospital; LigA-IgM ELISA method and the LAMP method, and strengthen diagnostic capabilities.

研究分野：臨床感染症学

キーワード：レプトスピラ

1. 研究開始当初の背景

レプトスピラ症は、*Leptospira spp.*による人畜共通感染症である。ネズミなどの保菌動物の尿に汚染された水や土壌に接触することで、経皮的・経口的に感染する。発症した場合には、上気道炎症状などで軽症に終わるものから、黄疸、出血傾向、腎不全を呈するワイル病、重症呼吸不全をきたす重症肺出血症候群まで、多様な臨床像を呈する。治療法としては、抗菌療法(ペニシリン G、セフトリアキソン、など)が用いられるが、その予後改善効果は十分に確立されていない。なかでも、ワイル病、重症肺出血症候群をきたした重症例では、抗菌療法を行っても、死亡率は 20% 以上と極めて高く、東南アジア、南アジア、南米を中心に、毎年、数万人が重症レプトスピラ症で死亡していると推定される。[1,2]

フィリピンにおいても、雨季の洪水後のアウトブレイクが近年問題になってきている。フィリピン・マニラの国立サンラザロ病院では、貧困層の感染症患者を無償で診療しており、毎年 300 例以上のレプトスピラ症患者の入院加療を行っている。研究代表者は、2009 年以来同院と連携し、臨床感染症学の教育と共同研究を行ってきた。2009 年に行ったアウトブレイクサーベイランス研究によると、レプトスピラ症入院症例の死亡率は 11% と高いにもかかわらず、高額な医療費を理由に、重症例に対して人工呼吸管理や人工透析が実施されていない[3]。これは、貧困層の重症レプトスピラ症患者が必要としているのは、高額な集中治療の整備ではなく、安価で確実に予後を改善しうる治療法であることを意味している。

また、レプトスピラ症のゴールドスタンダードとされる診断法は、培養および顕微鏡下凝集試験 (MAT) であるが、いずれも診断までに時間がかかり、また特別な設備を要することから、資源が限られた場所では検査によって確定診断をすることが難しく、臨床診断に頼らざるを得ないところも問題である。そこで迅速かつ簡便に診断できる検査法の確立を目的として、研究代表者は、国立感染症研究所の小泉信夫博士と共同で、新規開発したレプトスピラ LigA 蛋白を抗原とする抗体検出法 (LigA-IgM ELISA) および LAMP 法の診断有用性を検討した[4]。その結果、発症初期では血漿 LAMP 法が最も感度が高く、発症から経過するにつれ LigA-IgM ELISA 法の感度が最大になることが明らかとなった。[4]。両者を組み合わせることで、途上国の医療現場において、速やかにレプトスピラ症を診断し、早期の治療介入に結び付けることが期待できる。

2. 研究の目的

(1) 研究期間内に何をどこまで明らかにするか

フィリピン・マニラ市内のスラム地域の医療施設であるサンラザロ病院にて、レプトスピラ症患者の前向きサーベイランスと入院コホート研究を行う。本研究では、研究代表者が有用性を確立した LigA-IgM ELISA 法および LAMP 法を含むレプトスピラ症の診断検査技術を現地に定着させ、診断機能を強化する。これにより、重症レプトスピラ症の精度の高い臨床及び検査データと臨床検体を、系統的に収集することが可能となる。それらのデータを用いてレプトスピラ症の予後予測法および治療法の開発・検証に取り組む。治療はフィリピン医師会が 2010 年に出した指針に基づいて、現地医師の判断で行う。これにより、ワイル病や肺出血症候群の重症化要因の特定、低所得国の医療機関でも実施可能な治療法、とくに急速輸液療法、早期酸素療法、ステロイド療法、腹膜透析法による重症例の予後改善効果と費用対効果の検証を行う。これらの結果に基づいて、蔓延国で実現可能な、レプトスピラ症の包括的臨床マネジメント法を確立する。

(2) 本研究の特色と意義

本研究では、レプトスピラ症蔓延地域の検査診断機能を整備し、精度の高い臨床疫学データと臨床検体を体系的に収集する。これにより、従来のレプトスピラ症研究では困難であった、重症化要因の特

定と、治療法の臨床的有用性の詳細な検討を可能にする。世界的にみても、レプトスピラ症の正確な臨床情報と診断検査結果の双方がそろったデータは極めて貴重であり、将来的に診断法・病態解明等多方面の国際共同研究へ発展することが期待される。また、レプトスピラ症は貧困地域に蔓延しており、現地で利用可能な医療資源は限られている。本研究では、低所得国で利用可能な医療行為について網羅的に費用対効果分析を行い、重症レプトスピラ症に対する、低コストで効率的な、包括的臨床マネジメント法を確立することを目指す。したがって、本研究によって得られる成果は、蔓延国の重症レプトスピラ症患者の予後改善に、直接的に貢献することが期待される。

3. 研究の方法

【研究施設】フィリピン国立サンラザロ病院

【研究デザイン】 病院ベース前向きサーベイランス、 入院コホート研究

【研究期間】2018 年 1 月～2023 年 12 月

【対象患者】臨床的にレプトスピラ症が疑われるすべての入院患者

【収集するデータ・臨床検体】標準調査票を用いて、患者背景、洪水や動物への暴露歴、社会因子、臨床情報を収集した。入院時に血液検体および尿検体を収集し、退院時にペア血清を採取する。対照として、フィリピン国立血液バンクから匿名で提供された献血検体の一部(100 検体)の提供を受ける。また、病院診療記録から、レプトスピラ診療に要する医療費に関する情報を収集する。

【微生物学的分析】収集した臨床検体は、病院内の検査室で培養(血液)、LigA-IgM/IgG ELISA 法(血液)および LAMP 法(尿、血液)を使って分析を行う。残りの検体は、病院内に設置されたディーブ・フリーザーに凍結保存する。これらの検体は定期的に国立感染症研究所に搬送し、MAT、PCR、分離株の遺伝子解析および系統解析などの詳細な分析を行う。

【データの管理】すべての情報は、匿名化された上で、プログラムされたデータベースに入力し、同院内の公衆衛生部門内にあるコンピューターに保存する。

【データ解析】現時点でレプトスピラ症を微生物学的に確定できるゴールド・スタンダードの診断方法はない。そこで本研究では、新規の診断法の感度および特異度を算出するために、ベイズ統計学を用いた解析を行う。重症化を規定する因子については、入院前の因子と入院後の因子が複雑に絡み合うため、特殊な統計学的処理を必要とする。因果ダイアグラムを用いた交絡因子の特定を行い、ポアソン回帰モデルを用いた多変量解析を行う。治療因子については、propensity score matching によって背景因子をマッチさせ、コックス比例ハザード回帰分析を行う。費用対効果分析には決定木モデルを用いる。

【推定サンプルサイズ】レプトスピラ症例:600 例、対照症例:100 例

4. 研究成果

研究準備として、病院内の検査室において、研究代表者がサンラザロ病院のレプトスピラ診断法として、培養(血液)、LigA-IgM/IgG ELISA 法(血液)および LAMP 法(尿、血液)の検査法の導入、技術移転を行った。本サイトは、長崎大学と臨床感染症学の研修制度により、研究グループに所属する大学院生が長期にわたって滞在しているため、検査室のリサーチナースや現地スタッフとも協力をを行い、2018 年度から患者のリクルートを開始した。しかしながら、2019 年3月からは、サンラザロ病院が新型コロナ感染症拠点病院となったため、2022 年度までは患者リクルートを行うことができず、また以降のレプトスピラ症患者入院数も大幅に減少した。当初の目標症例数として600例を想定していたが、半分しかリクルートすることができていない状況である。途中経過で解析を行ったが、有意な結果を得ることができなかった。対象患者数が依然少ないため、今後もサーベイランスで検体収集を継続する予定である。レプトスピラ症と確定診断となった患者において、血清型における臨床像の違いを解析中であり、対象患者目標数

に達した時点で再度解析を行い、研究成果については今後発表する予定である。

目的1である、ウイルス病や肺胞出血症候群の重症化要因の特定に関しては、研究代表者は 2017 年に Lee らと予後予測因子モデルを開発し、論文発表を行った[5]。また日本におけるレプトスピラ症患者の現状について、Kakita らと共同研究を行い、論文発表を行った[6]。

【文献】

1. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003 Dec;3(12):757-71.
2. World Health Organization, International Leptospirosis Society. Human leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control. [Geneva]: World Health Organization; 2003.
3. Amilasan AS, Ujiie M, Suzuki M, et al. Outbreak of leptospirosis after flood, the Philippines, 2009. *Emerg Infect Dis.* 2012 Jan;18(1):91-4.
4. Kitashoji E, Koizumi N, Lacuesta TLV, et al. Diagnostic Accuracy of Recombinant Immunoglobulin-like Protein A-Based IgM ELISA for the Early Diagnosis of Leptospirosis in Philippines. *PLOS neglected tropical diseases* 2015 Jun 25;9(6)
5. Lee N, Kitashoji E et al. Building prognostic models for adverse outcomes in a prospective cohort of hospitalised patients with acute leptospirosis infection in the Philippines. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2017, 111, 531-539
6. Kakita T, Okano S, Miyahira H, Taira K, Kitashoji E, Koizumi N, Laboratory diagnostic, epidemiological, and clinical characteristics of human leptospirosis in Okinawa Prefecture, Japan, 2003-2020, *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2021, 14;15(12)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tetsuya Kakita, Sho Okano, Hisako Kyan Masato Miyahira, Katsuya Taira, Emi Kitashoji, Nobuo Koizumi	4. 巻 14;15(12)
2. 論文標題 Laboratory diagnostic, epidemiological, and clinical characteristics of human leptospirosis in Okinawa Prefecture, Japan, 2003-2020	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS Neglected Tropical Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pntd.0009993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Nathaniel Lee, Emi Kitashoji, Nobuo Koizumi, Talitha Lea V Lacuesta, Maricel R Ribo, Efren M Dimaano, Nobuo Saito, Motoi Suzuki, Koya Ariyoshi, Christopher M Parry	4. 巻 111
2. 論文標題 Building prognostic models for adverse outcomes in a prospective cohort of hospitalised patients with acute leptospirosis infection in the Philippines	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene	6. 最初と最後の頁 531-539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/trstmh/try015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------