

話題の感染症

レプトスピラ症の最新の知見

Current knowledge of *Leptospira* and leptospirosis

こ い ず み の ぶ お わ た な べ は る お
 小 泉 信 夫¹⁾: 渡 辺 治 雄²⁾
 Nobuo KOIZUMI Haruo WATANABE

要 旨

レプトスピラ症は、病原性レプトスピラによって引き起こされる人獣共通感染症である。病原性レプトスピラは、げっ歯類を中心とした多くの哺乳動物の腎臓に定着し、尿中へと排出される。ヒトは、この尿との直接的な接触あるいは尿に汚染された水や土壌との接触により感染する。

レプトスピラ症の患者数は、近年著しく減少したが、現在でも散発的な発生は全国的に起きており、特に沖縄県では散発、集発事例が他の地域に比べて多く報告されている。レプトスピラへの感染は、保菌動物の尿との接触の機会が多い場所、すなわち農作業や下水道での作業などを介して起こり、沖縄県では他に河川でのレジャーや労働により集団発生が起きている。またレプトスピラ症は、全世界的に発生のみられる感染症であり、特に東南アジアや中南米などの亜熱帯、熱帯地域では多くの患者発生が報告されている。また最近では東南アジアからの輸入感染例も報告されている。

I. 病原体

レプトスピラ属細菌 (*Leptospira*) は、スピロヘータ目レプトスピラ科レプトスピラ属に属するグラム陰性細菌で (写真1)、病原性レプトスピラ *L. interrogans sensu lato* と非病原性レプトスピラ *L. biflexa sensu lato* に大別される¹⁾。レプトスピラは、現在、種名のついた13種とまだ分類が確定していない4つの遺伝種 (genomospecies) からなり²⁻⁴⁾、さら

に免疫学的性状により250以上の血清型に分類されている (表1)¹⁾。

レプトスピラは、通常長さ6~20 μ m、直径0.1 μ mのらせん状の細菌で、両端あるいはその一端がフック状に曲がっているのが他のスピロヘータにはない特徴となっている。レプトスピラ細胞は、細胞質膜、細胞壁、それらを被う外膜からなり、両端から1本ずつ中心に向かって走る鞭毛をペリプラズム空間にもっている¹⁾。

レプトスピラは、炭素数15以上の長鎖脂肪酸をエネルギー源かつ炭素源として利用し、そのほかビタミンB1, B12を必須栄養素とする。そのためレプトスピラの培養にはコルトフ培地やEMJH培地など特別な培地が用いられる。しかしながら、ビタミン

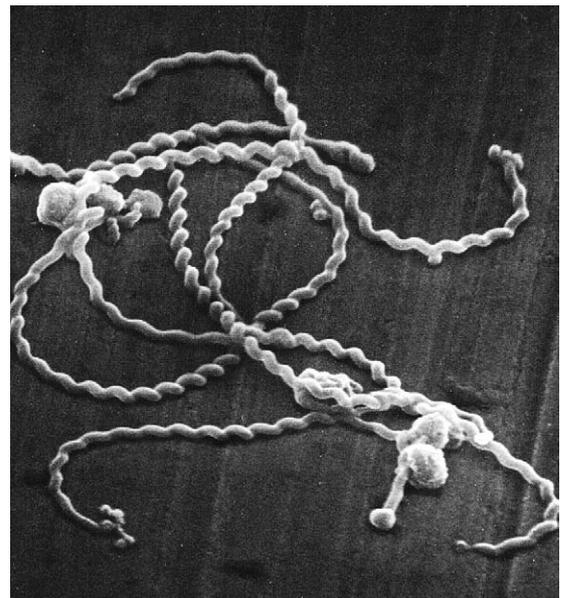


写真1 *Leptospira interrogans* の電子顕微鏡写真 (国立感染症研究所, 細菌第一部)

1) 国立感染症研究所 細菌第一部
 2) 国立感染症研究所 副所長
 ☎162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

1) Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases
 2) Deputy of Director General, National Institute of Infectious Diseases
 (1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo)

表1 レプトスピラの種と国内にみられる血清型

種名	病原性	日本でみられる血清型
<i>L. alexanderi</i>	+	
<i>L. biflexa</i>	-	
<i>L. borgpetersenii</i>	+	Castellonis, Javanica, Poi, ^{a)}
<i>L. broomii</i>	+	
<i>L. fainei</i>	±	
<i>L. inadai</i>	±	
<i>L. interrogans</i>	+	Australis, Autumnalis, Bataviae, Canicola, Copenhageni, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Kremastos, (Pomona), Pyrogenes, Rachmati, ^{a)} Grippityphosa
<i>L. kirschneri</i>	+	
<i>L. meyeri</i>	-	
<i>L. noguchii</i>	+	
<i>L. santarosai</i>	+	
<i>L. weilii</i>	+	
<i>L. wolbachii</i>	-	

a) これら以外にも未同定の血清型が存在する。

ンB12を含まない培地でもレプトスピラは生育できるとの報告もある⁵⁾。またレプトスピラは、微好気もしくは好気的な環境で生育するスピロヘータで、中性あるいは弱アルカリ性の淡水中、湿った土壌中で長期間生存することができる¹⁾。

Ⅱ. 疫学

1. レプトスピラ症の現状

2003年11月の感染症法改正以前には、レプトスピラ症は届け出対象疾病となっていなかったため、患者発生状況は正確には把握されていないが、人口動態統計によると、1970年代前半までは毎年50～250名の死亡者が報告されていた。しかしながらその後は、農作業の機械化や水田の乾田化、流行地でのワクチン接種、衛生環境の向上により死亡者数は著しく減少した。しかしながら、現在でも散発的な発生は全国的に起きており、特に沖縄県では他の地域に比べて多くの患者が報告されている(図1)。また沖縄県では、河川でのレジャーや労働を介して集団発生も報告されている^{6,7)}。最近では国内例だけではなく、東南アジアからの輸入感染事例も報告されている(表2)。

日本国内での患者数が減少する一方で、レプトスピラ症は全世界的に発生の見られる感染症であり、特にアジア(インドや中国)や東南アジア、中南米などの熱帯地域で多くの患者が発生している。これ

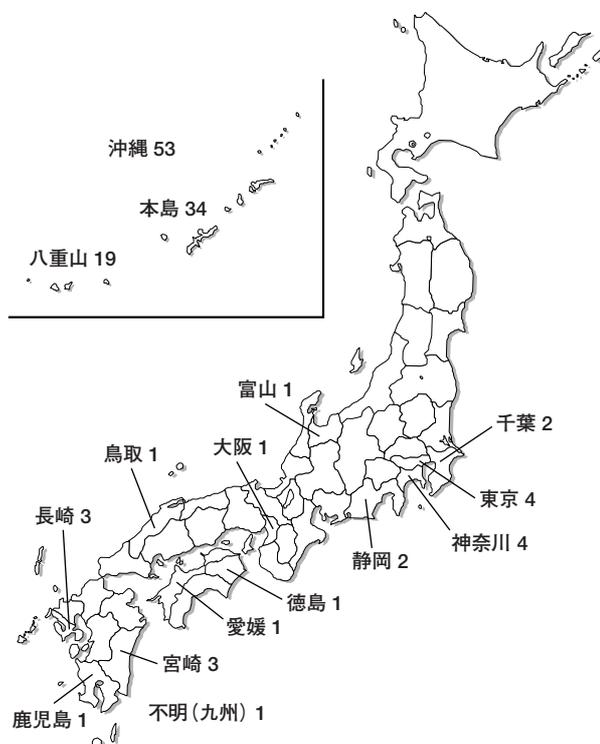


図1 国内のレプトスピラ症患者発生地(1999～2005)

1999～2003年10月までは感染研細菌第一部で把握している事例。それ以降は感染症法の4類に指定され、全数届出疾患となった。
一部情報提供；千葉科学大学 増澤俊幸先生，沖縄県衛生環境研究所 中村正治先生

らの地域では、大雨とそれに続く洪水の後に、大規模なレプトスピラ症の発生が起きている²⁾。

2. 保菌動物と感染原因

病原性レプトスピラは、ほとんどのすべての哺乳

表2 レプトスピラ症の輸入感染例

年	推定感染地	推定感染原因	推定感染血清群 ^{a)}
1995	タイ	河川での水泳	Pomona
2000	マレーシア (ボルネオ島)	河川での水泳	Hebdomadis
2001	マレーシア (ボルネオ島)	河川での水泳	Hebdomadis
2002	マレーシア	河川での水泳	Bataviae
2004	インドネシア (バリ島)	不明	Sejroe
2005	マレーシア (ボルネオ島)	ジャングルでのトレッキング	未同定
2006	マレーシア (ボルネオ島)	河川でのラフティング	Poi

a) 2005の症例は菌分離。それ以外は血清診断の結果に基づく推定

表3 これまでにレプトスピラが検出された動物とその血清型^{a, b)}

動物	血清型	動物	血清型
ドブネズミ ^{c)}	Copenhageni	ハタネズミ	Copenhageni
	Grippotyphosa		Hebdomadis
	Icterohaemorrhagiae		Icterohaemorrhagiae
	Javanica		Javanica
	Pyrogenes		Pyrogenes
クマネズミ	Copenhageni	ウシ	Hebdomadis
	Icterohaemorrhagiae		Rachmati
	Javanica		Australis
	Pyrogenes		Autumnalis
アカネズミ	Autumnalis	イヌ	Hebdomadis
	Canicola		Kremastosis
	Castellonis		Australis
ハツカネズミ (含オキナワ, ヨナグニハツカネズミ)	Hebdomadis	ネコ	Canicola
	Javanica		Icterohaemorrhagiae
	Pyrogenes		Copenhageni
	Canicola		Canicola
エゾヤチネズミ	Poi	アライグマ	Javanica
			Hebdomadis
			Icterohaemorrhagiae

a) 文献8, 9, 10, 34)

b) これら以外の動物でもレプトスピラが検出されている (ブタ; 分離・未同定, イノシシ・シカ; DNA検出)

c) これらの血清型以外にも, 未同定の血清型レプトスピラが分離されている

動物に感染することができると考えられており、感染後多くの動物がレプトスピラを腎臓に保菌し、尿中に排出する保菌動物となる¹⁾。環境中での自然宿主はげっ歯類 (ネズミ類) などの野生動物である。表3にこれまで国内でレプトスピラが検出された動物をあげる。ヒトは、この保菌動物の尿で汚染された水や土壌との接触、あるいは尿との直接的な接触により、経皮的または経口的に感染する。したがって、レプトスピラ症の感染原因としては、保菌動物の尿で汚染された環境での労働、農作業や下水での作業、動物の尿や血液に直接接触する可能性のある屠殺場施設および食肉処理場での作業、家畜の飼育などがあげられる。昨年、動物の輸入業者の従業員が、アメリカから輸入したアメリカモモンガからレプト

スピラに感染し発症した¹¹⁾。さらにこの業者が扱っていたその他の輸入動物もレプトスピラを保菌していたことも明らかとなった。

一方、沖縄県での集団発生や東南アジアからの輸入感染例では、現地の河川での水泳などのレジャーあるいは労働が感染原因となっている。また河川や湖でのトライアスロンなどのウォータースポーツによる大規模な集団発生も海外で報告されている^{12, 13)}。海外では洪水の後にレプトスピラ症の大発生が起きているが、国内でも昨年宮崎県で台風とそれに伴う洪水の後にレプトスピラ症患者が発生した。国内においても台風、洪水後のレプトスピラ症の発生に注意する必要がある。

Ⅲ. 臨床症状

1. ヒト^{2, 14)}

レプトスピラ症は急性熱性疾患で、感冒様の軽症型から、黄疸、出血、腎不全を伴う重症型までその臨床症状は多彩である(表4)。通常5～14日の潜伏期の後に、38～40℃の発熱、悪寒、頭痛、筋痛、結膜充血などの初期症状をもって発病する。その後、重症型のワイル病の場合では、5～8病日目に黄疸、出血などが現れはじめ、第2病週にその症状が強まる。レプトスピラ症の臨床診断は、特異的な臨床症状のない軽症型では非常に難しい。診断にあたっては、初期症状とともに、レプトスピラの保菌の可能性のある動物や病原体に汚染された可能性のある水や土壌との接触機会の有無や、流行地への旅行などの疫学的背景といった知見も重要である。

2. 動物^{1, 15)}

ウシの急性感染では、発熱、溶血性貧血、血色素尿症、黄疸などの症状が現れる。妊娠しているウシが感染した場合には流産や死産、また乳牛の場合に

表4 レプトスピラ症の臨床症状

症状・徴候	重症型 (ワイル病)	軽症型 (犬型レプトスピラ症)
発熱	100%	100%
全身倦怠	100	100
蛋白尿	95.0	
食欲不振	95.0	90.5
頭痛	94.2	97.6
黄疸	93.7	2.4
筋痛	92.5	90.5
出血	71.7	7.1
腱反射消失	71.7	26.2
悪心	70.0	21.4
便秘	67.0	61.9
結膜充血	61.6	
嘔吐	60.8	11.9
腹痛	47.9	0
肝腫脹	47.1	33.3
鼓腸	35.0	
意識障害	30.0	
リンパ節腫脹	25.0	33.3
咳嗽	21.3	28.6
しゃっくり	14.5	
下痢	11.2	2.4
痙攣	5.8	

データ提供：小林讓愛媛大学名誉教授

は乳量低下や無乳がみられることがある。血清型 Hardjo の慢性感染の場合は多くが無症状であるが、不妊や生殖障害が起こることがある。

ブタでも妊娠中に感染が起こった場合には流産や死産が起こることがある。またブタの場合、尿中へのレプトスピラの排菌量が多く、その期間も1年ほど続くことがある。

イヌのレプトスピラ症は血清型 Canicola による Stuttgart disease と呼ばれる嘔吐、脱水、虚脱などがみられ、死亡率も高い急性型、腎炎症状を主とした亜急性型および、血清型 Icterohaemorrhagiae による発症後数時間から2、3日で高い致死率が認められる超急性型がある。また回復後も慢性の腎不全が残ることが多く、その場合には長期間レプトスピラを尿中に排菌する。

そのほか、ウマでは感染後に月盲と呼ばれる間欠性眼炎や虹彩毛様体炎の合併症を起こしたり、ヒツジやヤギなどでも感染例の報告がある。

Ⅳ. 検査法

レプトスピラ症の確定診断は、病原体の分離あるいはペア血清を用いた顕微鏡下凝集試験(MAT)によって行われる。なお、レプトスピラ症の検査は、国立感染症研究所、細菌第一部で受け付けている。

a. 顕微鏡法²⁾

感染初期には、暗視野顕微鏡(倍率100倍)によって血液や尿から直接レプトスピラが観察される場合があり、早期診断に有用である。しかしながら、感度が低く、またひも状になったフィブリンや他のタンパク質をレプトスピラと見誤ることがある。そのため、顕微鏡法はその結果にかかわらず、菌の分離、血清診断法によって追試する必要がある。

b. 培養法^{2, 16)}

病原体の分離には、抗菌薬投与以前の発熱期の血液、髄液あるいは尿が用いられる。血液からの分離は、血液1、2滴を5mLのコルトフ培地あるいはEMJH培地に接種する。しかしながら、レプトスピラ分離培地は病院に常備されていないことが多く、その場合は、ヘパリンを用いて採血し常温で検査機関に送付する。髄液の場合は、0.5mLを5mLの培

地に接種する。尿からの分離の場合は、発熱期と第2病週のもののが検体となる。尿1滴を5mLの培地に接種する。あるいは検体採取後速やかに弱アルカリ性 (pH7.0-7.4) とするか、遠心分離 (1,600×g、30分あるいは10,000×g、1分) により菌を沈澱し、培地に接種する。培地にすぐに接種できない場合は、遠心分離後の沈渣をPBSに懸濁し、常温で送付する。尿培養の場合、他の細菌の混入を避けるために100μg/mLの5-フルオロウラシルを加える場合もある。培養は30℃で3カ月間行い、暗視野顕微鏡で観察を行う。

c. 血清診断法

1) 顕微鏡下凝集試験 (Microscopic Agglutination Test : MAT)¹⁶⁾

確定診断のためには、ペア血清 (発症直後と、発症後10日から2週間程度の血清) を用いたMATが必要である。MATは、血清とレプトスピラ生菌を混合し、菌の凝集を暗視野顕微鏡下で観察を行う。MATは特異性が高く、血清型あるいは血清群特異的な抗体を検出する方法である。

2) その他の血清診断法^{2, 16)}

確定診断にはMATによる試験が必要であるが、生菌が必要なこと、特異性が高いために試験に用いた血清型 (血清群) 以外に対する抗体は検出できない可能性があること、またペア血清を用いるために結果が出るまでの時間がかかることから、それを補うためのレプトスピラ属特異的抗体検出および早期診断のためのIgM抗体を検出する血清診断法が開発されている。IgM-ELISAやDipsticksなどのキットがある。

d. PCR

抗菌薬投与以前の発熱期の血液、髄液あるいは尿 (尿の場合は第2病週のもの) から、PCRによりレプトスピラDNAの検出を行う^{17, 2)}。

V. 治療

国内では小林らの研究により、ストレプトマイシンがレプトスピラに対して殺菌作用が強く、特に早期使用によって著効を示すとされている¹⁴⁾。一方海外では、重度の症状の場合はペニシリンによる治療

が、軽、中度の場合にはドキシサイクリンの服用が勧められている^{13, 18)}。また重症患者にみられる脱水、血圧低下、腎不全などに対しては、適切な対症療法を行う。

VI. 予 防

環境からのレプトスピラの感染経路を遮断するために、保菌動物となり得るネズミ、野犬などのコントロールや衛生環境の改善を行う。また動物の飼育環境にも注意し、ネズミの尿による餌や水の汚染を防ぐ。

レプトスピラは熱 (50℃ 10分で死滅。ただし血液中では30分)、乾燥、酸 (pH6.8以下) に弱く、次亜塩素酸ナトリウム溶液、ヨード剤、逆性石鹼などで消毒できる。

職業上、レプトスピラに感染している可能性のある動物と接触する場合は、尿や血液のエアロゾル、スプラッシュに直接触れないことが重要である。そのためにも、作業中の防護ゴーグル、ゴム手袋、ディスパーザブル服の着用、作業中の喫煙、飲食はしないこと、作業後には石鹼、温水での手洗いをを行うことが肝要である¹⁹⁾。なお、前述の動物輸入業者の事例では、作業者は素手で動物の世話を行っていた¹¹⁾。

現在日本では、ヒト用に血清型 Australis, Autumnalis, Copenhageni, Hebdomadis の4血清型の不活化全菌体ワクチン「ワイル病秋やみ混合ワクチン」が製造されている²⁰⁾。しかし、レプトスピラに対する免疫は血清型に特異的であり、ワクチンに含まれていない血清型の感染に対する予防効果はない。また化学的予防 (chemoprophylaxis) として、ドキシサイクリンの効果が報告されているが²¹⁾、長期の服用は勧められていない。

VII. レプトスピラ症研究における今後の課題

1. レプトスピラの病原性メカニズムの解明

レプトスピラが引き起こす多彩な臨床症状については詳細に記述されてきたが、レプトスピラの病原性のメカニズムについては、ヘモリシンなど病原因子の一部が同定されてきたにすぎず、ほとんど明ら

かになっていない。その大きな理由として、レプトスピラでは遺伝学的方法の欠如により、腸内細菌などで行われている遺伝子破壊とその遺伝子の相補実験を行うことができないことがあげられる。2000年に非病原性レプトスピラである *L. biflexa* で、複製可能なベクターを用いた形質転換が行えることが報告され²²⁾、その後遺伝子交換 (allelic exchange) による遺伝子破壊も行うことができるようになったが²³⁻²⁷⁾、病原性レプトスピラに同様な手法を適用することは現在でもできていない。

ところで病原性レプトスピラ *L. interrogans* の2種類の血清型 Lai および Copenhageni の全ゲノム配列が最近決定された^{28, 29)}。他の微生物との相同性検索から、病原性にかかわると推定される遺伝子が同定されたものの、レプトスピラの遺伝子の約41% (Lai) および約31% (Copenhageni) は、他の微生物のタンパク質と有意な相同性を示さない、レプトスピラに特徴的な機能未知のタンパク質をコードしていることが明らかとなった^{5, 29)}。これら遺伝子産物の機能解析を行うためにも、病原性レプトスピラの突然変異体の作出法の開発が必須であるが、最近 *mariner* トランスポゾンを用いたランダム挿入変異法を病原性レプトスピラで行うことができたとの報告がなされた³⁰⁾。この実験に用いたレプトスピラが毒力を保持しているかは不明であり、毒力株でも *mariner* が機能するかを追試する必要があるが、今後、大規模な変異体解析による病原性メカニズムの解析が行われることが期待される。

2. ワクチン

レプトスピラ症に対するワクチンの予防効果は、病原体の発見直後から明らかとなっている³¹⁾。前述のように日本を含むいくつかの国では、不活化全菌体ワクチンが製造されているが、その効果はレプトスピラの血清型に特異的であり、このことはすなわち、ワクチン接種を行ってもそのワクチンに含まれていない血清型レプトスピラの感染に対しては防御効果がないことを意味する。実際、その地域で流行している血清型とは異なる血清型からなるワクチンを導入して効果が得られなかった例が報告されている³²⁾。病原性レプトスピラには230以上もの血清型が存在し、また流行血清型は地域によって異なっているため、現行のワクチンに

替わる、多くの血清型のレプトスピラ感染に有効な新たなワクチンの開発が今後の大きな研究課題となっている³¹⁾。これまでにレプトスピラの感染防御抗原として、LipL41+OmpL1 (これら2種類の抗原は同時に免疫した場合のみ感染防御効果が得られる)³³⁾、Hap1/LipL32^{34, 35)}、Lig タンパク質^{36, 37)} が同定されている。これらのタンパク質の抗原性あるいはその遺伝子は、病原性レプトスピラの多くの血清型で保存されていることが明らかになっている^{36, 38, 39, 40)}。また非病原性レプトスピラ *L. biflexa* のLPS画分は、さまざまな病原性レプトスピラの抗血清と反応し、病原性レプトスピラに対して感染防御効果があることが示された^{41, 42)}。

ところで、これまでに多くの微生物の全ゲノム配列が決定されてきたが、そのゲノム配列をもとにした新たなワクチンデザインの戦略 'reverse vaccinology' が確立された⁴³⁾。reverse vaccinology は、ワクチンとして望ましい特徴、例えばシグナル配列や膜貫通ドメイン、リポタンパク質シグナル配列を持つ遺伝子をコンピュータ解析により同定し、その遺伝子産物がワクチン抗原として機能するかを探索する手法で⁴³⁾、この手法はすでにいくつかの細菌にも応用され、新規のワクチン候補が同定されてきている⁴⁴⁾。前述のようにレプトスピラでも2血清型の全ゲノム配列が明らかになっているが^{28, 29)}、最近 reverse vaccinology の手法を用いて、レプトスピラ症患者血清と反応する新規の抗原が同定された (感染防御抗原として機能するかは現時点では不明)⁴⁵⁾。

一方レプトスピラ感染に対する防御機構に関して、これまでレプトスピラ感染に対する免疫は液性免疫が主体であると考えられていたが、レプトスピラ感染防御における細胞性免疫の重要性がウシでの研究で明らかとなった⁴⁶⁾。不活化全菌体ワクチンの免疫によりTh1免疫が確立されることで、ウシではレプトスピラ慢性感染 (レプトスピラの腎臓への定着) が阻止されることが明らかとなった⁴⁶⁾。またヒトでも、レプトスピラ症患者では $\gamma\delta$ T細胞の顕著な増加が認められているが、感染防御における役割は今のところ不明である⁴⁷⁾。

今後レプトスピラの分子遺伝学の発展とともに、レプトスピラの病原因子や病原メカニズムが明らかにされること、また細胞性免疫の役割などのレプト

スピラ感染に対する防御機構のさらなる理解が進むことにより、より効果的な新規のレプトスピラワクチンの開発へとつながることが期待される。

文 献

- 1) Faine, S. et al.: *Leptospira* and Leptospirosis, 2nd edn. Melbourne : MediSci, 1999.
- 2) Levett, P. N.: Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev. **14** : 296-326, 2001.
- 3) Levett, P. N. et al.: Reclassification of *Leptospira parva* Hovind-Hougen et al. 1982 as *Turneriella parva* gen. nov., comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **55** : 1497-1499, 2005.
- 4) Levett, P. N. et al.: *Leptospira broomii* sp. nov., isolated from humans with leptospirosis. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **56** : 671-673, 2006.
- 5) Nascimento, A. L. et al.: Genome features of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. Braz. J. Med. Biol. Res. **37** : 459-477, 2004.
- 6) 中村正治：我が国におけるレプトスピラ病の現状. 化学療法の領域 **17** : 2154-2159, 2001.
- 7) Nakamura, M. et al.: Sporadic cases and an outbreak of leptospirosis probably associated with recreational activities in rivers in the northern part of Okinawa Main Island. J. Vet. Med. Sci. **68** : 83-85, 2006.
- 8) 小泉信夫, 渡辺治雄. 人獣共通感染症としてのレプトスピラ病. Infovets **6** : 18-21, 2003.
- 9) 與那原良克, 他.: 沖縄県のネコのレプトスピラ保有状況について. 沖縄県公害衛生研究所報 **24** : 40-45, 1990.
- 10) 與那原良克, 他.: 沖縄県のネコのレプトスピラ保有状況について (続報). 沖縄県公害衛生研究所報 **25** : 33-40, 1991.
- 11) Masuzawa, T. et al.: Leptospirosis in squirrels imported from United States to Japan. Emerg. Infect. Dis. **12** : 1153-1155, 2006.
- 12) CDC : Outbreak of acute febrile illness among athletes participating in triathlons - Wisconsin and Illinois, 1998. Morb. Mortal. Wkly. Rep. **47** : 585-588, 1998.
- 13) CDC : Outbreak of acute febrile illness among participants in Ecochallenge Sabah 2000 - Malaysia, 2000. Morb. Mortal. Wkly. Rep. **49** : 816-817, 2000.
- 14) 小林讓：ヒトのレプトスピラ病. 化学療法の領域 **8** : 680-688, 1992
- 15) 梁川良：動物のレプトスピラ病. 化学療法の領域 **8** : 673-678, 1992.
- 16) WHO : Human leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO, Geneva, Switzerland, 2003.
- 17) 小泉信夫 他：PCRにより早期診断が行えたレプトスピラ病の1例. 感染症学雑誌 **77** : 627-630, 2003.
- 18) Plank, R. and Dean, D.: Overview of epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in human. Microbes. Infect. **2** : 1265-1276, 2000.
- 19) Campagnolo, E. R. et al.: Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. J. Am. Vet. Med. Assoc. **216** : 676-682, 2000.
- 20) 小泉信夫, 渡辺治雄：ワイル病秋やみ混合ワクチン. ワクチンの事典, 日本ワクチン学会編, 183-193, 朝倉書店, 東京, 2004.
- 21) Takafuji, E. T. et al.: An efficacy trial of doxycycline chemoprophylaxis against leptospirosis. N. Engl. J. Med. **310** : 497-500, 1984.
- 22) Girons, I. S.: The LE1 bacteriophage replicates as a plasmid within *Leptospira biflexa* : construction of an *L. biflexa*-*Escherichia coli* shuttle vector. J. Bacteriol. **182** : 5700-5705, 2000.
- 23) Bauby, H., Saint Girons, I., Picardeau, M.: Construction and complementation of the first auxotrophic mutant in the spirochaete *Leptospira meyeri*. Microbiology. **149** : 689-693, 2003.
- 24) Guegan, R. et al.: *Leptospira* spp. possess a complete haem biosynthetic pathway and are able to use exogenous haem sources. Mol. Microbiol. **49** : 745-754, 2003.
- 25) Louvel, H., Saint Girons, I., Picardeau, M.: Isolation and characterization of FecA- and FeoB-mediated iron acquisition systems of the spirochete *Leptospira biflexa* by random insertional mutagenesis. J. Bacteriol. **187** : 3249-3254, 2005.
- 26) Picardeau, M., Bauby, H., Saint Girons, I.: Genetic evidence for the existence of two pathways for the biosynthesis of methionine in the *Leptospira* spp. FEMS Microbiol. Lett. **225** : 257-262, 2003.
- 27) Picardeau, M., Brenot, A., Saint Girons, I.: First evidence for gene replacement in *Leptospira* spp. Inactivation of *L. biflexa flaB* results in non-motile mutants deficient in endoflagella. Mol Microbiol **40** : 189-199, 2001.
- 28) Nascimento, A. L. et al.: Comparative genomics of two *Leptospira interrogans* serovars reveals novel insights into physiology and pathogenesis. J. Bacteriol. **186** : 2164-2172, 2004.
- 29) Ren, S. X. et al.: Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. Nature. **422** : 888-893, 2003.
- 30) Bourhy, P. et al.: Random insertional mutagenesis of *Leptospira interrogans*, the agent of leptospirosis, using a *mariner* transposon. J Bacteriol. **187** : 3255-3258, 2005.
- 31) Koizumi, N., Watanabe, H.: Leptospirosis vaccines: Past, present, and future. J. Postgrad. Med. **51** : 210-214, 2005.
- 32) Philip, N. A., Tennent, R. B.: Leptospirosis: a report from one practice on the use of a leptospiral vaccine for a period of three years. N. Z. Med. J. **65** (Suppl 15) : 13-19, 1966.
- 33) Haake, D. A. et al.: Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. Infect. Immun. **67** : 6572-6582, 1999.
- 34) Branger, C. et al.: Identification of the hemolysis-associated protein 1 as a cross-protective immunogen of *Leptospira interrogans* by adenovirus-mediated vaccination. Infect. Immun. **69** : 6831-6838, 2001.
- 35) Branger, C. et al.: Protection against *Leptospira interro-*

- gans* sensu lato challenge by DNA immunization with the gene encoding hemolysin-associated protein 1. *Infect. Immun.* **73** : 4062-4069, 2005.
- 36) Koizumi, N., Watanabe, H.: Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. *Vaccine.* **22** : 1545-1552, 2004.
- 37) 沖縄県家畜衛生試験場：ブタのレプトスピラ症. 家畜衛生資料 No. 6. 1989.
- 38) Haake, D. A. et al.: Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding OmpL1, a transmembrane outer membrane protein of pathogenic *Leptospira* spp.. *J. Bacteriol.* **175** : 4225-4234, 1993.
- 39) Haake, D. A. et al.: The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. *Infect. Immun.* **68** : 2276-2285, 2000.
- 40) Shang, E. S., Summers, T. A., Haake, D. A.: Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding LipL41, a surface-exposed lipoprotein of pathogenic *Leptospira* species. *Infect. Immun.* **64** : 2322-2330, 1996.
- 41) Matsuo, K., Isogai, E., Araki, Y.: Occurrence of [$\rightarrow 3$]- β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)- β -D-Manp-(1 \rightarrow]n units in the antigenic polysaccharides from *Leptospira biflexa* serovar patoc strain Patoc I. *Carbohydr. Res.* **328** : 517-524, 2000.
- 42) Matsuo, K., Isogai, E., Araki, Y.: Control of immunologically crossreactive leptospiral infection by administration of lipopolysaccharides from a nonpathogenic strain of *Leptospira biflexa*. *Microbiol. Immunol.* **44** : 887-890, 2000.
- 43) Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. *Vaccine* 2001 ; **19** : 2688-2691.
- 44) Serruto, D. et al.: Biotechnology and vaccines : application of functional genomics to *Neisseria meningitidis* and other bacterial pathogens. *J. Biotechnol.* **113** : 15-32, 2004.
- 45) Gamberini, M. et al.: Whole-genome analysis of *Leptospira interrogans* to identify potential vaccine candidates against leptospirosis. *FEMS Microbiol. Lett.* **224** : 305-313, 2005.
- 46) Naiman, B. M. et al.: Evaluation of type 1 immune response in naïve and vaccinated animals following challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo : involvement of WC1 $^+$ $\gamma\delta$ and CD4 T cells. *Infect. Immun.* **70** : 6147-6157, 2002.
- 47) Klimpel, G. R., Matthias, M. A., Vinetz, J. M.: *Leptospira interrogans* activation of human peripheral blood mononuclear cells: preferential expansion of TCR $\gamma\delta^+$ T cells vs TCR $\alpha\beta^+$ T cells. *J. Immunol.* **171** : 1447-1455, 2003.
- 48) *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni Genome Project : <http://aeg.lbi.ic.unicamp.br/world/lic/>
- 49) Palaniappan, R. U. M. et al.: Immunoprotection of recombinant leptospiral immunoglobulin-like protein A against *Leptospira interrogans* serovar Pomona infection. *Infect. Immun.* **74** : 1745-1750, 2006.