

博士論文

フィリピンにおける小児呼吸器疾患患者を対象とした、
ライノウイルスの種類と臨床症状・重症度の関連についての研究

東北大学大学院医学系研究科 医科学専攻

病理病態学講座 微生物学分野

佐山 章子

内容

I. 要約.....	3
II. 研究背景.....	7
III. 研究方法.....	13
1. 研究デザイン.....	13
2. 呼吸器ウイルスの検出.....	14
3. ライノウイルス参考配列の選出.....	16
4. ライノウイルスの系統樹解析.....	17
5. 呼吸器疾患エピソード設定.....	17
6. 重症度の定義.....	18
7. 統計学的分析.....	19
IV. 研究結果.....	21
1. 研究参加者.....	21
2. 各呼吸器ウイルスの流行曲線（図4）.....	23
3. 地域ごとの各ウイルスの流行曲線（図5）.....	23
4. 患者背景と各呼吸器ウイルスの呼吸器症状（表4）.....	24
5. 年齢群別のライノウイルスの重症度とその他のウイルスの重症度の比較.....	25
6. ライノウイルス症例の患者背景と臨床症状の比較.....	26
7. ライノウイルスのクレードへの分類.....	27
8. ライノウイルスの地域別、各クレードの流行曲線.....	28
9. ライノウイルスの種間での臨床症状・重症度の比較.....	28
10. ライノウイルスのクレード間での臨床症状・重症度の比較.....	29
11. ライノウイルス陽性重症例の患者背景について.....	30
V. 考察.....	32
VI. 結論.....	43
VII. 参考文献.....	44
VIII. 図、表.....	58

IX. 謝辭..... 90

I. 要約

<研究背景>

呼吸器疾患（RTI: respiratory tract illnesses）は、新生児期を除く、5歳未満児の死亡原因の第一位である。ライノウイルス（RV）は呼吸器疾患の原因として最も頻りに検出されるウイルスであり、歴史的に RV-A と RV-B の2種類に血清学的に分類されてきた。近年の分子学的技術の発展に伴い、2009年に新しい RV-C が同定された。近年の研究で、重症呼吸器疾患の症例から RV-C が高率に検出されることから、RV-C の感染が呼吸器疾患の重症化に何らかの関わりがあるのではないかと推測されている。しかし、ほとんどの研究が入院患者を対象としており、RV の病因ウイルスとしての評価については未だ結論は出ていない。本研究では、フィリピンの離島において、外来を受診した5歳未満の小児呼吸器疾患患者から採取した鼻咽頭ぬぐい液をもとに、RV 陽性症例の臨床学的特徴と重症度を解析し、検出された RV の種の違いと呼吸器症状の違い、呼吸器症状の重症度の違いを明らかにすることが目的である。

<研究方法>

2014年2月から2016年6月までフィリピン東ビサヤ地方ビリラン島で行われたコホート研究をもとにした症例研究である。カイビランとカワヤンの2つの地域の

診療所と島唯一の病院において、咳嗽、鼻汁または鼻閉、または呼吸苦をきたし、外来を受診または入院加療となった5歳未満の小児呼吸器疾患患者より鼻咽頭ぬぐい液を採取した。部分5'非翻訳領域(5'-UTR)を標的にしたポリメラーゼ連鎖反応(PCR)でRV陽性を確認し、シーケンスの結果から系統樹を描出し、3つの種(RV-A、RV-B、RV-C)やRV-Cのクレード(C、GAC1、A2、GAC2)へ分類した。RV以外の呼吸器ウイルスはそれぞれPCRでウイルスを検出し、ウイルスの種類ごとに臨床症状や重症度をRVと比較した。重症度はWHOの呼吸器合胞体ウイルス(RSV: Respiratory Syncytial Virus)研究グループ専門家の提言に変更を加えて定義し、エピソードごとに解析した。

<研究結果>

研究期間内に1688人のコホート患者から全部で3680の呼吸器エピソードが観察され、そのうち、臨床データの不足や他のウイルスが共検出されたエピソードを除外し、RVが単独で検出されたエピソードは713エピソードであった。RV以外の呼吸器ウイルスについては、RSVは367エピソード、インフルエンザウイルスは93エピソード、ヒトメタニューモウイルスは93エピソード、その他のウイルス陽性エピソードは417エピソード、検査したウイルスがすべて陰性のものは1525エピソード確認された。RV症例と他の呼吸器ウイルスの年齢群別重症例割合を比較する

と、RV 症例の重症例割合は RSV 症例よりは低い、インフルエンザウイルス症例やヒトメタニューモウイルス症例とはほぼ同等、または RV 症例の方がより高い割合であった。また、RV 症例以外の呼吸器ウイルスは年長児になるにつれて重症例割合は減少傾向になるのに比べ、RV 症例では年長児においても一定以上の重症割合を保っていた。次に、RV 症例のみに絞って解析し、検出された RV の種やクレードの違いによる臨床症状や重症度の違いを検討した。検出された RV の種の内訳は、RV-A は 271(38.1%)、RV-B は 47(6.6%)、RV-C は 395(55.4%)であった。さらに、RV-C 症例は C、GAC1、A2、GAC2 の 4 つのクレードに分けられ、それぞれ、C は 76 症例、GAC1 は 172 症例、A2 は 138 症例、GAC2 は 8 症例であった。重症例の割合は、RV-C 症例において RV-A 症例や RV-B 症例より重症例割合が高く、特に、RV-A 症例とは統計学的に有意な差があった。さらに、RV-C をクレードごとに分けて重症例割合の比較したところ、どの RV-C クレードの症例も RV-A 症例や RV-B 症例と比べて重症例の割合は高かったが、GAC1 症例のみが統計学的有意に RV-A 症例との差が認められた。GAC2 症例の重症例割合は 40%とほかの RV-C クレード症例よりもかなり高い数値であったが、GAC2 症例は全部で 8 症例のみと、他のクレード症例よりも極めて少ない検出数であったため、統計学的な評価は困難であった。ま

た、患者背景としては、重症例は島唯一の二次医療施設へのアクセスが不良である地域に居住する症例に有意に多かった。

<考察>

RV は 5 歳未満の小児呼吸器疾患患者の幅広い年齢層から最も頻繁に検出され、特に年長児においても一定の割合が重症と診断されたことより、年長児においても罹患したことの無い血清型/遺伝子型に感染することで、すべての年齢層である一定割合の症例が重症化している可能性が高い。特に RV-C 症例は RV-A 症例や RV-B 症例と比べて、重症割合が高く、とくに RV-C のうちの GAC1 クレードの感染が呼吸器疾患の重症化に関連している可能性がある。一方で、5'-UTR のみの解析では血清型/遺伝子型への分類や、5'-UTR で起こるとされるリコンビネーションの検証はできないため、今後カプシド領域と 5'-UTR の両方を解析することで血清型/遺伝子型の違いが臨床症状に与える影響についても評価できるであろう。また、重症割合に有意な地域差を認めたことについては、人々の受診行動の変容を促すことで、重症呼吸器疾患の罹患率の低下や、さらには死亡率の低下に貢献する可能性がある。

II. 研究背景

呼吸器疾患（RTI: respiratory tract illnesses）は、新生児期の死亡を除くと、世界の5歳未満児の罹患・死亡原因の第一位である^{1,2)}。WHOによると2017年における呼吸器疾患で死亡した5歳未満児は808,694人であり、すべての5歳未満で死亡した乳幼児のうち15%にもものぼる³⁾。また、フィリピンを含むWHO西太平洋地域においても呼吸器疾患の罹患率や呼吸器疾患に関連する5歳未満児の死亡率は依然として高く⁴⁾、2011年の日本における呼吸器疾患の罹患率が0.02/child-yearであったのに対し、フィリピンでは0.25/child-yearと依然として10倍以上高いと報告された⁴⁾。このことから、低中所得国における肺炎をはじめとした呼吸器疾患に対する研究の重要性は明らかである。

小児における肺炎をはじめとする呼吸器疾患の原因については、アフリカで行われた大規模な症例対照研究において胸部X線陽性小児呼吸器疾患患者のうち、およそ60%にウイルスが検出され、結核菌を除く細菌は27%であったと報告された⁵⁾。ウイルスの中でも呼吸器合胞体ウイルス(RSV: Respiratory Syncytial Virus)が最も一般的で、およそ30%を占めた⁵⁾。一方で、ライノウイルス(RV)については、およそ呼吸器疾患症例の20%で検出されたが、コントロールからも同程度の割合でRVが検出されたために、RVの病因ウイルスとしての評価は難しいと報告した⁵⁾。

RSV の感染が下気道疾患の発症に関与しており、重症化および入院必要性に影響を与えるとの報告がある^{6,7)}、一方で、その他の呼吸器ウイルスについては、呼吸器症状の重症化についての明確な結論はでていない^{5,7)}。

ウイルス性の呼吸器疾患の季節性としては、ブラジルにおける研究で春や秋に検出数が多く、相対湿度が低下するにつれてウイルス性呼吸器疾患が増加すると報告した⁸⁾。南アフリカにおける研究では、RV 以外のほとんどすべてのウイルス性呼吸器病原体が季節性を持っているとした⁹⁾。RV 症例の季節性については、温帯地域においては春や秋に RV 症例が多く確認され¹⁰⁾、春が RV 伝搬にとって最も重要な時期であると報告されている¹¹⁾。フィリピンのような熱帯地域で行われた季節性流行パターンの研究は少なく、アジアの熱帯地域で行われ入院患者を対象とした調査では RV 症例について明確な季節性はなく¹²⁾、インフルエンザウイルス (IFV) と RSV に関しては、熱帯において、毎年、季節性流行パターンを示すと報告されている¹³⁾。他には熱帯地域で行われたウイルス性呼吸器疾患の季節性、特に RV 症例についての報告はなく、熱帯における呼吸器ウイルスの流行パターンについては未だ明確な結論は出ておらず、呼吸器疾患患者の適切な管理のためには季節性流行パターンの解明が必要である。

RV はピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属するウイルスで、プラス鎖の一本鎖 RNA ウィルスで、およそ 7200 塩基からなる。約 650 塩基の 5'非翻訳領域(5'-UTR)、約 6500 塩基のオープンリーディングフレーム、約 50 塩基の 3'非翻訳領域からなり、ウイルスの核蛋白（カプシド）領域は 4 つの蛋白、それぞれ VP1、VP2、VP3 そして VP4 と呼ばれている（図 1）^{14,15)}。ICTV（International Committee on Taxonomy of Viruses）によると、現在、ライノウイルス A（RV-A）、ライノウイルス B（RV-B）、ライノウイルス C（RV-C）の三つの種が認められている¹⁶⁾。RV は 1953 年に感冒症状の患者より初めて発見、分離された¹⁷⁾。抗原性によって二つの種 RV-A、RV-B に分類され、RV-A と RV-B は血清学的手法によって、合わせて 100 以上の血清型が同定されている^{18,19)}。分子学的技術の発展に伴い、インフルエンザ様症状をきたした患者より新しい種が検出され²⁰⁻²³⁾、2009 年に ICTV により新しい種、RV-C と認められた。RV-C は培養が困難であり²⁴⁾、現在、RV-C は“ICTV Picornaviridae Study Group”の提案により、抗原性を規定する VP1 や VP4/VP2 などのカプシド領域の PCR（polymerase chain reaction）・シーケンスの結果に基づいて、血清型と同等と考えられている遺伝子型が 50 以上同定されている^{25,26)}。血清型/遺伝子型への分類にカプシド領域の PCR・シーケンス結果が用いられることの理由として、RV の 5'-UTR はカプシド領域の一部との間でリコ

ンビネーションが起こると報告されているからである^{2, 27, 28)}。RV はリコンビネーションを起こすことで新しい血清型が生み出されていることが知られており²⁾、特に RV-A と RV-C との間に起こったりコンビネーションによって生じた可能性の高い RV-C 株がいくつか報告されている^{27, 29)}。一方で、RV の属するピコルナウイルス科の 5'-UTR には「IRESs : internal ribosome entry sites (内部リボソーム侵入部位)」と呼ばれる高度に保存された構造があり²⁾、IRESs が存在することで 5'-cap 構造に依存せずに mRNA の翻訳開始ができる^{30, 31)}。ピコルナウイルスはこの Cap 非依存性の翻訳開始メカニズムにより、感染宿主細胞が shut-off 状態にあっても効率よく複製できると報告されている³²⁾。この IRESs の高度に保存されている特徴を生かして、この領域をターゲットとした PCR では高い感度で RV が検出できる²³⁾。

RV は感冒をはじめとする呼吸器疾患の主な病因の一つ^{33, 34)}として考えられており、呼吸器疾患の 25~40% を占めるとされる^{35, 36)}。近年では、RV は上気道炎のみならず、下気道疾患 (LRTI: lower respiratory tract illness) を引き起こすと考えられており、市中肺炎や気管支炎で入院した小児患者の 25~30% で RV が検出されたとの報告がある^{37, 38)}。また、ウイルス血症を認めた例も報告されていて^{39, 40)}、RV 感染による重症化の可能性も報告されている³⁷⁾。RV の中でも特に RV-C の感染が喘鳴

を起こすとされ⁴¹⁾、また RV-C は重症例から比較的高率に検出されることが報告されている⁴²⁾。そして、RV-C は 5'-UTR の一部の領域をターゲットとした PCR とシーケンスの結果に基づき、系統樹学的に、GAC1、A2、GAC2、C の 4 つのクレードを確認したとの報告があるが^{22, 23, 29)}、なかでも A2 に属する RV-C がウイルス血症を起こした小児患者の血清から検出されたこと³⁹⁾から、RV-C のなかでも特定のクレードに属する RV-C の感染が呼吸器疾患の重症化に関わっている可能性が考えられる。しかし過去の多くの研究は入院小児患者のみを対象としていて^{5, 43)}、非重症の患者を含んでいない。そして、非入院患者を対象とした研究は、研究参加者が 200 人程度と比較的規模の小さいものである^{44, 45)}。RV が重症呼吸器疾患の病因ウイルスとして重要なウイルスの一つであり、RV のどの種が呼吸器疾患の重症化に関わっているかを明らかにするためには、重症患者のみならず、非重症患者も多く含めて解析を行い、どのような症状を呈するのか、RV 陽性患者の呼吸器症状の特徴を明らかにする必要がある。

本研究の目的は、フィリピンの離島における二つの地域の一次医療施設と島唯一の二次医療施設（病院）における、外来受診または入院した 5 歳未満の小児呼吸器疾患患者を対象としたコミュニティベースの研究で得られたデータを解析し、RV 陽

性患者における、RVの種の違いによる臨床症状の違いや重症度の違いを明らかにすることである。また、RV以外の呼吸器ウイルスが検出された症例とRV症例の臨床症状や重症度を比較することで、RVの臨床的特徴を明らかにすることである。

III. 研究方法

1. 研究デザイン

本研究は 2014 年 2 月から 2016 年 6 月までフィリピンの東ビサヤ地方ビリラン州ビリラン島で行われた前向きコホート研究⁴⁶⁾をもとにした症例研究である (図 2) 。ビリラン島はおよそ 556 平方メートルの面積を持ち、172,000 人が居住している⁴⁷⁾。ビリラン島は島内及び島外への人の移動が限られ、人の出入りが少ないことが感染症の伝搬研究に適しており、本研究の研究フィールドとして選択された。ビリラン州の州都はビリラン島のナバルにあり、ビリラン島は 7 つの行政区にわかれ、さらにバランガイと呼ばれる地区に細分化されている。ビリラン島における保健・医療施設としては、州都ナバルに位置し Biliran Provincial Hospital (BPH) と呼ばれる島唯一の二次医療機関(病院)、医師と助産師が常駐し外来診療を行う Rural Health Unit (RHU) と呼ばれる一次医療機関、そして、妊婦健診・乳幼児健診・ワクチン接種・集団薬剤投与などの公衆衛生サービスを行う Barangay Health Station (BHS) の 3 種類がある。

事前調査において、ビリラン島内の 7 つの行政区のうち、安全上の問題や RHU の受診状況などの理由から 3 つの行政区を除いた 4 つの行政区の中から、島東部に位置するカイビランと島北部に位置するカワヤンの 2 つの行政区が選択された。この

2つの地域に1か所ずつ設置されているRHUまでの距離が4km以内のBHSを基準にして、5歳未満の小児が2,500人以上含まれるように、カイビランから10のバランガイ(1,299人)、カワヤンから15のバランガイ(1,201人)を選択し、コホート期間中にこれらのバランガイに居住するすべての5歳未満の小児をコホート対象とした。両親または保護者から研究参加への同意を得られたコホート対象者について、5歳の誕生日まで追跡した。カイビラン・カワヤンのそれぞれのRHUとBPHにおいて、14日以内に発症し咳嗽、鼻汁または鼻閉、または呼吸苦をきたしたコホート対象小児から鼻咽頭ぬぐい液を採取し、研究専属看護師または医師が病歴や臨床症状を記録した。IMCI(Integrated Management of Child Illness)^{48,49)}の基準をもとに重症または超重症と診断された場合は、州立病院への入院を勧めた⁴⁶⁾。本研究は、熱帯医学研究所(RITM)倫理審査委員会と東北大学大学院医学系研究科倫理審査委員会により承認された。

2. 呼吸器ウイルスの検出

コホート対象小児より採取され、ウイルス輸送液に浸された鼻咽頭ぬぐい液は4°Cを保ったまま、研究施設へ輸送された。これらの検体はウイルス分離用とPCR用に分けられた。

ウイルス分離用に分けられた検体は、6種類の細胞（Human Fetal Lung fibroblast (HFL) cell line、Human Rhabdomyosarcoma A (RDA) cell line、HEp-2 cell line、VeroE6 cell line、Green Monkey Kidney (GMK) cell line、Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) cell line）に接種された。

PCR用に分けられた検体から、RNAはQIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen, Hilden, Germany)により抽出され、M-MLV (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を使用して逆転写された。RVとエンテロウイルス (EV) はDK001⁵⁰⁾とDK004²³⁾をプライマーとして使用し、ExTaq (TaKaRa Bio, Otsu, Japan)を用いて5'-UTRの一部をconventional PCRで増幅した。

他、アデノウイルス (AdV)、パラインフルエンザ (PIV: PIV1、PIV-2、PIV-3、PIV-4)についてはconventional PCRによって検出され、インフルエンザウイルス (IFV: IFV-A (A(H1N1)pdm、A(H3N3)、IFV-B)はreal-time PCRにより、RSVとヒトメタニューモウイルス (MPV)はmultiplex real-time PCRによって検出された。使用したプライマーとプローブは表1に示す。これらのPCR産物はillustra™ ExoProStar™ (GE Healthcare Life Science, Amersham, England)を使用して精製され、BigDye Terminator version 3.1 (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA)でシーケンス、Applied Biosystems 3100 or 3700 Genetic

Analyzer (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA)によって解析された。サンガーシーケンスの結果により、それぞれのウイルスは種そして亜型へと分類された⁴⁶⁾。

3. ライノウイルス参考配列の選出

参考配列はカプシド領域を用いたシーケンス結果によって血清型/遺伝子型へ分類された、“ICTV Picornaviridae Study Group”^{25, 26)}の報告から、全長ゲノムが掲載されているものを選出した。その中で5'-UTRの一部、DK001とDK004プライマーで増幅される部分だけを抽出した。それらの選出した配列は、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)⁵¹⁾を用いて、NCBI Genbankのデータベースの中から、最も相性の高い血清型/遺伝子型を確認した。“ICTV Picornaviridae Study Group”の報告している血清型/遺伝子型と一致しない場合は、参考配列として用いないこととした。さらに、Kiangらの報告よりRV-Cクレードの参考配列としてHM581808も解析に加えた²³⁾。解析に使用した参考配列は表2に示す。

4. ライノウイルスの系統樹解析

フィリピンで採取された検体のサンガーシーケンスで得られた塩基配列は、前述の方法で得られた参考配列とともにひとつのファイルにまとめられ、Clustal omega アルゴリズムでお互いにアライメントされ、345 塩基の長さに揃えられた。その範囲の長さを満たさないものと解読困難な塩基が 20 塩基以上含まれるものは本研究の解析対象から除外した。系統樹は Neighbor-joining 法で描き、系統樹の正確性は 100 回のブートストラップ値で検定した。系統樹の構築と正確性の検定はすべて MEGA version7⁵¹⁾で行った。フィリピンで採取された検体の塩基配列は DDBJ/EMBL/GenBank のアクセッション番号 LC591112–LC591835 に登録された。

5. 呼吸器疾患エピソード設定

呼吸器疾患エピソードは、14 日以内に発症し咳嗽、鼻汁または鼻閉、または呼吸苦をきたしたものであり、RV 関連エピソードとは、コホート対象患者から採取された検体の PCR 結果が、RV 陽性となったエピソードを表す。前回の検体採取から 14 日以内に RV が再度検出された場合は、同一のエピソードとした。また、前回の RV

陽性日から無症状期間が 14 日間見られない場合と、30 日以内に同じ種の RV が検出された場合も同一のエピソードとした。

他のウイルスのエピソードについても同様に、7日以内に同じウイルスが検出されれば、同一のエピソードとし、無症状期間が少なくとも7日間確認できれば、別のエピソードと設定した。30日以内に同じ亜型のウイルスが検出された場合も同一のエピソードとした。

また、同一エピソード内で複数の種類のウイルスが同時に検出された場合は、共感染による呼吸器疾患重症化の可能性も考えられ、単独の種類呼吸器ウイルスが引き起こす臨床症状や重症化の有無を明らかにできないために、共検出エピソードは本研究の解析からは除外した。

6. 重症度の定義

呼吸器疾患エピソードの重症度は WHO の RSV 研究グループの専門家により発表された提言⁵²⁾を用いた。2 か月未満児の頻呼吸については先述の提言では定義されていないため、WHO の勧告⁵³⁾を参考にして、2 か月未満児の頻呼吸を加えて定義した(表 3)。「気道疾患」は咳嗽または呼吸苦のある症例であり、気道疾患のうち頻呼吸 (2 か月未満児：60 回/分以上⁵³⁾、2 か月以上 12 か月未満児：50 回/分以上、1 歳

から5歳未満児：40回/分以上)がみられたもの、または、経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO₂) が95%未満を呈する症例を「下気道疾患」とした。「重症下気道疾患」は下気道疾患症例のうち陥没呼吸のみられたもの、または、SpO₂が93%未満の症例とした。「超重症下気道疾患」は下気道疾患症例のうち飲水困難、傾眠傾向、意識混濁のいずれかを呈したもの、または、SpO₂が90%未満の症例と定義した。咳嗽、呼吸苦ともになく、鼻汁または鼻閉のみを呈した症例は「鼻かぜ」と定義した。SpO₂が酸素投与後または気管支拡張薬投与後に測定されている症例については、一律にSpO₂が95%未満である、つまり下気道疾患であるとした。しかし、酸素投与の影響を受けない状態でのSpO₂は判定できないことから、正確な重症度を反映しないので、「定義不能下気道疾患」とした。

さらに、鼻かぜ、気道疾患、下気道疾患を「非重症例」、重症下気道疾患と超重症下気道疾患を「重症例」とし、定義不能下気道疾患を除いたエピソード数に対する「重症例」の割合を重症例割合として解析した。

7. 統計学的分析

月齢については、Kruskal-Wallis検定とボンフェローニ補正Dunn検定を用いて比較した。カテゴリー変数についてはカイ二乗検定またはFisher検定を用いて比較を

おこなった。オッズ比(OR)と 95%信頼区間(95%CI : 95% confidence interval)は年齢、性別、居住地域を調整因子としてロジスティック回帰分析を用いて、算出した。すべての統計学的分析には、R version 3.6⁵⁴⁾を用いた。

IV. 研究結果

1. 研究参加者

2014年2月から2016年6月までの期間に4012人がコホート研究に参加し、そのうち、医療機関を受診した呼吸器疾患エピソードは3680エピソード（1688人）観察された(図3)。全3680エピソードのうち、87エピソード（2.4%）は入院エピソードであった。RVエピソードは972エピソード観察され、134エピソードは種やクレードへの分類をするためには低品質なシーケンス結果であったために解析から除外された。111エピソードは他のウイルスとの共検出のため、6エピソードは複数のRVの種が検出されたため除外された。また、8エピソードは臨床データの不足のために解析から除外された。最終的に553人のコホート対象小児から、713のRV単独陽性エピソードが得られ、RV単独で検出された症例の臨床症状や重症度の特徴を解析した。コホート期間中、553人のうちの434人（78.5%）はRV単独陽性エピソードを1回のみ経験し、残りの119人は複数回のRV単独陽性エピソードを経験した（2回：87人、3回：23人、4回：9人）。

713のRV単独陽性エピソードは、それぞれの重症度に分類され、66エピソード（9.3%）は「鼻かぜ」、327エピソード（45.9%）は「気道疾患」、218エピソード（30.6%）は「下気道疾患」、53エピソード（7.4%）は「重症下気道疾患」、12

エピソード（1.7%）が「超重症下気道疾患」、37 エピソード（5.2%）は「定義不能下気道疾患」に分類され、重症例は 65/676 エピソードと 9.6%を占めた。なお、他のウイルスと共検出を認めたために解析から除外された 111 エピソードについては、1 エピソードは酸素飽和度測定がされておらず、重症度に分類できなかった。

110 エピソードのうち、10 エピソード（9.1%）が「鼻かぜ」、35 エピソード（31.8%）が「気道疾患」、46 エピソード（41.8%）が「下気道疾患」、12 エピソード（10.9%）が「重症下気道疾患」、2 エピソード（1.8%）が「超重症下気道疾患」、5 エピソード（4.5%）が「定義不能下気道疾患」であり、重症例は 14/105 エピソードと 13.3%を占めた。

また、RV 以外の 2708 呼吸器疾患エピソードのうち、50 エピソードは 2 つ以上のウイルスの共検出のため、36 エピソードは臨床データの不足のために解析から除外された。367 は RSV エピソード、220 は IFV エピソード、93 は MPV エピソード、PIV が 248 エピソードであり、169 件はそれ以外のウイルスが陽性のエピソードであった。その他のウイルスの内訳は、EV が 80 エピソード、AdV が 73 エピソード、サイトメガロウイルスが 15 エピソードであった。また、検査項目には含まれなかったが、ウイルスが検出されたものとして、デングウイルスが 1 エピソードであった。1525 エピソードは検査したウイルスは全て陰性のエピソードであった。

2. 各呼吸器ウイルスの流行曲線（図4）

2014年2月から2016年6月までの期間に観察された、RV、RSV、IFV、MPV、PIV、それ以外のウイルスの陽性エピソード数、検査したウイルス陰性エピソード数について図4に示す。RVは研究期間のどの月にも一定数以上検出されたが、2015年12月から2016年3月にかけて、RVの検出数が他の時期よりも多く、ビリラン地域での流行がみられる。この流行期についてはRSVやIFVの検出数は少なかった。RSVについては、2014年5月から12月と2015年10月から12月の2回にわたってビリラン地域での流行をみとめた。IFVについては、比較的どの月にも検出されているが、2014年4月から6月と2015年6月から2015年9月に検出数の増加が見られた。MPVは2014年7月から9月にかけて検出数が他の時期よりも増えていた。PIVについては、2015年1月から3月にかけて検出数の増加が見られた。

3. 地域ごとの各ウイルスの流行曲線（図5）

居住地域の違いによる各ウイルスの検出数の違いについては図5に示す。全体的にカイビラン地域において検出数が多かった。RVはカイビランでもカワヤンでもどの月にも一定数以上検出されており、2015年12月から2016年3月にかけてはとくにカワヤンにおいてRVの検出数が増えていることが分かった。RSVの2014年の

流行時にはカイビランでもカワヤンでも検出数の増加が見られたが、2015年の流行時にはとくにカイビランで検出数が顕著に増えていることがわかった。IFVの2015年の流行時、MPVの2014年7月から9月の流行時は、いずれもカイビランで検出数が多く、PIVは2015年1月から3月にかけてカイビラン、カワヤンの両地域で検出数の増加が認められた。

4. 患者背景と各呼吸器ウイルスの呼吸器症状（表4）

患者背景と各呼吸器ウイルスの呼吸器症状を表4に示す。全体の月齢中央値は21か月（四分位範囲: 10-36）で、男児が51.8%、居住地域はカイビランが62.0%であった。ほとんどの症例で咳嗽（92.6%）を呈し、鼻汁または鼻閉は91.3%で見られた。41.6%の症例で頻呼吸、40.8%でラ音をみとめた。低SpO₂、呼吸苦、喘鳴はそれぞれ、16.3%、11.5%、18.8%のエピソードでみられた。

各ウイルスの検出エピソードの年齢分布には違いがあり、最も月齢が低いものはRV(17か月)であった。そのほかは、月齢の低い順にRSV(19か月)とPIV(19か月)、MPV(22か月)、IFV(29か月)であった。37.5°C以上の発熱はRV症例ではほかのウイルスや検査ウイルス陰性と比べて頻度が少なかった。RV症例と比較すると、発熱、低SpO₂、咳嗽、頻呼吸、呼吸苦、鼻翼呼吸、陥没呼吸、ラ音、喘鳴そして飲

水困難は RSV で頻度が高く、一方、呼吸苦、ラ音、喘鳴は IFV で頻度が低く、鼻汁または鼻閉、頻呼吸、呼吸苦、陥没呼吸は検査ウイルス陰性で頻度が低かった。

5. 年齢群別のライノウイルスの重症度とその他のウイルスの重症度の比較

年齢は「2 か月未満」、「2 か月以上 7 か月未満」、「7 か月以上 1 歳未満」「1 歳」「2 歳」「3 歳以上 5 歳未満」の年齢群に分け、RV 症例と RSV 症例の重症度を比較した(図 6)。すべての年齢群で RV は RSV よりも検出数が多かった。2 か月未満児は症例数が少ないため、解釈が難しいが、RSV 症例では 40%が重症例であった。RV 症例ではすべての年齢群で重症例の割合が 6%から 12%程度であったのに対し、RSV 症例は、1 歳代で重症例割合は 2 度目のピークを迎え(27.9%)、それ以降の重症例割合は急激に減少傾向に向かうことがわかった。IFV、MPV、PIV、その他のウイルスについては、RV や RSV と比べて検出数が少ないため、解釈は難しいが、重症例割合だけみると、IFV 症例では 2-6 か月児で 21.1%、MPV 症例は 2 歳代で 16.7%、PIV 症例では 2-6 か月児で 16.7%と他の年齢群より高い数値であった。その他のウイルス症例については、2 か月未満児を除くどの年齢群でも 4~10%前後が重症例であった。検査したウイルスがすべて陰性であった症例については、2 か月未満児を

除く年齢群で重症例は 3-9%ほどであり、RV 症例や RSV 症例よりも低い数値であった。

6. ライノウイルス症例の患者背景と臨床症状の比較

713 の全 RV エピソードの月齢中央値は 17 か月(四分位範囲：8-31 か月)、男児は 54% (n=386)、居住地域がカイビランである症例は 58.6% (n=418) であった(表 4)。年齢群、性別、居住地域の違いによる、臨床症状や重症度への影響を比較すると、鼻汁または鼻閉、頻呼吸は 1 歳代に多く、ラ音は 1 歳未満で多く認められた(表 5)。また、鼻汁または鼻閉、頻呼吸、呼吸苦、喘鳴、ラ音、低 SpO₂ はカイビランで有意に多く、重症症例もカイビランの方が有意に多くみられた。性別に関しては陥没呼吸が男児に有意に多くみられた。

RHU までのコスト距離は重症例(中央値 0.05、四分位範囲 0.02-0.18)と非重症例(中央値 0.09、四分位範囲 0.03-0.18)で有意な差はなく、BPH までのコスト距離は重症例(中央値 0.83、四分位範囲 0.76-0.86)と非重症例(中央値 0.79、四分位範囲 0.55-0.85)と重症例の方が有意にコスト距離が大きいことが分かった(P 値 0.007)。また、重症例の SES (Social Economical Status：社会的経済状況)スコアは平均 26、標準偏差 15 であり、非重症例(平均 32、標準偏差 15)と比べて有意

に低く（P 値 0.005）、出生体重が低出生体重であった症例は重症例に有意に多かった（重症例：85/515、16.5%、非重症例：2/51、3.9%）。

家庭内の喫煙者の数、出生順、両親の教育レベル、アトピーの家族歴、家畜やペットの有無、家電製品の有無、携帯電話や移動手段の有無、家の構造や料理の際の燃料、飲料水の確保手段、トイレやせっけんの有無については、重症例と非重症例で有意な差は見られなかった。

7. ライノウイルスのクレードへの分類

713 の RV 症例のうち、RV-A 症例は 271(38.0%)、RV-B 症例は 47（6.6%）、RV-C 症例は 395(55.4%)であった(図 7、表 6)。RV-C はそれぞれ 5'-UTR に基づく系統樹学分類によって、76 が C 症例、172 が GAC1 症例、94 が A2 症例、8 が GAC2 症例へと分けられた。1 例は同一エピソード内で複数回検体採取され、それぞれ異なるクレードへ分類されたため、症状や重症度を比較する際に解析から除外された。

また、カプシド領域のシーケンスで RV-A とされたいくつかの参考配列は GAC1（5 の血清型/遺伝子型）または A2（9 の血清型/遺伝子型）の RV-C のクレードに

分類され、これらは 5'-UTR に基づく系統樹分類では RV-C に分類されたものとして解析をおこなった。

8. ライノウイルスの地域別、各クレードの流行曲線

2014 年 2 月から 2016 年 6 月の研究期間中、カイビラン・カワヤンの地域全体としては RV-A、GAC1、A2 はどの月にも一定数以上検出された（図 8）。一方で、RV-B は 2014 年 4 月から 7 月と 2016 年 2 月から 4 月にかけて検出されなかった。2015 年の終わりから 2016 年のはじめにかけての RV の流行では、とくにカワヤンにおいて検出数が急激に増加しており、カワヤンでは RV-C のうち GAC1、C の検出数多く、カイビランにおいては A2 の検出数も増えていた。RV-B についても他の時期と比べると同時期の検出数は増えていた。

9. ライノウイルスの種間での臨床症状・重症度の比較

臨床症状を RV の種間で比較した（表 6、表 7）。低 SpO₂、陥没呼吸、重症例は RV-C 症例(それぞれ 18.7%、10.4%、11.9%)で RV-A 症例(それぞれ 12.9%、5.2%、6.9%)や RV-B 症例(それぞれ 10.6%、4.3%、6.4%)よりも頻度が高かった。さらに、鼻汁または鼻閉は、RV-B 症例（87.2%）において RV-A 症例（96.7%）や

RV-C 症例（95.2%）よりも頻度が低かった。年齢、性別、居住地域で調整した調整オッズ比（AOR）と 95%信頼区間（95%CI）を算出すると、低 SpO₂ と陥没呼吸は RV-C 症例で RV-A 症例よりも有意に呈しやすく（それぞれ、AOR=1.65、95%CI=1.06-2.57 と AOR=2.20、95%CI=1.17-4.13）、重症例も RV-C 症例で RV-A 症例よりも有意に多かった（AOR=1.46、95%CI=1.09-3.47）。鼻汁または鼻閉は RV-A 症例や RV-C 症例において RV-B 症例よりも有意に多く認められた。喘鳴に関しては RV-C 症例で RV-B 症例よりも頻度が高かったが、統計学的に有意な差ではなかった（RV-B：RV-C=10.6%：23.0%、AOR=2.46、95%CI=0.94-6.44、p=0.066）。また、飲水困難、傾眠傾向、中枢性チアノーゼなどの危険徴候は、全部で 6 例確認され、そのうち、RV-A 症例のなかで 1 例、RV-C 症例のなかで 5 例認められた。

10. ライノウイルスのクレード間での臨床症状・重症度の比較

RV-C の各クレードに分けられた症例と RV-A 症例と RV-B 症例との間で臨床症状と重症度を比べたところ（表 6、表 7）、GAC1 症例では低酸素血症、咳嗽、陥没呼吸、喘鳴、重症例は 22.1%、94.8%、9.9%、27.3%、14.3%であったのに対し、RV-A 症例ではそれぞれ 12.4%、87.0%、5.2%、19.7%、6.9%であり、GAC1 症例で有

意に頻度が高かった。また喘鳴に関しては、GAC1 症例は RV-B 症例（10.6%）と比べても有意に頻度が高かった（AOR = 3.24、95%CI = 1.19–8.82）。陥没呼吸については RV-C(GAC1)症例と RV-C(C)症例で RV-A 症例よりも有意に頻度が高かった（それぞれ、AOR = 2.20、95%CI = 1.04–4.68 と AOR = 2.46、95%CI = 1.01–6.00）。

RV-C のクレード内で臨床症状や重症度を比較すると、GAC1 症例において、低 SpO₂（AOR = 2.06、95%CI = 1.10–3.84）、咳嗽（AOR = 2.49、95%CI = 1.05–5.90）、喘鳴（AOR = 2.03、95%CI = 1.15–3.60）は A2 症例よりも有意に頻度が高かった（表 8）。GAC2 症例に関しては 8 件のみであったため、臨床症状や重症度を他の種との間での統計学的検定からは除外したが、低 SpO₂ は 50%（4/8）、陥没呼吸は 62.5%（5/8）、喘鳴は 50%（4/8）、重症例は 40%（2/5）と高い割合を呈した。

11. ライノウイルス陽性重症例の患者背景について

先述したように、RV 陽性の重症例割合は居住地がカイビランである症例が有意に多かったことから、RV 陽性の重症例に限り、その居住地の違いによる患者背景の違いがあるかどうかを比較したところ、重症例 65 例のうち居住地がカイビランである症例は 48 例、カワヤンである症例は 17 例であった。RHU までのコスト距離は、居

住地域がカイビランである症例が中央値 0.03（四分位範囲 0.02-0.14）、カワヤンが中央値 0.13（四分位範囲 0.09-0.27）と、居住地がカイビランである方が重症例の RHU へのアクセスが有意に良好であった。一方で、BPH までのコスト距離については、カイビランが中央値 0.84（四分位範囲 0.83-0.88）、カワヤンが中央値 0.55（四分位範囲 0.48-0.71）とカイビランの方が BPH へのアクセスが有意に不良であった。

その他、SES、家庭内の喫煙者の数、低出生体重の有無、出生順、両親の教育レベル、アトピーの家族歴、家畜やペットの有無、家電製品の有無、携帯電話や移動手段の有無、家の構造や料理の際の燃料、飲料水の確保手段、トイレやせっけんの有無については、居住地域の違いによる有意な差は見られなかった。

V. 考察

本研究では、RV は他の呼吸器ウイルスよりも幼い子供からより一般的に検出され、どの年齢層でも RSV よりも多く検出された。RV は過去の文献から上気道疾患小児患者のどの年齢群でも最も頻繁に検出されるウイルスであると報告されており⁵⁵⁾、本研究では重症患者も含んでいるが、同様の傾向がみられた。RV 症例は、RSV 症例と比べると重症度に関連する臨床症状の頻度が低かったが、IFV、MPV、およびその他のウイルスと比較すると、重症度に関連する臨床症状の頻度は同程度または高かった。RSV は、重症呼吸器疾患の病因ウイルスの 1 つとして知られていて^{5,6)}、入院小児患者の 20-30% に検出される^{5,56)}。本研究においても同様に RSV が重症例の 23.2% から検出されており、重症呼吸器疾患において重要なウイルスであることが明らかになった。年齢群別重症例割合については、その年齢層でも、RV 症例は約 6% から 12% が重症であると診断されたが、RSV 症例では、1 歳代で重症の割合がピークを認め、その後は急激に減少傾向となった (図 6)。RSV は 6 か月未満と 1 歳代に重症下気道疾患の罹患率が高いことが報告されていて⁵⁷⁾、本研究でも同様な傾向が見られた。その理由としては 6 か月未満で RSV に初感染して重症化し、1 歳代で別の型へ初感染して重症化することが考えられている⁵⁷⁾。RSV 以外のウイルスについては、年齢群別の重症下気道疾患の罹患率について述べた報告はみつからな

かった。本研究において、RV が重症患者と非重症患者の両方において一般的なウイルスであり、さらに、RV 症例における重症の割合は、年齢の影響を大きく受けずに年長児でもある一定の割合を保ったままであった。考えられる理由の1つは、RV には100を超える血清型/遺伝子型があることから、年長児においても今まで罹患していない血清型/遺伝子型に感染すると重篤な呼吸器疾患を引き起こす可能性があること、または、重篤な呼吸器症状を引き起こす特定の血清型/遺伝子型が存在する可能性がある。しかし、本研究では5'-UTRを用いた解析のため、正確な血清型/遺伝子型には分類できていない。仮に血清型/遺伝子型に分類できたとしても、全部で100以上存在する血清型/遺伝子型の検出と臨床症状や重症度との関連を評価することはかなり困難である。

RV は重症呼吸器疾患症例のみならず、無症候性症例から高率でRV が検出されることが報告されており⁵⁾、病因ウイルスとしての評価については未だ明確な結論がでていない。RV が無症候性症例からも検出されることについては、RV のsheddingについても併せて検討しなければならない。RV のsheddingについての研究では、急性呼吸器疾患罹患後の症例の4.5%において30日間同じ血清型/遺伝子型のRV が検出され続けたという報告や⁵⁸⁾、一方で、RV-A とRV-B はほかの呼吸器ウイルスと

同様に 7 日程度、RV-C は 14 日程度の shedding がみられたと報告している⁵⁹⁾。これらの報告から考えると RV の shedding 期間と無症候性感染との区別はかなり困難である。RV が呼吸器疾患の病因ウイルスかどうかを正確に評価するためには、呼吸器疾患急性期の肺胞洗浄液の採取、さらにはウイルス分離が必要であると考えられるが、肺胞洗浄液の採取は侵襲性が極めて高く、小児呼吸器疾患の研究に用いることは難しい。また、高度な医療施設も必要であるため、低中所得国での実施は現実的ではない。本研究のように、shedding 期間を十分に経過して発症した呼吸器疾患患者からの RV の単独での検出は呼吸器疾患の原因ウイルスであるとみなすことが出来るであろう。今後、shedding 期間と無症候性患者との区別が明確になれば、RV の病因ウイルスとしての評価ができるようになるだろう。

呼吸器疾患重症化の評価については、患者背景も含めて検討しなければならない。WHO によると、5 歳未満の小児呼吸器疾患罹患のリスクファクターとして、木材や糞などのバイオマス燃料を使用した調理や暖房による室内空気汚染、密集した居住環境、親の喫煙が挙げられている⁶⁰⁾。また、RV は、家庭内で循環することが分かっており⁶¹⁾、世帯員が多い家庭では RV の罹患率が高い⁶²⁾、一方で家庭内循環は RV のコピー数と関連がなく⁶¹⁾、重症化のリスクとしては明らかではない。低中所得

国の小児急性下気道疾患による死亡の危険因子をシステマティックレビューした報告では、若い母親、低い母親の教育レベル、低いSES、受動喫煙、室内空気汚染が呼吸器疾患による死亡率に強く関連していると報告した⁶³⁾。RV陽性患者を対象とした研究では、アトピーの家族歴があることが重症化と強く関連が見られたと報告した⁶⁴⁾。本研究において、重症例はBPH（島唯一の病院）までのコスト距離が大きいこと、SESスコアが低いこと、出生体重が低出生体重であったことが非重症例よりも有意に頻度が高く、過去の文献と同様に、SESの低い家庭の小児については重症化のリスクが高いことが分かった。一方で、家庭内の喫煙者の有無や、薪使用による調理の有無、飲料水の入手方法、トイレの有無やせっけんの有無については有意な差は見られず、本研究では入院可能施設（BPH）までのアクセスが不良であることの方が、重症化のリスクとして挙げられた。また、RV陽性の重症例割合が居住地域において違いが見られたことについては、重症例に絞って、患者背景を居住地域の違いで比べたところ、RHUまでのコスト距離は重症例の多かったカイビランの方がアクセス良好であったが、BPHまでのコスト距離はカイビランの方がアクセス不良であったことから、本研究におけるRV陽性の呼吸器疾患重症化のリスクファクターは一次医療施設へのアクセスが良好であっても、入院可能な二次医療施設へのアクセスが不良であることであった。これは、一次医療施設へのアクセスが良好

であることへの安心感が、受診行動を抑制し、結果として重症化してから一次医療施設に受診する傾向があるのかもしれない。また、各地域の研究看護師や一次医療機関の医師による臨床症状の観察方法や検体採取手技の違いが、重症度の地域差に影響を及ぼしたかもしれないが、臨床症状の有無についての記録方法や検体採取方法は厳守されており、同じ人間がすべてを行うことが出来ない以上、個人の技術の小さな差については生じてしまうであろう。本研究で明らかになった重症例割合の地域差については様々な要因が複雑に絡み合っており、解釈が困難であるが、居住地の違いが重症例割合に差を認めることを念頭に置いて、重症例割合の多かった地域において、早めの受診を啓蒙することで、医師や看護師による的確な診断・適切な治療を受けることによる重症化の抑制が実現できる可能性が高い。

本研究では 5'-UTR を用いた系統樹解析によって、RV を種、クレードに分類し、RV-C 症例とくに RV-C のなかでも GAC1 症例は RV-A 症例よりも有意に喘鳴や陥没呼吸を呈しやすく、RV-B 症例は RV-A 症例や RV-C 症例よりも鼻かぜ症状が有意に少ないことが明らかになった。さらに、重症度に関しても、RV-C とくに GAC1 が検出された症例において重症の割合が RV-A 症例よりも有意に高いことがわかった。RV の種の違いと臨床症状や呼吸器疾患重症化の関連については、世界各地で

行われ RV-C の感染が重症化に関わっている可能性は報告されているが^{42, 65)}、未だ結論はでていない。RV-A と RV-B の大部分の血清型/遺伝子型が ICAM-1

(intercellular adhesion molecule 1) を介し、一部は LDL 受容体 (low density lipoprotein receptor) を介して宿主に感染すると報告されている^{66, 67)}。一方で、

RV-C は小児喘息の重症化に関わる遺伝子として初めて報告された CDHR3

(cadherin-related family member 3)⁶⁸⁾を介すると報告されている⁶⁹⁾。RV-C が RV-A と RV-B とは異なる、小児喘息の重症化に関与する CDHR3 を介して感染することが、RV-C 感染による喘鳴の増悪や呼吸器疾患の重症化を導いている可能性が考えられる。RV-B 症例の鼻かぜ症状の少なさについては、RV-B の感染に対する抗体レベルが RV-A や RV-C よりも低いことが報告されており⁷⁰⁾、RV-B 感染に対する免疫応答の弱さが、重症に関連する臨床症状の頻度の低さや鼻汁または鼻閉の頻度の低さと関連があるかもしれない。

また、RV-C は RV-A と似た 5'-UTR を持つもの(RV-Ca)と RV-C の 5'-UTR を持つもの(RV-Cc)と大きく 2 種類に分けられることが報告されている²⁷⁾。さらに、この RV-Ca は RV-A と RV-C との間のリコンビネーションによって生まれたものである可能性が示唆されている (図 9)²⁹⁾。Kiang らは 5'-UTR を用いた系統樹解析によって、RV-C が GAC1、A2、GAC2、そして C に分かれることを報告したが²³⁾、この

GAC1、A2、GAC2 がいわゆる RV-A 様の 5'-UTR をもつ RV-Ca であり、C が RV-Cc であるとされている²⁷⁾。Fuji らはフィリピンの呼吸器疾患小児患者の血清から検出された RV は A2 に属する RV-C と A2 に近いクレードにある RV-A から多く検出されたことを報告し³⁹⁾、RV 間のリコンビネーションによって病原性が高められている可能性も考えられる。RV の所属するピコルナウイルスにとって、5'-UTR のなかに存在する IRES はポリ蛋白の翻訳開始に重要な役割を持ち^{2, 31)}、IRES の内部の変異がウイルスの表現型に影響を与えるとされている^{2, 31)}。例えば、IRES 内部の変異がポリオウイルスの神経病原性を弱める⁷¹⁾こと、コクサッキーウイルスの 5'-UTR の一部にリコンビネーションを起こしたところ病原性が増す⁷²⁾、エンテロウイルス 71 の 5'-UTR 内の 1 塩基の置換が毒性を弱める⁷³⁾、一方で RV と近縁のエンテロウイルス D68 の研究ではリコンビネーションを起こしたものと臨床的重症度とは関連がないとの報告もある⁷⁴⁾。本研究で明らかになった、GAC1 が重症呼吸器疾患の小児患者から高率に検出され、また、GAC2 が検出された症例のほとんどが重症であったことについては、5'-UTR とカプシド領域とのリコンビネーションが、ウイルスの病原性を決めているカプシド領域に影響を与えたか、または、5'-UTR 自身の変化によってウイルスの複製能力に何らかの影響を与えたことで、結果として呼吸器疾患を重症化へ導いたのかもしれない。しかし、本研究では、部分 5'-UTR のみを解析して

おり、実際にリコンビネーションや変異を検証したわけではない。今後、カプシド領域と 5'-UTR の両方の領域を解析し、リコンビネーションや変異の有無を検出することで、リコンビネーションや変異の有無と病原性の関連について明らかにできるかもしれない。

フィリピンにおいては 6 月から 11 月までの雨季と 12 月から 5 月までの乾季との 2 つの季節が存在している⁷⁵⁾が、本研究ではこの季節の違いと RV 検出数の関連は明確にできなかった。RV 以外の呼吸器ウイルスも含む、呼吸器疾患全体としての季節性は、熱帯地域において、IFV と RSV に関しては、毎年季節性流行パターンを示すとされ¹³⁾、本研究においても、RSV の流行は雨季の初めころから乾季の初めころまで観察されており、IFV の流行は乾季の終わりから雨季の初めにかけて観察された。両者の流行は互いに重複することがなく、RSV と IFV と交互の流行を起こしている可能性があるが、明らかではない。2015 年終わりから 2016 年初めにかけての RV の流行では、RSV や IFV の検出数は少ない時期であったことから、他の呼吸器ウイルスとのすみわけも考えられるが、他の時期についてはその傾向が明らかではないことと、RV と他の呼吸器ウイルスの共検出は解析から除外しているために、RV 流行と他の呼吸器ウイルス流行との関連については明確にできなかった。

最後に、呼吸器疾患の重症度の評価方法について、今回は WHO の RSV 専門家グループによって提案された重症度判定の指標を用いた⁵²⁾。低中所得国の呼吸器疾患の重症度判定は一般に IMCI (Integrated Management of Child Illness)^{48, 53)}に基づき、重症肺炎や超重症肺炎と診断された場合に抗菌薬の使用と入院加療が行われる。しかし、あくまでこの IMCI は細菌性呼吸器疾患を念頭に置いた適正な抗菌薬使用を目的とした重症度判定であり、ウイルス性呼吸器疾患にそのまま適応することは適切ではない。また、呼吸器症状（咳嗽、鼻翼呼吸、陥没呼吸、喘鳴など）は肺炎のみで見られる症状ではなく、喘息をはじめとするアレルギー性疾患などの非感染性疾患でも同様にみられる症状である。すべての国のすべての医療機関で胸部レントゲンなどの画像診断を全症例に行うことはできないので、すべての地域のすべての医療機関で、誰にでもわかりやすく、適切な治療をおこなうための重症度判定方法が必要となる。本研究で用いた重症度の定義は RSV のみならず、RV や他の呼吸器疾患の重症度を判定するために有用であり、本研究のような大規模な疫学調査の結果は、さらなる詳細な解析を進めることで、ウイルス性の呼吸器疾患の重症度判定方法の設定に貢献をするだろう。

本研究の制限としては、まず一つ目に、RV が重症呼吸器疾患の病因ウイルスであるかである。今回の研究が非重症者と重症者の両方を含んだ解析ではあるが、医療機関を受診していない家庭内で起こった軽症者については解析に含まれていない。家庭内で起こった RV 陽性の症例が極端に多く含まれる場合は、重症者のなかから RV が高率に検出されたとしても、RV 陽性の重症例割合が低くなり、RV が重症呼吸器疾患の病因ウイルスであるかどうかの解釈が複雑になる。また、市中肺炎の原因として、約 60%がウイルス性で約 30%が細菌性であり⁵⁾、さらに、ウイルスと細菌との共検出については肺炎で入院加療が必要となった小児の 7%でウイルスと細菌の共検出が認められたと報告がある⁷⁶⁾。RV の先行感染によって、肺炎球菌やモラクセラ・カタラーシスなどの細菌による呼吸器疾患重症化を導くとの報告や⁷⁷⁾、RV は検出された症例のうち約 8%において血中から肺炎球菌が検出されたとの報告もある⁶⁵⁾。本研究においては、細菌について検査をしておらず、ウイルスと細菌との共感染についての検討はできていない。RV が本当の意味で重症呼吸器疾患の病因ウイルスであるかどうかを結論づけるためには、細菌との共感染の可能性も検討していかなければならないだろう。

二つ目の制限は、5'-UTR のみを用いた解析であることである。RV の分類は病原性を規定しているとされるカプシド領域、とくに VP1 の PCR とシーケンスの結果

によって行われることが一般的になってきており²⁶⁾、5'-UTR とカプシド領域の両者を合わせた解析を行うことで、血清型/遺伝子型と呼吸器症状の重症化の関わりやリコンビネーションの有無と呼吸器症状の重症化への影響について解明できるかもしれない。

VI. 結論

本研究では、フィリピンにおける5歳未満の呼吸器疾患患者から得られた呼吸器検体からRVを検出し、種やクレードごとに臨床症状の違いを比べて検討した。RV-C症例は他のRV-A症例やRV-B症例と比べて、喘鳴や陥没呼吸を認めやすく、重症と診断される割合も有意に高かった。さらに、5'-UTRに基づいた系統樹による分類では、RV-Cは、GAC1、A2、GAC2、RV-C(C)の4種類のクレードに分類でき、その中でGAC1症例はRV-A症例やRV-B症例と比べて重症であり、RV症例の呼吸器症状や重症度を評価する際には、RV全体として評価するのではなく、種ごとまたはクレードごとに解析して評価を行う必要がある。今後、解析数が増えることで、RV-Cの各クレードの持つ特徴がより明らかになり、さらにはカプシド領域も含めた解析を行うことで、RVにおけるリコンビネーションの役割の解明につながるだろう。

また、本研究において、重症呼吸器疾患のリスクとして、一次医療施設へのアクセスは良好であっても、入院可能な二次医療施設へのアクセスが不良であることが明らかになり、重症化する前に早めの医療機関受診を啓蒙し、的確な診断と適切な治療を行うことが、フィリピンをはじめとした低中所得国における重症呼吸器疾患の罹患率の低下・死亡率の低下に貢献する可能性がある。

VII. 参考文献

1. Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016;388(10063):3027-35. Epub 2016/11/15. doi: 10.1016/s0140-6736(16)31593-8. PubMed PMID: 27839855; PubMed Central PMCID: PMC5161777.
2. Palmenberg AC, Spiro D, Kuzmickas R, et al. Sequencing and analyses of all known human rhinovirus genomes reveal structure and evolution. *Science*. 2009;324(5923):55-9. doi: 10.1126/science.1165557. PubMed PMID: 19213880; PubMed Central PMCID: PMC3923423.
3. Pneumonia: World Health Organization; 2019 [cited 2020 15 Oct]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>.
4. Nguyen TK, Tran TH, Roberts CL, et al. Child pneumonia - focus on the Western Pacific Region. *Paediatr Respir Rev*. 2017;21:102-10. Epub 2016/08/30. doi: 10.1016/j.prrv.2016.07.004. PubMed PMID: 27569107; PubMed Central PMCID: PMC7106312.
5. O'Brien KL, Baggett HC, Brooks WA, et al. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *The Lancet*. 2019;394(10200):757-79. doi: 10.1016/s0140-6736(19)30721-4.
6. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *The Lancet*. 2017;390(10098):946-58. doi: 10.1016/s0140-6736(17)30938-8.

7. Sarna M, Lambert SB, Sloots TP, et al. Viruses causing lower respiratory symptoms in young children: findings from the ORChID birth cohort. *Thorax*. 2018;73(10):969-79. doi: 10.1136/thoraxjnl-2017-210233.
8. Gardinassi LG, Marques Simas PV, Salomão JB, et al. Seasonality of viral respiratory infections in southeast of Brazil: the influence of temperature and air humidity. *Braz J Microbiol*. 2012;43(1):98-108. Epub 2012/01/01. doi: 10.1590/s1517-838220120001000011. PubMed PMID: 24031808; PubMed Central PMCID: PMCPMC3768995.
9. Famoroti T, Sibanda W, Ndung'u T. Prevalence and seasonality of common viral respiratory pathogens, including Cytomegalovirus in children, between 0-5 years of age in KwaZulu-Natal, an HIV endemic province in South Africa. *BMC Pediatr*. 2018;18(1):240. Epub 2018/07/23. doi: 10.1186/s12887-018-1222-8. PubMed PMID: 30031377; PubMed Central PMCID: PMCPMC6054853.
10. Lee WM, Lemanske RF, Jr., Evans MD, et al. Human rhinovirus species and season of infection determine illness severity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186(9):886-91. doi: 10.1164/rccm.201202-0330OC. PubMed PMID: 22923659; PubMed Central PMCID: PMCPMC3530215.
11. S.MontoMD A. The seasonality of rhinovirus infections and its implications for clinical recognition. *Clin Ther*. 2002;24(12):1987-97.
12. Althouse BM, Flasche S, Minh LN, et al. Seasonality of respiratory viruses causing hospitalizations for acute respiratory infections in children in Nha Trang, Vietnam. *Int J Infect Dis*. 2018;75:18-25. doi: 10.1016/j.ijid.2018.08.001. PubMed PMID: 30118916.
13. Kamigaki T, Chaw L, Tan AG, et al. Seasonality of Influenza and Respiratory Syncytial Viruses and the Effect of Climate Factors in Subtropical-Tropical Asia Using Influenza-Like Illness Surveillance Data, 2010 -2012. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167712. Epub 2016/12/22.

doi: 10.1371/journal.pone.0167712. PubMed PMID: 28002419; PubMed Central PMCID: PMCPMC5176282.

14. Couch R. Rhinoviruses. In: Knipe D, Howley, PM, editor. Fields Virology. 1. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 531-49.

15. Palmenberg AC, Rathe JA, Liggett SB. Analysis of the complete genome sequences of human rhinovirus. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(6):1190-9; quiz 200-1. doi: 10.1016/j.jaci.2010.04.010. PubMed PMID: 20471068; PubMed Central PMCID: PMCPMC2893015.

16. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [cited 2020 15 October]. Available from: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201901995.

17. Andrewes CH, Chaproniere DM, Gompels AE, et al. Propagation of common-cold virus in tissue cultures. Lancet. 1953;265(6785):546-7. Epub 1953/09/12. doi: 10.1016/s0140-6736(53)90279-7. PubMed PMID: 13097995.

18. Conant RM, Hamparian VV. Rhinoviruses: basis for a numbering system. 1. HeLa cells for propagation and serologic procedures. J Immunol. 1968;100(1):107-13. Epub 1968/01/01. PubMed PMID: 4295059.

19. Conant RM, Hamparian VV. Rhinoviruses: basis for a numbering system. II. Serologic characterization of prototype strains. J Immunol. 1968;100(1):114-9. Epub 1968/01/01. PubMed PMID: 4295060.

20. Daryl Lamson NR, Vishal Kapoor, Zhiqiang Liu, Gustavo Palacios, Jingyue Ju, Amy Dean, Kirsten St. George, Thomas Briese, W. Ian Lipkin. MassTag Polymerase-Chain-Reaction Detection of Respiratory Pathogens, Including a New Rhinovirus Genotype, That

Caused Influenza-Like Illness in New York State during 2004–2005. *The Journal of Infectious Diseases*. 2006;194(10):1398-402. doi: 10.1086/508551.

21. Kistler A, Avila PC, Rouskin S, et al. Pan-viral screening of respiratory tract infections in adults with and without asthma reveals unexpected human coronavirus and human rhinovirus diversity. *J Infect Dis*. 2007;196(6):817-25. doi: 10.1086/520816. PubMed PMID: 17703411.
22. Lee WM, Kiesner C, Pappas T, et al. A diverse group of previously unrecognized human rhinoviruses are common causes of respiratory illnesses in infants. *PLoS One*. 2007;2(10):e966. doi: 10.1371/journal.pone.0000966. PubMed PMID: 17912345; PubMed Central PMCID: PMC1989136.
23. Kiang D, Kalra I, Yagi S, et al. Assay for 5' noncoding region analysis of all human rhinovirus prototype strains. *J Clin Microbiol*. 2008;46(11):3736-45. doi: 10.1128/JCM.00674-08. PubMed PMID: 18753359; PubMed Central PMCID: PMC1989136.
24. Bochkov YA, Palmenberg AC, Lee WM, et al. Molecular modeling, organ culture and reverse genetics for a newly identified human rhinovirus C. *Nat Med*. 2011;17(5):627-32. doi: 10.1038/nm.2358. PubMed PMID: 21483405; PubMed Central PMCID: PMC3089712.
25. Simmonds P, McIntyre C, Savolainen-Kopra C, et al. Proposals for the classification of human rhinovirus species C into genotypically assigned types. *J Gen Virol*. 2010;91(Pt 10):2409-19. doi: 10.1099/vir.0.023994-0. PubMed PMID: 20610666.
26. McIntyre CL, Knowles NJ, Simmonds P. Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types. *J Gen Virol*. 2013;94(Pt 8):1791-806. doi: 10.1099/vir.0.053686-0. PubMed PMID: 23677786; PubMed Central PMCID: PMC3749525.

27. Wisdom A, Kutkowska AE, McWilliam Leitch EC, et al. Genetics, recombination and clinical features of human rhinovirus species C (HRV-C) infections; interactions of HRV-C with other respiratory viruses. *PLoS One*. 2009;4(12):e8518. doi: 10.1371/journal.pone.0008518. PubMed PMID: 20041158; PubMed Central PMCID: PMC2794544.
28. McIntyre CL, McWilliam Leitch EC, Savolainen-Kopra C, et al. Analysis of Genetic Diversity and Sites of Recombination in Human Rhinovirus Species C. *J Virol*. 2010;84(19):10297-310. doi: 10.1128/jvi.00962-10.
29. Huang T, Wang W, Bessaud M, et al. Evidence of recombination and genetic diversity in human rhinoviruses in children with acute respiratory infection. *PLoS One*. 2009;4(7):e6355. doi: 10.1371/journal.pone.0006355. PubMed PMID: 19633719; PubMed Central PMCID: PMC2712091.
30. Jackson RJ, Kaminski A. Internal initiation of translation in eukaryotes: the picornavirus paradigm and beyond. *RNA*. 1995;1(10):985-1000. Epub 1995/12/01. PubMed PMID: 8595564; PubMed Central PMCID: PMC2712091.
31. Anderson EC, Hunt SL, Jackson RJ. Internal initiation of translation from the human rhinovirus-2 internal ribosome entry site requires the binding of Unr to two distinct sites on the 5' untranslated region. *J Gen Virol*. 2007;88(Pt 11):3043-52. doi: 10.1099/vir.0.82463-0. PubMed PMID: 17947529.
32. Gan W, LaCelle M, Rhoads RE. Functional characterization of the internal ribosome entry site of eIF4G mRNA. *J Biol Chem*. 1998;273(9):5006-12. Epub 1998/03/28. doi: 10.1074/jbc.273.9.5006. PubMed PMID: 9478948.
33. Monto AS, Cavallaro JJ. The Tecumseh study of respiratory illness. II. Patterns of occurrence of infection with respiratory pathogens, 1965-1969. *Am J Epidemiol*.

1971;94(3):280-9. Epub 1971/09/01. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a121321. PubMed PMID: 4328569.

34. Mackay IM. Human rhinoviruses: the cold wars resume. *J Clin Virol.* 2008;42(4):297-320. doi: 10.1016/j.jcv.2008.04.002. PubMed PMID: 18502684.

35. Fairchok MP, Martin ET, Chambers S, et al. Epidemiology of viral respiratory tract infections in a prospective cohort of infants and toddlers attending daycare. *J Clin Virol.* 2010;49(1):16-20. doi: 10.1016/j.jcv.2010.06.013. PubMed PMID: 20650679.

36. Juvén T, Mertsola J, Waris M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19(4):293-8. Epub 2000/04/27. doi: 10.1097/00006454-200004000-00006. PubMed PMID: 10783017.

37. Louie JK, Roy-Burman A, Guardia-Labar L, et al. Rhinovirus associated with severe lower respiratory tract infections in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(4):337-9. doi: 10.1097/INF.0b013e31818ffc1b. PubMed PMID: 19258921.

38. Mansbach JM, Piedra PA, Teach SJ, et al. Prospective multicenter study of viral etiology and hospital length of stay in children with severe bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012;166(8):700-6. doi: 10.1001/archpediatrics.2011.1669. PubMed PMID: 22473882; PubMed Central PMCID: PMC3394902.

39. Fuji N, Suzuki A, Lupisan S, et al. Detection of human rhinovirus C viral genome in blood among children with severe respiratory infections in the Philippines. *PLoS One.* 2011;6(11):e27247. doi: 10.1371/journal.pone.0027247. PubMed PMID: 22087272; PubMed Central PMCID: PMC3210775.

40. Lu X, Schneider E, Jain S, et al. Rhinovirus Viremia in Patients Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia. *J Infect Dis.* 2017;216(9):1104-11. doi:

10.1093/infdis/jix455. PubMed PMID: 28968668; PubMed Central PMCID: PMCPMC5724377.

41. Annamalay AA, Jroundi I, Bizzantino J, et al. Rhinovirus C is associated with wheezing and rhinovirus A is associated with pneumonia in hospitalized children in Morocco. *J Med Virol.* 2017;89(4):582-8. doi: 10.1002/jmv.24684. PubMed PMID: 27677921.

42. Furuse Y, Tamaki R, Suzuki A, et al. Epidemiological and clinical characteristics of children with acute respiratory viral infections in the Philippines: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2020. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.017. PubMed PMID: 32950713.

43. Miller EK, Lu X, Erdman DD, et al. Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. *J Infect Dis.* 2007;195(6):773-81. doi: 10.1086/511821. PubMed PMID: 17299706.

44. Martin ET, Kuypers J, Chu HY, et al. Heterotypic infection and spread of Rhinovirus A, B, and C among child care attendees. *J Infect Dis.* 2018. doi: 10.1093/infdis/jiy232. PubMed PMID: 29684211.

45. Martin ET, Fairchok MP, Stednick ZJ, et al. Epidemiology of multiple respiratory viruses in childcare attendees. *J Infect Dis.* 2013;207(6):982-9. doi: 10.1093/infdis/jis934. PubMed PMID: 23288925.

46. Furuse Y, Tamaki R, Okamoto M, et al. Association Between Preceding Viral Respiratory Infection and Subsequent Respiratory Illnesses Among Children: A Prospective Cohort Study in the Philippines. *J Infect Dis.* 2019;219(2):197-205. doi: 10.1093/infdis/jiy515. PubMed PMID: 30189092; PubMed Central PMCID: PMCPMC6306022.

47. Population of Region VIII - Central Visayas (Based on the 2015 Census of Population). Philippine Statistics Authority.; 2016 [cited 2020 15th Oct]. Available from:

<https://psa.gov.ph/content/population-region-viii-eastern-visayas-based-2015-census-population>.

48. Handbook : IMCI integrated management of childhood illness: World Health Organization; 2005 [cited 2020 15th Oct]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42939>.
49. Dembele BPP KT, Dapat C, Tamaki R, Saito M, Saito M, Okamoto M, Igoy MAU, Mercado ES, Mondoy M, Tallo VL, Lupisan SP, Egawa S, Oshitani H. Aetiology and risks factors associated with the fatal outcomes of childhood pneumonia among hospitalised children in the Philippines from 2008 to 2016: a case series study. *BMJ Open*. 2019;9(3):e026895. doi: 10.1136/bmjopen-2018-026895. PubMed Central PMCID: PMC6475207.
50. Kiang D, Yagi S, Kantardjieff KA, et al. Molecular characterization of a variant rhinovirus from an outbreak associated with uncommonly high mortality. *J Clin Virol*. 2007;38(3):227-37. doi: 10.1016/j.jcv.2006.12.016. PubMed PMID: 17276135.
51. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*. 2016;33(7):1870-4. doi: 10.1093/molbev/msw054.
52. Modjarrad K, Giersing B, Kaslow DC, et al. WHO consultation on Respiratory Syncytial Virus Vaccine Development Report from a World Health Organization Meeting held on 23-24 March 2015. *Vaccine*. 2016;34(2):190-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.05.093. PubMed PMID: 26100926.
53. Technical bases for the WHO recommendations on the management of pneumonia in children at first-level health facilities.: World Health Organization; 1991 [cited 2020 15 October]. Available from: https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/ari_91_20/en/.

54. R: A Language and Environment for Statistical Computing. In: Team RC, editor. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2019.
55. Tsagarakis NJ, Sideri A, Makridis P, et al. Age-related prevalence of common upper respiratory pathogens, based on the application of the FilmArray Respiratory panel in a tertiary hospital in Greece. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(22):e10903. doi: 10.1097/MD.00000000000010903. PubMed PMID: 29851817; PubMed Central PMCID: PMC6392546.
56. Benet T, Sanchez Picot V, Messaoudi M, et al. Microorganisms Associated With Pneumonia in Children <5 Years of Age in Developing and Emerging Countries: The GABRIEL Pneumonia Multicenter, Prospective, Case-Control Study. *Clin Infect Dis*. 2017;65(4):604-12. doi: 10.1093/cid/cix378. PubMed PMID: 28605562; PubMed Central PMCID: PMC7108107.
57. Ueno F, Tamaki R, Saito M, et al. Age-specific incidence rates and risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory tract illness in cohort children under 5 years old in the Philippines. *Influenza Other Respi Viruses*. 2019;13(4):339-53. doi: 10.1111/irv.12639.
58. Loeffelholz MJ, Trujillo R, Pyles RB, et al. Duration of Rhinovirus Shedding in the Upper Respiratory Tract in the First Year of Life. *Pediatrics*. 2014;134(6):1144-50. doi: 10.1542/peds.2014-2132.
59. Principi N, Zampiero A, Gambino M, et al. Prospective evaluation of rhinovirus infection in healthy young children. *J Clin Virol*. 2015;66:83-9. doi: 10.1016/j.jcv.2015.03.013. PubMed PMID: 25866344.
60. Pneumonia: World Health Organization; 2019 [cited 2020 15th Dec]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact->

[sheets/detail/pneumonia#:~:text=Pneumonia%20is%20the%20single%20largest,children%20under%20five%20years%20old.](#)

61. Peltola V, Waris M, Osterback R, et al. Rhinovirus transmission within families with children: incidence of symptomatic and asymptomatic infections. *J Infect Dis.* 2008;197(3):382-9. doi: 10.1086/525542. PubMed PMID: 18248302.
62. Monto AS, Ross H. Acute respiratory illness in the community: effect of family composition, smoking, and chronic symptoms. *Br J Prev Soc Med.* 1977;31(2):101-8. Epub 1977/06/01. doi: 10.1136/jech.31.2.101. PubMed PMID: 884394; PubMed Central PMCID: PMC479004.
63. Sonogo M, Pellegrin MC, Becker G, et al. Risk factors for mortality from acute lower respiratory infections (ALRI) in children under five years of age in low and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *PLoS One.* 2015;10(1):e0116380. doi: 10.1371/journal.pone.0116380. PubMed PMID: 25635911; PubMed Central PMCID: PMC4312071.
64. Miller EK, Williams JV, Gebretsadik T, et al. Host and viral factors associated with severity of human rhinovirus-associated infant respiratory tract illness. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(4):883-91. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.041.
65. Baillie VL, Moore DP, Mathunjwa A, et al. Molecular Subtyping of Human Rhinovirus in Children from Three Sub-Saharan African Countries. *J Clin Microbiol.* 2019;57(9). doi: 10.1128/JCM.00723-19. PubMed PMID: 31270180; PubMed Central PMCID: PMC6711929.
66. Uncapher CR, DeWitt CM, Colonno RJ. The major and minor group receptor families contain all but one human rhinovirus serotype. *Virology.* 1991;180(2):814-7. Epub 1991/02/01. doi: 10.1016/0042-6822(91)90098-v. PubMed PMID: 1846502.

67. Hofer F, Gruenberger M, Kowalski H, et al. Members of the low density lipoprotein receptor family mediate cell entry of a minor-group common cold virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(5):1839-42. Epub 1994/03/01. doi: 10.1073/pnas.91.5.1839. PubMed PMID: 8127891; PubMed Central PMCID: PMC43259.
68. Bonnelykke K, Sleiman P, Nielsen K, et al. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations. *Nat Genet*. 2014;46(1):51-5. doi: 10.1038/ng.2830. PubMed PMID: 24241537.
69. Bochkov YA, Gern JE. Rhinoviruses and Their Receptors: Implications for Allergic Disease. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(4):30. doi: 10.1007/s11882-016-0608-7. PubMed PMID: 26960297; PubMed Central PMCID: PMC4854667.
70. Megremis S, Niespodziana K, Cabauatan C, et al. Rhinovirus Species-Specific Antibodies Differentially Reflect Clinical Outcomes in Health and Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(12):1490-9. doi: 10.1164/rccm.201803-0575OC. PubMed PMID: 30134114; PubMed Central PMCID: PMC7212800.
71. Gromeier M, Alexander L, Wimmer E. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(6):2370-5. Epub 1996/03/19. doi: 10.1073/pnas.93.6.2370. PubMed PMID: 8637880; PubMed Central PMCID: PMC39803.
72. Rinehart JE, Gómez RM, Roos RP. Molecular determinants for virulence in coxsackievirus B1 infection. *J Virol*. 1997;71(5):3986-91. Epub 1997/05/01. doi: 10.1128/jvi.71.5.3986-3991.1997. PubMed PMID: 9094675; PubMed Central PMCID: PMC191550.
73. Yeh MT, Wang SW, Yu CK, et al. A single nucleotide in stem loop II of 5'-untranslated region contributes to virulence of enterovirus 71 in mice. *PLoS One*. 2011;6(11):e27082. doi:

10.1371/journal.pone.0027082. PubMed PMID: 22069490; PubMed Central PMCID: PMCPMC3206083.

74. Tan Y, Hassan F, Schuster JE, et al. Molecular Evolution and Intraclade Recombination of Enterovirus D68 during the 2014 Outbreak in the United States. *J Virol.* 2016;90(4):1997-2007. doi: 10.1128/JVI.02418-15. PubMed PMID: 26656685; PubMed Central PMCID: PMCPMC4733988.

75. The GOV.PH [cited 2020 15 Oct]. Available from: <https://www.gov.ph/>.

76. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Children. *N Engl J Med.* 2015;372(9):835-45. doi: 10.1056/NEJMoa1405870.

77. Kloepfer KM, Lee WM, Pappas TE, et al. Detection of pathogenic bacteria during rhinovirus infection is associated with increased respiratory symptoms and asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(5):1301-7, 7 e1-3. doi: 10.1016/j.jaci.2014.02.030. PubMed PMID: 24698319; PubMed Central PMCID: PMCPMC4047978.

78. Heim A, Ebnet C, Harste G, et al. Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol.* 2003;70(2):228-39. Epub 2003/04/16. doi: 10.1002/jmv.10382. PubMed PMID: 12696109.

79. Suzuki A, Lupisan S, Furuse Y, et al. Respiratory viruses from hospitalized children with severe pneumonia in the Philippines. *BMC Infect Dis.* 2012;12:267. Epub 2012/10/25. doi: 10.1186/1471-2334-12-267. PubMed PMID: 23092190; PubMed Central PMCID: PMCPMC3519714.

80. Malasao R, Okamoto M, Chaimongkol N, et al. Molecular Characterization of Human Respiratory Syncytial Virus in the Philippines, 2012-2013. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142192.

Epub 2015/11/06. doi: 10.1371/journal.pone.0142192. PubMed PMID: 26540236; PubMed Central PMCID: PMC4635013.

81. Bonroy C, Vankeerberghen A, Boel A, et al. Use of a multiplex real-time PCR to study the incidence of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus infections during two winter seasons in a Belgian paediatric hospital. *Clin Microbiol Infect*.

2007;13(5):504-9. Epub 2007/02/01. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01682.x. PubMed PMID: 17263836; PubMed Central PMCID: PMC7162220.

82. Sato M, Saito R, Sakai T, et al. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus infections among children with acute respiratory symptoms in a community over three seasons. *J Clin Microbiol*. 2005;43(1):36-40. Epub 2005/01/07. doi: 10.1128/jcm.43.1.36-40.2005. PubMed PMID: 15634948; PubMed Central PMCID: PMC540122.

83. Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, et al. Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community. *J Gen Virol*. 1998;79 (Pt 9):2221-9. Epub 1998/09/25. doi: 10.1099/0022-1317-79-9-2221. PubMed PMID: 9747732.

84. Matsuzaki Y, Takashita E, Okamoto M, et al. Evaluation of a new rapid antigen test using immunochromatography for detection of human metapneumovirus in comparison with real-time PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2009;47(9):2981-4. Epub 2009/07/03. doi:

10.1128/jcm.00321-09. PubMed PMID: 19571031; PubMed Central PMCID: PMC2738101.

85. Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, et al. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *J Virol Methods*. 2005;126(1-2):53-63. Epub 2005/04/26. doi: 10.1016/j.jviromet.2005.01.020. PubMed PMID: 15847919; PubMed Central PMCID: PMC7112904.

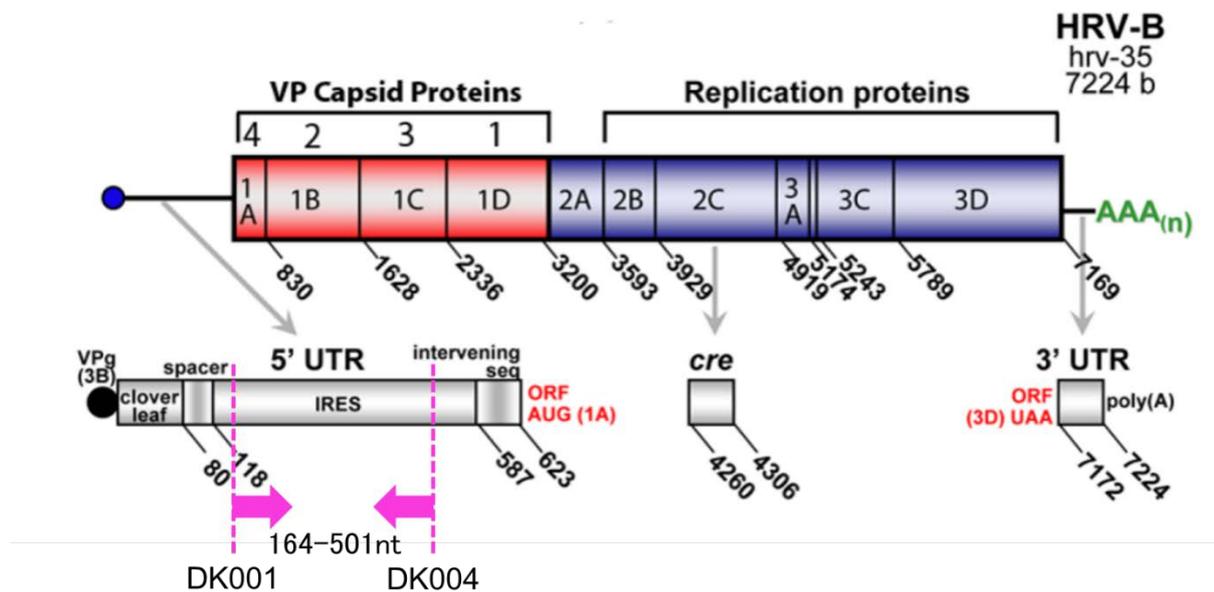
86. National Institute for Infectious Diseases. Influenza Diagnosis Manual [Japanese].

National Institute for Infectious Diseases. ; 2019 [cited 2020 15 Oct]. Available from:

<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza20190116.pdf>.

VIII. 図、表

図1. ライノウイルスのゲノム構造 (Palmenberg et.al 2010)



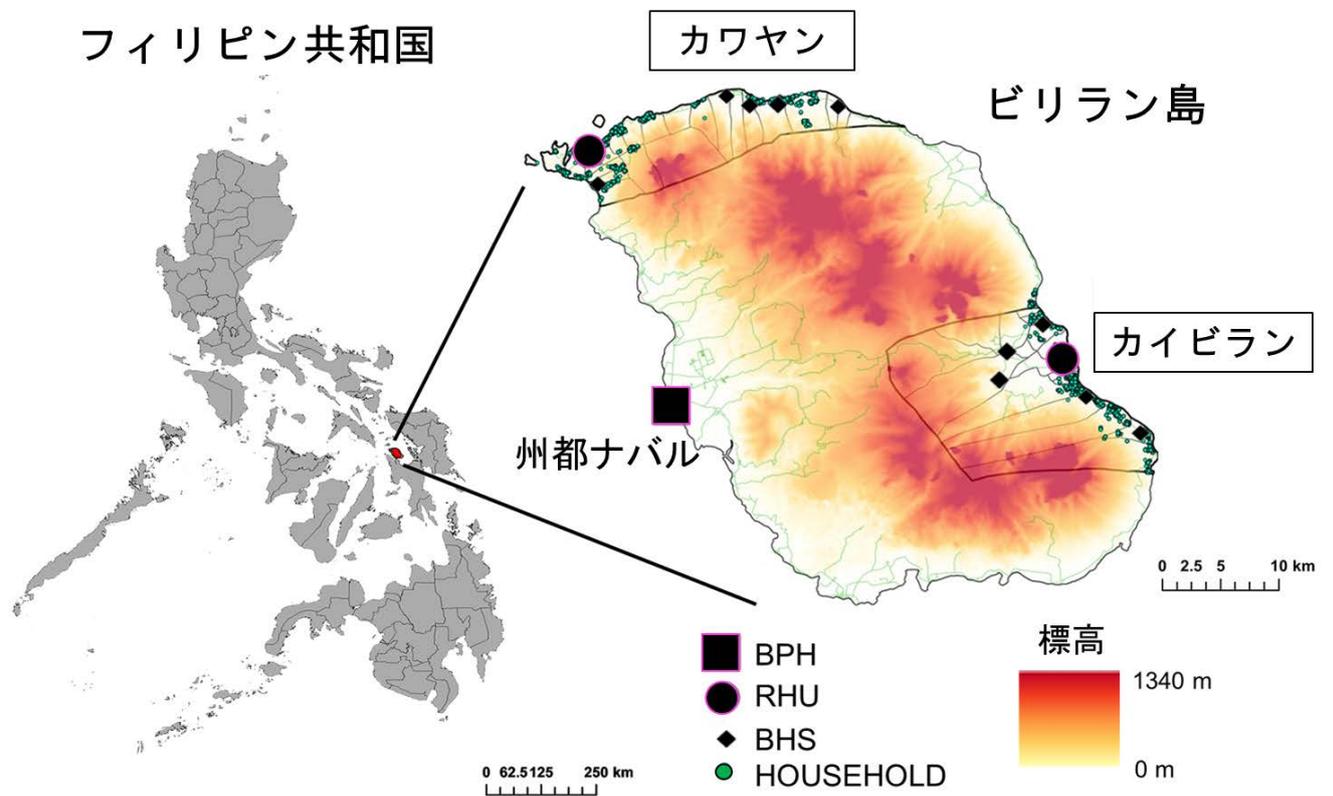
RV ゲノムは、5'-および 3'-UTR と、1 つのタンパク質をコードする単一のオープンリーディングフレームで構成される。このタンパク質はのちに切断されて、カプシド (VP4-VP1) やウイルス複製に必要な 11 のウイルスタンパクを形成する。

DK001 と DK004 は 5'-UTR の一部をターゲットとしたプライマーで、およそ 164-501 番塩基の領域を増幅する。

略語：HRV, Human Rhinovirus; UTR, Untranslated region; VP, Viral Protein; IRES, Internal ribosome entry site; cre, *cis*-acting replication element; ORF, open reading frame

図2. フィリピン共和国東ビサヤ地方ビリラン州ビリラン島の地図と医療施設の配置

置 (Kosai et al. 2015 より改変)



略語 : BPH, Biliran provincial hospital; RHU, rural health unit; BHS, barangay health station.

表 1. ウイルスの検出、亜型/種の決定に用いたプライマーとプローブ

ウイルス	方法	遺伝子領域	名称	遺伝子配列 (5'-3')	参考文献
AdV	rt-PCR	Hexon	AQ2	GCCCCAGTGGTCTTACATGCACATC	Heim(2003) ⁷⁸⁾
			AQ1	GCCACGGTGGGGTTTCTA-AACTT	
			AP	FAM-TGCACCAGACCCGGGCTCAGGTACTIONCCGA-TAMRA	
EV/RV	PCR/シーケンス	5'-UTR	DK001	CAAGCACTTCTGTTTCCC	Suzuki(2012) ⁷⁹⁾
			DK004	CACGGACACCCAAAGTAGT	(Kiang ^{23, 50)} より改変)
RSV	Multiplex rt-PCR (with MPV)	N		GCTCTTAGCAAAGTCAAGTTRAATGATACA	Malasao(2015) ⁸⁰⁾
				GTTTTYTGACATCATAATTRGGAGT	(Bonroy(2007) ⁸¹⁾ より改変)
				VIC-CTRTCATCCAGCAAATAYACYATCCAACGKAGYACAGG-MGB	
	Heminested PCR/ シーケンス	G	GPA	GAAGTGTTCAACTTTGTACC	Sato(2005) ⁸²⁾
			nRSAG	TATGCAGCAACAATCCAACC	(Peret(1998) ⁸³⁾ より改変)
			F1	CAACTCCATTGTTATTTGCC	
			GPB	AAGATGATTACCATTTTGAAGT	
	nRSBG	GTGGCAACAATCAACTCTGC			
	F1	CAACTCCATTGTTATTTGCC			
MPV	Multiplex rt-PCR (with RSV)	N		CATATAAGCATGCTATATTTAAAGAGTCTCA	Matsuzaki(2009) ⁸⁴⁾
				CCTATYCTGCAGCATATTTGTAATCA G	(Bonroy(2007) ⁸¹⁾ より改変)
				FAM-CAACHGCAGTRACACCYTCATCATTRCA-BHQ1*	* ⁸⁴⁾ より当研究室で改変

PIV-1	Multiplex PCR	HN	PIS1+	CCGGTAATTTCTCATACCTATG	Bellau-Pujol(2005) ⁸⁵⁾
			PIS1-	CCTTGGAGCGGAGTTGTTAAG	
PIV-2		HN	PIP2+	AACAATCTGCTGCAGCATTT	
			PIP2-	ATGTCAGACAATGGGCAAAT	
PIV-3		HN	Para3.1	CTCGAGGTTGTCAGGATATAG	
			Para3.2	CTTTGGGAGTTGAACACAGTT	
PIV-4		P	PIP4+	CCTGAACGGTTGCAYTCAGG	
			PIP4-	TTGCATCAAGAATGAGTCCT**	** ⁸⁵⁾ より当研究室で改変
<hr/>					
IFV-A			NIID-swH1		NIID(2019) ⁸⁶⁾
(H1N1pdm)	rt-PCR	HA	TMPrimer-		
			F1	AGAAAAGAATGTAACAGTAACACACTCTGT	
			NIID-swH1		
			TMPrimer-		
			R1	TGTTTCCACAATGTARGACCAT	
			NIID-swH1		
			Probe2	FAM-CAGCCAGCAATRTTRCATTACC-MGB	
			NIID-H3		
IFV-			TMPrimer-		
A(H3N2)	rt-PCR	HA	F1	CTATTGGACAATAGTAAAACCGGGRGA	
			NIID-H3		
			TMPrimer-		
			R1	GTCATTGGGRATGCTTCCATTTGG	
			NIID-H3		
			Probe1	FAM-AAGTAACCCCKAGGAGCAATTAG-MGB	

IFV-B	rt-PCR	NS	NIID-TypeB
			TMPrimer-
			F1 GGAGCAACCAATGCCAC
			NIID-TypeB
			TMPrimer-
			R1 GTKTAGGCGGTCTTGACCAG
			NIID-TypeB
			Probe1 FAM-ATAAACTTTGAAGCAGGAAT-MGB

略語：PCR, polymerase chain reaction; rt-PCR, real-time polymerase chain reaction; AdV, Adenovirus; RV, Rhinovirus; EV, Enterovirus; RSV, Respiratory syncytial virus; MPV, Human metapneumovirus; PIV, Parainfluenza virus; IFV, Influenza virus; NIID, National Institute of Infectious Diseases.

表 2. 解析に用いた参考配列

血清型/遺伝子型	アクセッション番号	血清型/遺伝子型	アクセッション番号
A001	FJ445111.1	A024	FJ445190.1
A001	JN815255.1	A024	JN798563.1
A001	D00239.1	A024	EF173416.1
A002	X02316.1	A025	FJ445123.1
A007	FJ445176.1	A028	JQ747751.1
A007	DQ473503.1	A028	DQ473508.1
A008	FJ445170.1	A029	FJ445125.1
A008	FJ445113.1	A029	DQ473499.1
A009	FJ445114.1	A030	FJ445179.1
A009	FJ445115.1	A030	DQ473512.1
A009	FJ445177.1	A031	FJ445126.1
A010	FJ445178.1	A032	FJ445127.1
A010	JN798575.1	A033	FJ445128.1
A010	JN798582.1	A034	FJ445189.1
A010	JN815247.1	A034	DQ473501.1
A010	DQ473498.1	A036	JN614994.1
A011	EF173414.1	A036	JN621243.1
A012	EF173415.1	A036	JN798584.1
A013	FJ445117.1	A036	JN815241.1
A013	FJ445116.1	A036	JX074050.1
A015	JN541268.1	A036	DQ473505.1
A015	DQ473493.1	A038	FJ445180.1
A016	JN562722.1	A038	JQ994496.1
A016	JN614992.1	A038	DQ473495.1
A016	JN798564.1	A036	AY751783.1
A016	JN798574.1	A040	JN798579.1
A016	JN815253.1	A040	JX074051.1
A016	JN990704.1	A040	FJ445129.1
A016	JX074057.1	A041	DQ473491.1
A016	L24917.1	A043	JN815237.1
A018	JF781496.1	A043	FJ445131.1
A018	FJ445118.1	A045	FJ445132.1
A019	JQ747746.1	A046	DQ473506.1
A019	JQ747750.1	A047	GQ223229.1
A019	FJ445119.1	A047	JN837692.1
A020	JN614993.1	A047	FJ445133.1
A020	FJ445120.1	A049	FJ445134.1
A021	JN837693.1	A049	JN621241.1
A021	FJ445121.1	A049	JN798561.1
A022	FJ445122.1	A049	JN798589.1
A023	JN815254.1	A049	DQ473496.1
A023	JN837696.1	A050	FJ445135.1
A023	DQ473497.1	A051	FJ445136.1

血清型/遺伝子型	アクセッション番号	血清型/遺伝子型	アクセッション番号
A053	JN798587.1	A080	FJ445156.1
A053	DQ473507.1	A081	FJ445158.1
A054	FJ445139.1	A081	FJ445159.1
A054	FJ445173.1	A081	FJ445157.1
A054	FJ445138.1	A082	FJ445160.1
A055	JQ837718.1	A082	JN798556.1
A055	DQ473511.1	A082	JN798585.1
A056	EU840727.1	A082	JQ837722.1
A056	FJ445140.1	A082	DQ473509.1
A057	FJ445141.1	A088	DQ473504.1
A058	JX025558.1	A089	FJ445165.1
A058	FJ445142.1	A089	FJ445166.1
A059	JN541266.1	A089	FJ445184.1
A059	DQ473500.1	A089	JQ837716.1
A060	FJ445143.1	A089	JQ837719.1
A061	JN798560.1	A089	M16248.1
A061	FJ445144.1	A090	FJ445167.1
A062	FJ445145.1	A094	FJ445185.1
A063	FJ445146.1	A094	EF173419.1
A064	FJ445181.1	A096	FJ445171.1
A064	EF173417.1	A100	FJ445175.1
A065	JF781504.1	A101	GQ415052.1
A065	FJ445147.1	A101	GQ415051.1
A066	JN112340.1	A102	EF155421.1
A066	JQ837715.1	A103	JQ747749.1
A066	FJ445148.1	A103	JF965515.1
A067	FJ445149.1	A104	JX193797.1
A068	JN798578.1	A105	JN614995.1
A068	FJ445150.1	B037	EF173423.1
A071	FJ445152.1	B042	JF781507.1
A073	DQ473492.1	B042	JN562724.1
A074	DQ473494.1	B042	FJ445130.1
A075	JF781503.1	B048	JN990698.1
A075	JN837690.1	B048	DQ473488.1
A075	DQ473510.1	B052	FJ445188.1
A076	FJ445182.1	B052	EF173424.1
A076	JX074049.1	B069	FJ445151.1
A076	DQ473502.1	B070	DQ473489.1
A077	FJ445154.1	B072	JN614997.1
A078	EF173418.1	B072	JN798562.2
A078	FJ445183.1	B072	FJ445153.1
A080	JN798576.1	B079	FJ445155.1
A080	JN990705.1	B083	FJ445161.1
A106	JX025555.1	B084	JX074048.1
B003	EF173422.1	B084	FJ445162.1

血清型/遺伝子型	アクセッション番号	血清型/遺伝子型	アクセッション番号
B003	DQ473485.1	C022	JN621242.1
B004	DQ473490.1	C023	KJ675506.1
B005	FJ445112.1	C025	JF317013.1
B006	DQ473486.1	C026	HM581808.1
B014	K02121.1	C032	JN798581.1
B014	L05355.1	C032	JQ994498.1
B014	X01087.1	C036	JN541267.1
B017	EF173420.1	C039	JN205461.1
B026	FJ445124.1	C041	JN798565.1
B027	FJ445186.1	C042	JQ994500.1
B027	EF173421.1	C043	JX074056.1
B035	FJ445187.1	C045	JN837686.2
B086	FJ445164.1	C051	JF317015.1
B091	FJ445168.1	EVD070	D00820.1
B092	FJ445169.1		
B093	EF173425.1		
B097	FJ445172.1		
B099	FJ445174.1		
B102	JX074053.1		
B103	JN798572.1		
B104	FJ445137.1		
C001	EF077279.1		
C002	JQ245968.2		
C002	EF077280.1		
C003	EF186077.2		
C004	EF582385.1		
C005	EF582386.1		
C006	JF317016.1		
C006	JN990702.1		
C006	EF582387.1		
C007	JN837689.1		
C007	DQ875932.2		
C008	GQ223227.1		
C009	GQ223228.1		
C010	GQ323774.1		
C011	EU840952.2		
C012	JF317017.1		
C015	GU219984.1		
C015	JF317014.1		
C015	JN837688.1		

表 3.重症度の定義方法

気道疾患	下気道疾患	重症下気道疾患
咳嗽 または 呼吸苦	頻呼吸 <ul style="list-style-type: none"> ・ ≥ 60 回/分以上(2 か月未満) ・ ≥ 50 回/分以上(2-11 か月) ・ ≥ 40 回/分以上(1-4 歳) 	下気道疾患 かつ 陥没呼吸 または $SpO_2 < 93\%$
鼻かぜ	または	超重症下気道疾患
鼻風邪症状 (鼻汁または鼻閉) があるが、 咳嗽や呼吸苦はない	$SpO_2 < 95\%$	下気道疾患 かつ 飲水困難 または 傾眠傾向 または 意識混濁 または $SpO_2 < 90\%$

非重症例は、鼻かぜのみ、気道疾患、下気道疾患を含む。

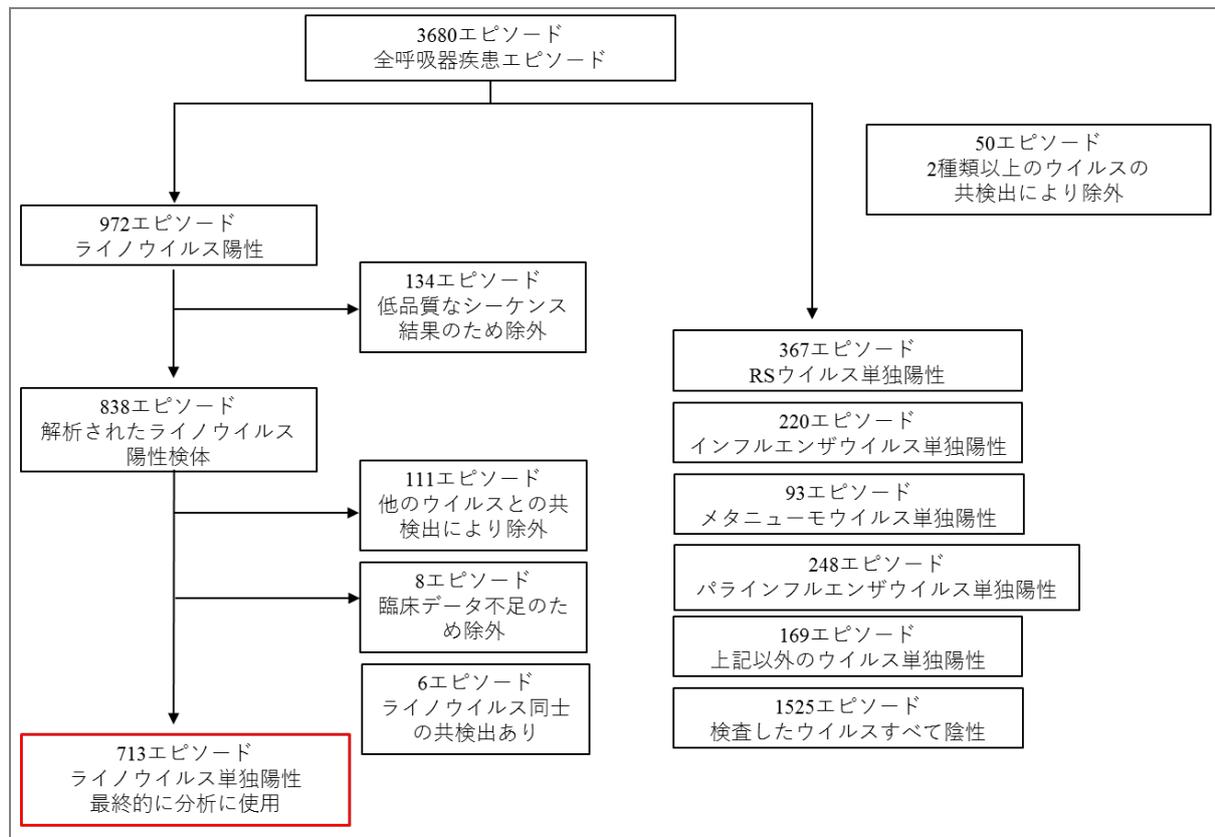
重症例は、重症下気道疾患、超重症下気道疾患を含む。

SpO_2 測定が酸素投与後の場合は、 $SpO_2 < 95\%$ と同等と評価し、重症度は「定義不能

下気道疾患」とした。

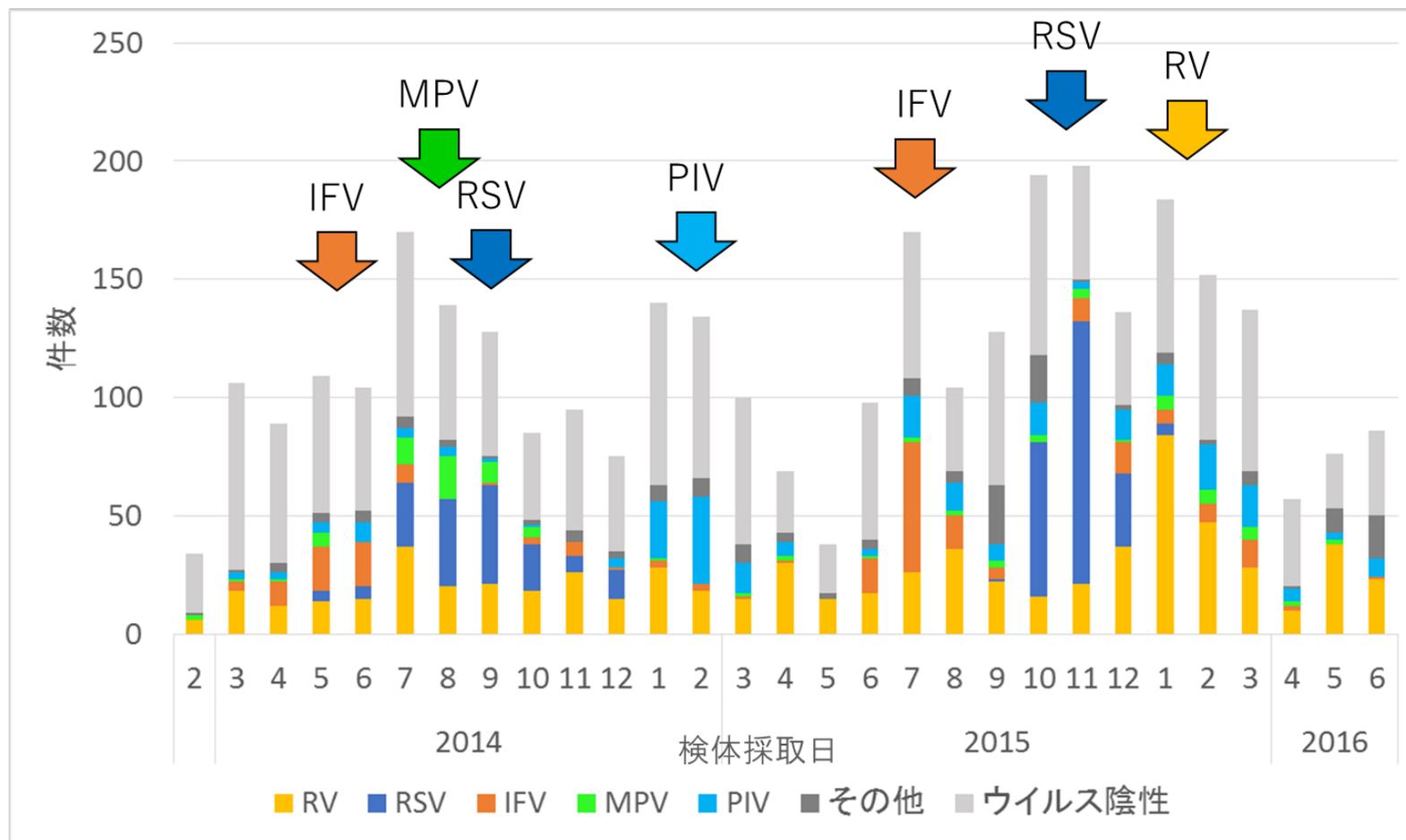
略語： SpO_2 , percutaneous oxygen saturation (経皮的動脈血酸素飽和度)

図 3. 研究参加者のフローチャート



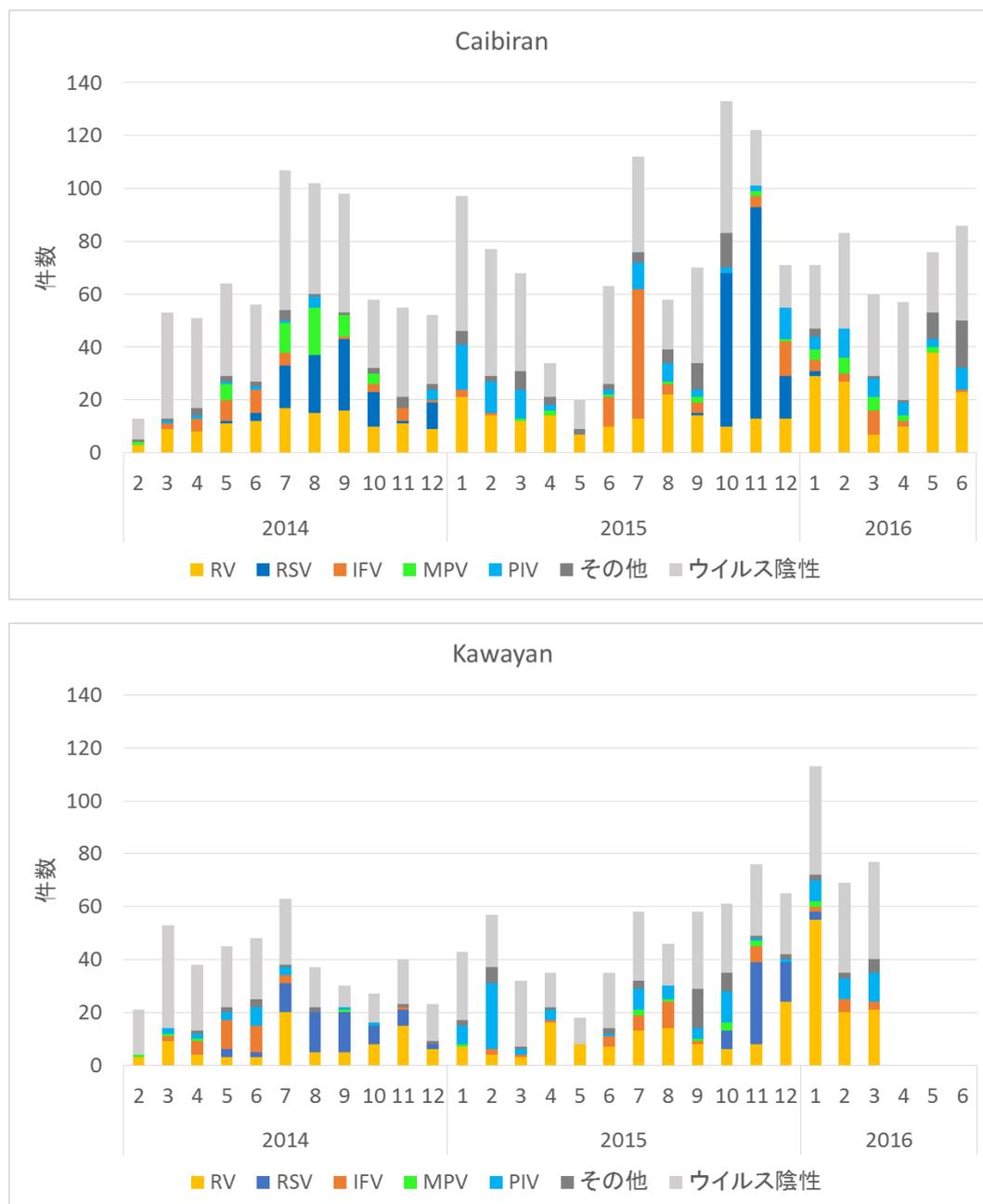
2014年2月から2016年6月まで行われた、フィリピン東ビサヤ州ビリラン島における、5歳未満の呼吸器疾患小児患者を対象とした前向きコホート研究をもとにした症例研究。

図4. フィリピン、ビランにおける2014年2月から2016年6月の呼吸器ウイルスの流行曲線



略語：RV, Rhinovirus; RSV, Respiratory syncytial virus; MPV, Human metapneumovirus; IFV, Influenza virus; PIV, Parainfluenza virus

図 5. 居住する地域ごとの各ウイルスの流行曲線



略語：RV, Rhinovirus; RSV, Respiratory syncytial virus; IFV, Influenza virus; MPV,

Human metapneumovirus; PIV, Parainfluenza virus

表 4.検出されたウイルス症例ごとの患者背景と臨床症状、重症度

患者背景と臨床症状	TOTAL	RV	RSV	IFV	MPV	PIV	その他	Negative
	N = 3335	N = 713	N = 367	N = 220	N = 93	N = 248	N = 169	N = 1525
月齢 — 中央値 [四分位範囲]	21 [10-36]	17 [8-31]	19 [10-32]	29 [14-45]**	22 [10-37]*	19[10-34]**	23[12-39]*	23 [12-39]**
性別 — 男児/女児	1726/1609 (51.8/48.2)	386/327 (54.1/45.9)	185/182 (50.4/49.6)	126/94 (57.3/42.7)	47/46 (50.5/49.5)	81/88 (47.9/52.1)	780/745 (51.1/48.9)	780/745 (51.1/48.9)
居住地域 — カイビラン/カワヤン	2067/1268 (62.0/38.0)	418/295 (58.6/41.4)	250/117 ** (68.1/31.9)	147/73 * (66.8/33.2)	77/16 ** (82.8/17.2)	109/60 (64.5/35.5)	934/591 (61.2/38.8)	934/591 (61.2/38.8)
発熱 (≥ 37.5°C) — はい (%)	738 (22.1)	91 (12.8)	142 (38.8)**	80 (36.4)**	32 (34.4)**	58 (34.3)*	289 (19.0)**	289 (19.0)**
SpO ₂ < 95% — はい (%)	543 (16.3)	114 (16.0)	110 (30.0)**	25 (11.4)	21 (22.6)	25 (14.8)	211 (13.8)	211 (13.8)
咳嗽 — はい (%)	3087 (92.6)	646 (90.6)	362 (98.6)**	194 (88.2)	92 (98.9)*	140 (82.8)**	1410 (92.5)**	1410 (92.5)
鼻汁または鼻閉 — はい (%)	3045 (91.3)	679 (95.2)	355 (96.7)	204 (92.7)	87 (93.5)	157 (92.9)	1335 (87.5)	1335 (87.5)**
頻呼吸 — はい (%)	1386 (41.6)	290 (40.7)	235 (64.0)**	90 (40.9)	47 (50.5)	79 (46.7)**	534 (35.0)	534 (35.0)*
呼吸苦 — はい (%)	385 (11.5)	100 (14.0)	82 (22.3)**	8 (3.6)**	18 (19.4)	14 (8.3)	145 (9.5)	145 (9.5)**
鼻翼呼吸 — はい (%)	190 (5.7)	36 (5.0)	43 (11.7)**	8 (3.6)	7 (7.5)	16 (9.5)	59 (3.9)*	59 (3.9)
陥没呼吸 — はい (%)	240 (7.2)	57 (8.0)	62 (16.9)**	9 (4.1)	6 (6.5)	14 (8.3)	73 (4.8)	73 (4.8)**
呼吸音減弱 — はい (%)	48 (1.4)	10 (1.4)	9 (2.5)	3 (1.4)	0 (0.0)	1 (0.6)	22 (1.4)	22 (1.4)
ラ音 — はい (%)	1362 (40.8)	280 (39.3)	213 (58.0)**	65 (29.5)*	54 (58.1)**	67 (39.6)	585 (38.4)	585 (38.4)
喘鳴 — はい (%)	628 (18.8)	149 (20.9)	103 (28.1)*	29 (13.2)*	15 (16.1)	30 (17.8)	253 (16.6)	253 (16.6)*
無呼吸エピソード — はい (%)	1 (0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	1 (0.1)
中枢性チアノーゼ — はい (%)	2 (0.1)	1 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	1 (0.1)

飲水困難— はい (%)	29 (0.9)	3 (0.4)	8 (2.2)*	2 (0.9)	3 (3.2)*	1 (0.6)	8 (0.5)	8 (0.5)
傾眠傾向— はい (%)	5 (0.1)	2 (0.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.1)	2 (0.1)
重症度分類— エピソード数 (%)								
鼻かぜ	242 (7.3)	66 (9.3)	5 (1.4)	26 (11.8)	1 (1.1)	5 (2.0)	29 (17.2)	110 (7.2)
気道疾患	1584 (47.5)	327 (45.9)	107 (29.2)	101 (45.9)	41 (44.1)	118 (47.6)	69 (40.8)	821 (53.8)
下気道疾患	1055 (31.6)	218 (30.6)	154 (42.0)	70 (31.8)	35 (37.6)	92 (37.1)	51 (30.2)	435 (28.5)
重症下気道疾患	210 (6.3)	53 (7.4)	51 (13.9)	10 (4.5)	6 (6.5)	17 (6.9)	8 (4.7)	65 (4.3)
超重症下気道疾患	65 (1.9)	12 (1.7)	13 (3.5)	4 (1.8)	1 (1.1)	4 (1.6)	2 (1.2)	29 (1.9)
定義不能下気道疾患	179 (5.4)	37 (5.2)	37 (10.1)	9 (4.1)	9 (9.7)	12 (4.8)	10 (5.9)	65 (4.3)

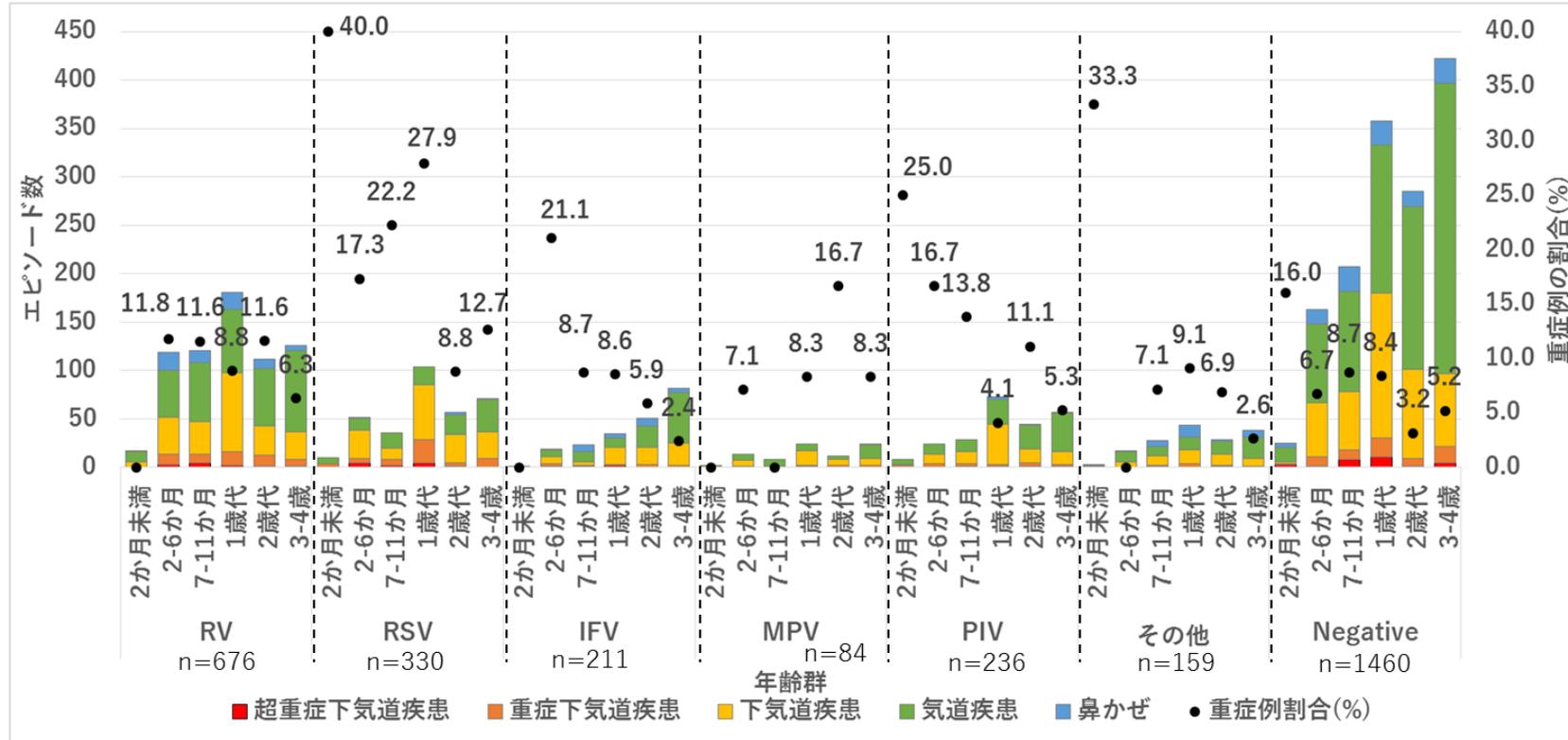
略語：RV, Rhinovirus; RSV, Respiratory syncytial virus; IFV, Influenza virus; MPV, Human metapneumovirus; PIV,

Parainfluenza virus; SpO₂, percutaneous oxygen saturation (経皮的動脈血酸素飽和度)

*ライノウイルス症例と比較して、P-value < 0.05 の統計学的有意な差を認めた。

**ライノウイルス症例と比較して、P-value < 0.01 の統計学的有意な差を認めた。

図 6. ライノウイルスとその他の呼吸器ウイルスの年齢別重症度と重症例割合

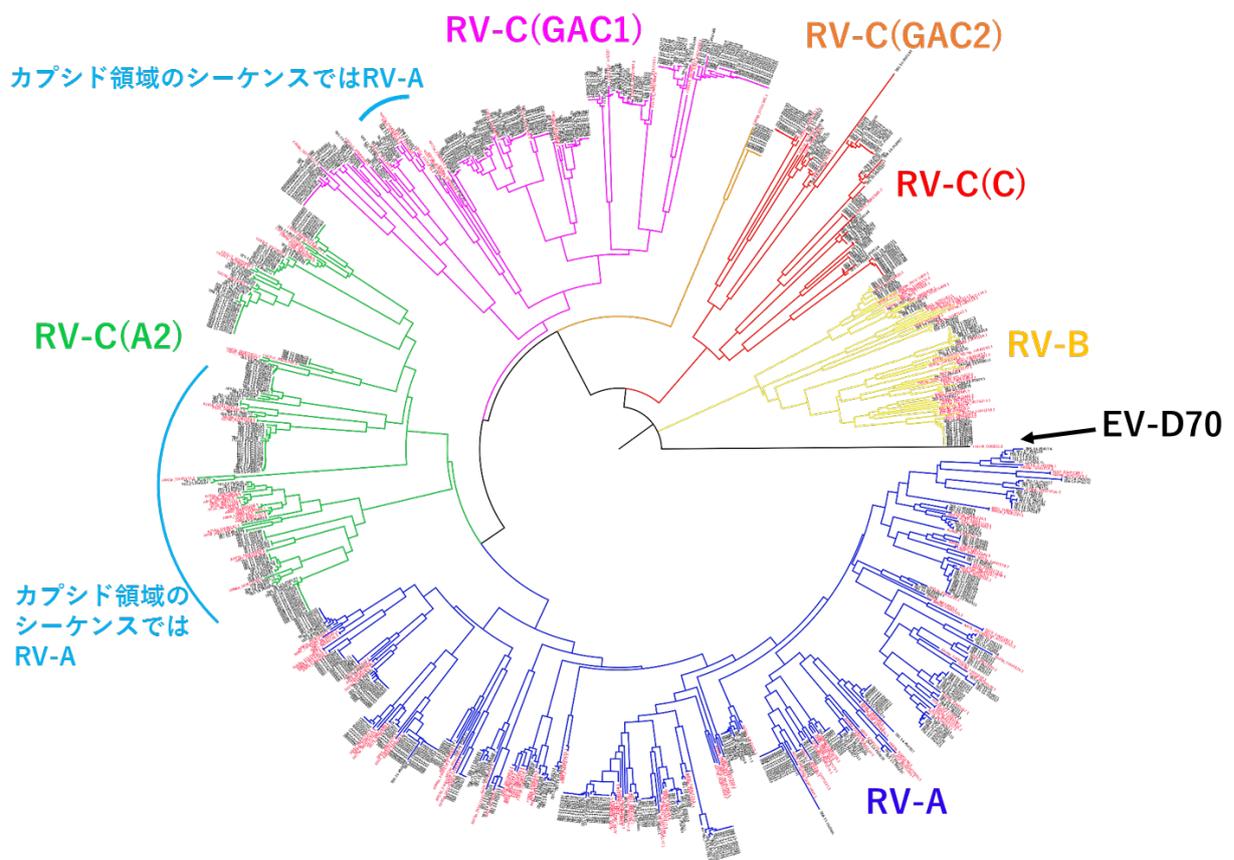


略語：RV, Rhinovirus; RSV, Respiratory Syncytial Virus; IFV, Influenza virus; MPV, Human metapneumovirus; PIV,

Parainfluenza virus

点グラフは重症例割合（％）を表し、重症例割合（％）は定義不能下気道疾患を除いた全エピソード数に対する、重症下気道疾患と超重症下気道疾患を合わせたエピソード数の割合である。

図 7. 5'非翻訳領域をもとに描出した系統樹

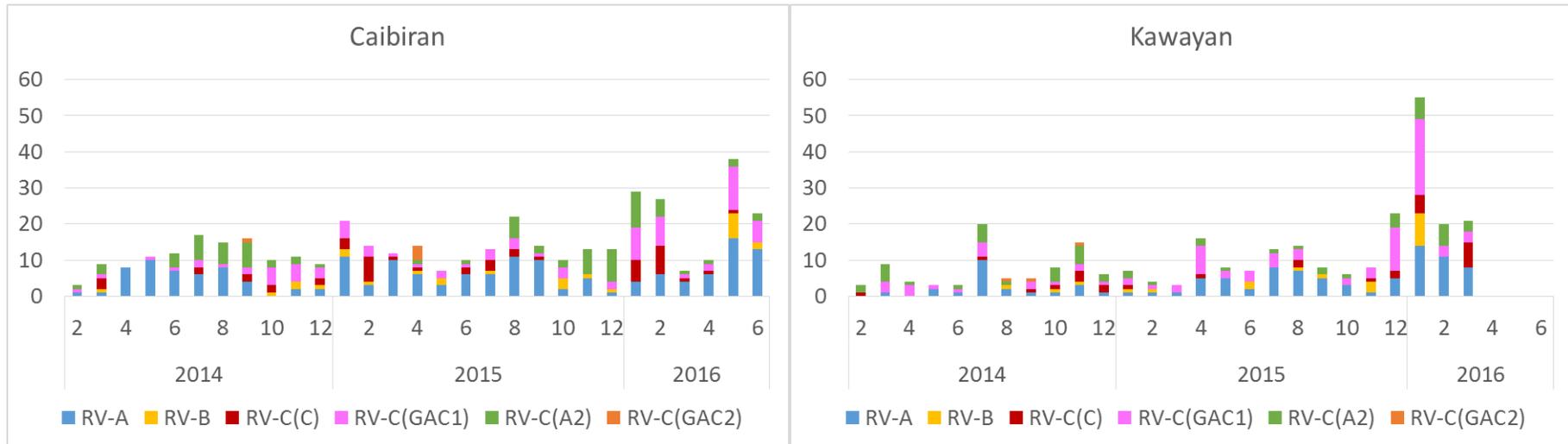


系統樹は5'非翻訳領域をもとに、Neighbor-Joining法を用いて描出し、系統樹の正確性はブートストラップ100回で検証した。外群としてエンテロウイルスD70を含めた。MEGA version 7を用いて系統樹を構築した。

赤字の検体名は解析に使用した参考配列を表す。

略語：RV, Rhinovirus; EV, Enterovirus

図 8. ライノウイルスの地域別各クレードの流行曲線



X 軸は検体採取日、Y 軸は件数

略語：RV, Rhinovirus

表 5. 年齢、性別、居住地域の違いと臨床症状と重症度との比較

臨床症状		年齢群										p-value ^a
		0-11 か月 n=271		1 歳 n=191		2 歳 n=122		3 歳 n=71		4 歳 n=58		
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
咳嗽	Yes	237	87.5	173	90.5	112	91.8	68	95.8	56	96.6	0.091
	No	34	12.5	18	9.4	10	8.2	3	4.2	2	3.4	
鼻汁または鼻閉	Yes	259	95.6	188	98.4	114	93.4	66	93.0	52	89.7	0.040
	No	12	4.4	3	1.6	8	6.6	5	7.0	6	10.3	
頻呼吸	Yes	101	37.3	105	55.0	49	40.2	24	33.8	11	19.0	< 0.001
	No	170	62.7	86	45.0	73	59.8	47	66.2	47	81.0	
呼吸苦	Yes	30	11.1	28	14.7	22	18.0	12	16.9	8	13.8	0.387
	No	241	88.9	163	85.3	100	82.0	59	83.1	50	86.2	
呼吸音減弱	Yes	1	0.4	4	2.1	3	2.5	1	1.4	1	1.7	0.436
	No	270	99.6	187	97.9	119	97.5	70	98.6	57	98.3	
喘鳴	Yes	57	21.0	42	22.0	26	21.3	13	18.3	11	19.0	0.966
	No	214	79.0	149	78.0	96	78.7	58	81.7	47	81.0	
ラ音	Yes	124	45.8	81	42.4	36	29.5	20	28.2	19	32.8	0.004
	No	147	54.2	110	57.6	86	70.5	51	71.8	39	67.2	

鼻翼呼吸	Yes	17	6.3	8	4.2	6	4.9	2	22.8	3	5.2	0.757
	No	254	93.7	183	95.8	116	95.1	69	97.2	55	94.8	
陥没呼吸	Yes	20	7.4	14	7.3	14	11.5	5	7.0	4	6.9	0.654
	No	251	92.6	177	92.7	108	88.5	66	93.0	54	93.1	
中枢性チアノーゼ	Yes	0	0.0	1	0.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.603
	No	271	100.0	190	99.5	122	100.0	71	100.0	58	100.0	
無呼吸エピソード	Yes	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	NA
	No	271	100.0	191	100	122	100.0	71	100.0	58	100	
飲水困難	Yes	0	0.0	0	0.0	2	1.6	1	1.4	0	0.0	0.085
	No	271	100.0	191	100	120	98.4	70	98.6	58	100.0	
傾眠傾向 ^c	Yes	1	0.4	0	0.0	1	0.8	0	0.0	0	0.0	0.691
	No	270	99.6	191	100.0	121	99.2	71	100	58	100	
発熱 (≥ 37.5°C)	Yes	27	10.0	35	18.3	15	12.3	10	14.1	4	6.9	0.058
	No	244	90.0	156	81.7	107	87.7	61	85.9	54	93.1	
SpO ₂ < 95%	Yes	45	16.6	31	16.2	21	17.2	10	14.1	7	12.1	0.898
	No	226	83.4	160	83.8	101	82.8	61	85.9	51	87.9	
		n=257		n=181		n=112		n=69		n=57		
重症例 ^b	Yes	28	10.9	16	8.8	13	11.6	5	7.2	3	5.3	0.59
	No	229	89.1	165	91.2	99	88.4	64	92.8	54	94.7	

臨床症状		居住地域				<i>p</i> -value ^a	性別				<i>p</i> -value ^a
		カイビラン		カワヤン			男児		女児		
		n	(%)	n	(%)		n	(%)	n	(%)	
咳嗽	Yes	375	89.7	271	91.9	0.401	347	89.9	299	91.4	0.566
	No	43	10.3	24	8.1		39	10.1	28	8.6	
鼻汁または鼻閉	Yes	407	97.4	272	92.2	0.003	370	95.9	309	94.5	0.501
	No	11	2.6	23	7.8		16	4.1	18	5.5	
頻呼吸	Yes	192	45.9	98	33.2	0.001	166	43	124	37.9	0.193
	No	226	54.1	197	66.8		220	57	203	62.1	
呼吸苦	Yes	78	18.7	22	7.5	< 0.001	56	14.5	44	13.5	0.768
	No	340	81.3	273	92.5		330	85.5	283	86.5	
呼吸音減弱	Yes	3	0.7	7	2.4	0.127	2	0.5	8	2.4	0.063
	No	415	99.3	288	97.6		384	99.5	319	97.6	
喘鳴	Yes	106	25.4	43	14.6	0.001	87	22.5	62	19.0	0.281
	No	312	74.6	252	85.4		299	77.5	265	81.0	
ラ音	Yes	191	45.7	89	30.2	< 0.001	156	40.4	124	37.9	0.547
	No	227	54.3	206	69.8		230	59.6	203	62.1	
鼻翼呼吸	Yes	26	6.2	10	3.4	0.127	20	5.2	16	4.9	0.997
	No	392	93.8	285	96.6		366	94.8	311	95.1	
陥没呼吸	Yes	37	8.9	20	6.8	0.387	39	10.1	18	5.5	0.034
	No	381	91.1	275	93.2		347	89.9	309	94.5	

中枢性チアノーゼ	Yes	1	0.2	0	0.0	1.000	0	0	1	0.3	0.934
	No	417	99.8	295	100.0		386	100.0	326	94.5	
無呼吸エピソード	Yes	0	0.0	0	0.0	NA	0	0.0	0	0.0	NA
	No	418	100.0	295	100		386	100	327	100.0	
飲水困難	Yes	1	0.2	2	0.7	0.761	2	0.5	1	0.3	1.000
	No	417	99.8	293	99.7		384	99.5	326	99.7	
傾眠傾向 ^c	Yes	0	0.0	2	0.7	0.334	2	0.5	0	0.0	0.553
	No	418	100.0	293	99.3		384	99.5	327	100.0	
発熱 (≥ 37.5°C)	Yes	59	14.1	32	10.8	0.24	48	12.4	43	13.1	0.863
	No	359	85.9	263	89.2		338	87.6	284	86.9	
SpO ₂ < 95%	Yes	82	19.6	32	10.8	0.002	64	16.6	50	15.3	0.715
	No	336	80.4	263	89.2		322	83.4	277	84.7	
			n=399		n=277			n=364		n=312	
重症例 ^b	Yes	48	12	17	6.1	0.015	40	11	25	8	0.239
	No	351	88	260	93.9		324	89	287	92	

a. P-value は臨床症状と患者背景（年齢群、居住地域、性別）との関係をカイ二乗検定を用いて検定し、評価した。

b. 重症例は重症下気道疾患と超重症下気道疾患を含む。

c. 傾眠傾向は「多くの時間を寝て過ごしている」または「起き上がることが難しい」状態を示す。

略語：RV, Rhinovirus; SpO₂, percutaneous oxygen saturation (經皮的動脈血酸素飽和度)

表 6. 系統樹に基づいた各種・各クレードの患者背景、臨床症状、重症度の比較

	Species n=713			<i>p</i> - value ^b	RV-C clades n=394 ^a				<i>p</i> - value ^c
	RV-A n=271	RV-B n=47	RV-C n=395		C n=76	GAC1 n=172	A2 n=138	GAC2 n=8	
月齢 — 中央値 [四分位範囲]	16 [8–30]	11 [6–30]	18 [9–31]	0.243	21[10–33]	18 [9–31]	16 [8–30]	20 [11–30]	0.363
居住地域 — n (%)									
カイビラン	172(63.5)	26(55.3)	220(55.7)	0.121	48(63.2)	85(49.4)	82(59.4)	5(62.5)	0.088
カワヤン	99(36.5)	21(44.7)	175(44.3)		28(36.8)	87(50.6)	56(40.6)	3(37.5)	
性別 — n (%)									
男児	147(54.2)	22(46.8)	217(54.9)	0.571	41(53.9)	96(55.8)	77(55.8)	3(37.5)	0.812
女児	124(45.8)	25(53.2)	178(45.1)		35(46.1)	76(44.2)	61(44.2)	5(62.5)	
発熱 (≥ 37.5°C) — はい (%)	38(14.0)	3(6.4)	50(12.7)	0.349	9(11.8)	21(12.2)	17(12.3)	3(37.5)	0.250
SpO ₂ < 95% — はい (%)	35(12.9)	5(10.6)	74(18.7)	0.077	14(18.4)	38(22.1)	18(13.0)	4(50.0)	0.008
咳嗽 — はい (%)	239(88.2)	44(93.6)	363(91.9)	0.209	70(92.1)	163(94.8)	122(88.4)	7(87.5)	0.227
鼻汁または鼻閉 — はい (%)	262(96.7)	41(87.2)	376(95.2)	0.020	73(96.1)	164(95.3)	131(94.9)	7(87.5)	0.107
頻呼吸 — はい (%)	115(42.4)	14(29.8)	161(40.8)	0.265	34(44.7)	70(40.7)	52(37.7)	5(62.5)	0.384
呼吸苦 — はい (%)	33(12.2)	4(8.5)	63(15.9)	0.205	11(14.5)	29(16.9)	19(13.8)	4(50.0)	0.039
鼻翼呼吸 — はい (%)	14(5.2)	1(2.1)	21(5.3)	0.637	2(2.6)	11(6.4)	6(4.3)	2(25.0)	0.102
陥没呼吸 — はい (%)	14(5.2)	2(4.3)	41(10.4)	0.032	9(11.8)	17(9.9)	10(7.2)	5(62.5)	<0.001
呼吸音減弱 — はい (%)	3(1.1)	1(2.1)	6(1.5)	0.823	2(2.6)	3(1.7)	1(0.7)	0(0.0)	0.863
ラ音 — はい (%)	98(36.2)	16(34.0)	166(42.0)	0.235	26(34.2)	69(40.1)	64(46.4)	6(75.0)	0.084

喘鳴— はい (%)	53(19.6)	5(10.6)	91(23.0)	0.112	17(22.4)	47(27.3)	23(16.7)	4(50.0)	0.021
無呼吸エピソード— はい (%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	NA	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	NA
中枢性チアノーゼ— はい (%)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.3)	0.668	0(0.0)	0(0.0)	1(0.7)	0(0.0)	0.526
飲水困難— はい (%)	1(0.4)	0(0.0)	2(0.5)	0.867	0(0.0)	1(0.6)	1(0.7)	0(0.0)	0.964
傾眠傾向— はい (%)	0(0.0)	0(0.0)	2(0.5)	0.446	0(0.0)	1(0.6)	1(0.7)	0(0.0)	0.753
重症度 — エピソード数 (%)									0.001
鼻かぜ ^a	31(11.4)	3(6.4)	32(8.1)		6(7.9)	9(5.2)	16(11.6)	1(12.5)	
気道疾患	119(43.9)	27(57.4)	181(45.8)		32(42.1)	78(45.3)	68(49.3)	2(25.0)	
下気道疾患	92(33.9)	14(29.8)	112(28.4)		25(32.9)	51(29.7)	36(26.1)	0(0.0)	
重症下気道疾患	13(4.8)	3(6.4)	37(9.4)		7(9.2)	16(9.3)	12(8.7)	2(25.0)	
超重症下気道疾患	5(1.8)	0(0.0)	7(1.8)		0(0.0)	7(4.1)	0(0.0)	0(0.0)	
定義不能下気道疾患	11(4.1)	0(0.0)	26(6.6)	0.110	6(7.9)	11(6.4)	6(4.3)	3(37.5)	

	Species n=676 ^c			<i>p</i> - value ^b	RV-C clades n=368 ^e				<i>p</i> - value ^c
	RV-A n=260	RV-B n=47	RV-C n=369		C n=70	GAC1 n=161	A2 n=132	GAC2 n=5	
重症例 ^f — エピソード数 (%)	18 (6.9)	3 (6.4)	44 (11.9)	0.082	7 (10.0)	23 (14.3)	12 (9.1)	2 (40.0)	0.033

a. 1 エピソードは同一エピソード内に複数の検体が採取され、異なる RV-C クレードに属していたため、解析から除外した。

b. P-value は RV-A、RV-B、RV-C (すべてのクレードを含んだすべての RV-C)の間で検定し評価した。月齢は Kruskal-Wallis rank-sum test で、カテゴリカル変数はカイ二乗検定または Fisher 検定を用いて検定した。

c. P-value は RV-A、RV-B、RV-C クレード (各クレードごと)の間で検定し評価した。月齢は Kruskal-Wallis rank-sum test で、カテゴリカル変数はカイ二乗検定または Fisher 検定を用いて検定した。

d. 傾眠傾向は「多くの時間を寝て過ごしている」または「起き上がることが難しい」状態を示す。

e. 定義不能下気道疾患に分類された、SpO₂測定の出来なかった症例 (n=36)は解析から除外した。

f. 重症例は重症下気道疾患と超重症下気道疾患を含む。

略語：RV, Rhinovirus; SpO₂, percutaneous oxygen saturation (経皮的動脈血酸素飽和度)

表 7. 系統樹による各クレード間の臨床症状、重症度の比較（オッズ比）

臨床症状	n/全体		vs. RV-A		vs. RV-B	
	全体 n=712 ^a	(%)	AOR (95%CI)	p-value	AOR (95%CI)	p-value
SpO ₂ <95% — はい						
RV-A	35/271	(12.9)	Ref.		--	
RV-B	5/47	(10.6)	0.87 (0.32–2.37)	0.780	Ref.	
RV-C	74/395	(18.7)	1.65 (1.06–2.57)	0.026	1.97 (0.75–5.19)	0.171
RV-C(C)	14/76	(18.4)	1.50 (0.75–3.00)	0.246	1.81 (0.59–5.56)	0.297
RV-C(GAC1)	38/172	(22.1)	2.16 (1.29–3.64)	0.004	2.54 (0.93–7.00)	0.070
RV-C(A2)	18/138	(13.0)	1.05 (0.56–1.93)	0.888	1.28 (0.43–3.78)	0.654
RV-C(GAC2)	4/8	(50.0)				
咳嗽 — はい						
RV-A	239/271	(88.2)	Ref.		--	
RV-B	44/47	(93.6)	1.96 (0.57–6.81)	0.288	Ref.	
RV-C	363/395	(91.9)	1.47 (0.87–2.48)	0.146	0.77 (0.23–2.66)	0.684
RV-C(C)	70/76	(92.1)	1.43 (0.57–3.61)	0.445	0.78 (0.18–3.41)	0.744
RV-C(GAC1)	163/172	(94.8)	2.25 (1.04–4.89)	0.041	1.14 (0.29–4.49)	0.850
RV-C(A2)	122/138	(88.4)	0.99 (0.52–1.89)	0.982	0.55 (0.15–2.00)	0.363
RV-C(GAC2)	7/8	(87.5)				
鼻汁または鼻閉 — はい						
RV-A	262/271	(96.7)	Ref.		--	
RV-B	41/47	(87.2)	0.26 (0.08–0.81)	0.020	Ref.	
RV-C	376/395	(95.2)	0.76 (0.34–1.73)	0.518	3.07 (1.13–8.32)	0.028
RV-C(C)	73/76	(96.1)	1.05 (0.26–4.22)	0.941	3.24 (0.73–14.4)	0.123
RV-C(GAC1)	164/172	(95.3)	0.86 (0.32–2.31)	0.758	3.66 (1.15–11.7)	0.028
RV-C(A2)	131/138	(94.9)	0.67 (0.24–1.86)	0.438	2.73 (0.84–8.83)	0.094
RV-C(GAC2)	7/8	(87.5)				
陥没呼吸 — はい						
RV-A	14/271	(5.2)	Ref.		--	
RV-B	2/47	(4.3)	0.94 (0.20–4.38)	0.939	Ref.	
RV-C	41/395	(10.4)	2.20 (1.17–4.13)	0.015	2.54 (0.59–10.9)	0.210
RV-C(C)	9/76	(11.8)	2.46 (1.01–6.00)	0.047	2.99 (0.60–14.9)	0.181
RV-C(GAC1)	17/172	(9.9)	2.20 (1.04–4.68)	0.040	2.32 (0.50–10.7)	0.279
RV-C(A2)	10/138	(7.2)	1.44 (0.62–3.34)	0.397	1.80 (0.38–8.56)	0.462
RV-C(GAC2)	5/8	(62.5)				

喘鳴 — はい							
RV-A	53/271	(19.6)	Ref.		--		
RV-B	5/47	(10.6)	0.52 (0.19–1.41)	0.198	Ref.		
RV-C	91/395	(23.0)	1.30 (0.88–1.91)	0.185	2.46 (0.94–6.44)	0.066	
RV-C(C)	17/76	(22.4)	1.19 (0.63–2.24)	0.586	2.39 (0.80–7.12)	0.119	
RV-C(GAC1)	47/172	(27.3)	1.80 (1.13–2.88)	0.014	3.24 (1.19–8.82)	0.021	
RV-C(A2)	23/138	(16.7)	0.84 (0.49–1.45)	0.536	1.65 (0.58–4.69)	0.343	
RV-C(GAC2)	4/8	(50.0)					
重症例 ^b n = 676 ^c							
RV-A	18/260	(6.9)	Ref.		--		
RV-B	3/47	(6.4)	1.05 (0.29–3.78)	0.944	Ref.		
RV-C	44/369	(11.9)	1.94 (1.09–3.47)	0.025	2.06 (0.61–7.00)	0.244	
RV-C(C)	7/70	(10.0)	1.46 (0.58–3.70)	0.422	1.57 (0.37–6.61)	0.540	
RV-C(GAC1)	23/161	(14.3)	2.61 (1.34–5.09)	0.005	2.58 (0.73–9.12)	0.140	
RV-C(A2)	12/132	(9.1)	1.39 (0.64–2.99)	0.404	1.44 (0.39–5.37)	0.583	
RV-C(GAC2)	2/5	(40.0)					

a. RV-Cのうち、1エピソードは他のRV-Cクレードとの共検出により解析から除外した。

b. 重症例は重症下気道疾患と超重症下気道疾患を含む。

c. SpO₂を測定できていない定義不能下気道疾患(n=36)はこの解析から除外した。

調整オッズ比は年齢、性別、居住地域で調整したロジスティック回帰分析によって算出した。

RV-C(GAC2)は検出数が少ないため、解析から除外した。

略語：RV, Rhinovirus; AOR, Adjusted Odds Ratio(調整オッズ); 95%CI, 95%

Confidence Interval(95%信頼区間); Ref., 調整オッズの算出に使用した参考グルー

プ; SpO₂, percutaneous oxygen saturation (経皮的動脈血酸素飽和度)

表 8. ライノウイルス C のクレードごとの臨床症状と重症度の比較（オッズ比）

臨床症状と重症例	n/全体	(%)	vs. RV-C(C)	vs. RV-C(A2)
			AOR (95%CI), <i>p</i> -value	AOR (95%CI), <i>p</i> -value
SpO ₂ <95% — はい				
RV-C (C)	14/76	(18.4)	Ref.	--
RV-C (A2)	18/138	(13.0)	0.66 (0.30–1.42), <i>p</i> =0.287	Ref.
RV-C (GAC1)	38/172	(22.1)	1.37 (0.68–2.75), <i>p</i> =0.373	2.06 (1.10–3.84), <i>p</i> =0.023
咳嗽 — はい				
RV-C (C)	70/76	(92.1)	Ref.	--
RV-C (A2)	122/138	(88.4)	0.67 (0.25–1.83), <i>p</i> =0.438	Ref.
RV-C (GAC1)	163/172	(94.8)	1.96 (0.65–5.94), <i>p</i> =0.232	2.49 (1.05–5.90), <i>p</i> =0.038
鼻汁または鼻閉 — はい				
RV-C (C)	73/76	(96.1)	Ref.	--
RV-C (A2)	131/138	(94.9)	0.74 (0.18–3.05), <i>p</i> =0.679	Ref.
RV-C (GAC1)	164/172	(95.3)	0.97 (0.24–3.86), <i>p</i> =0.967	1.36 (0.46–4.00), <i>p</i> =0.575
陥没呼吸 — はい				
RV-C (C)	9/76	(11.8)	Ref.	--
RV-C (A2)	10/138	(7.2)	0.57 (0.22–1.49), <i>p</i> =0.255	Ref.
RV-C (GAC1)	17/172	(9.9)	0.85 (0.35–2.05), <i>p</i> =0.723	1.50 (0.66–3.43), <i>p</i> =0.333
喘鳴 — はい				
RV-C (C)	17/76	(22.4)	Ref.	--
RV-C (A2)	23/138	(16.7)	0.71 (0.35–1.44), <i>p</i> =0.341	Ref.

RV-C (GAC1)	47/172	(27.3)	1.50 (0.78–2.88), p=0.222	2.03 (1.15–3.60), p=0.015
重症例 ^a — はい				
RV-C (C)	7/70	(10.0)	Ref.	--
RV-C (A2)	12/132	(9.1)	0.86 (0.32–2.33), p=0.771	Ref.
RV-C (GAC1)	23/161	(14.3)	1.67 (0.67–4.16), p=0.267	1.85 (0.87–3.92), p=0.110

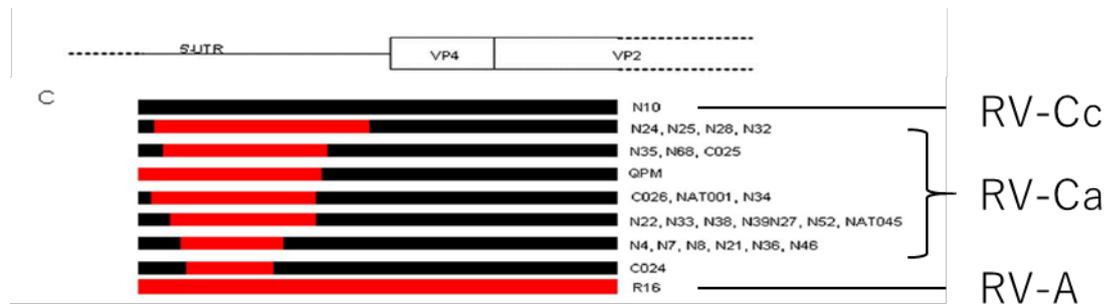
a：重症例は重症下気道疾患と超重症下気道疾患を含む。

調整オッズ比は年齢、居住地域、性別で調整した多項ロジスティック回帰分析により算出した。

略語：RV, Rhinovirus; AOR, Adjusted Odds Ratio(調整オッズ); 95%CI, 95% Confidence Interval(95%信頼区間); Ref., 調整オッズ

の算出に使用した参考グループ; SpO₂, percutaneous oxygen saturation (経皮的動脈血酸素飽和度)

図 9. RV の 5'-UTR -VP2 部分配列における組換えイベントの分析 (Huang et.al 2009 を一部改変)



RV-A (赤) と RV-Cc (黒) の株配列間の組換えのおおよそのサイズと部位を示す。

IX. 謝辞

本研究においてご指導くださった先生方、研究スタッフの皆様をはじめ、ご協力
いただいた皆様に感謝申し上げます。

東北大学大学院医学系研究科微生物分野

押谷 仁 教授

齊藤 繭子 准教授

岡本 道子 助教

神垣 太郎 助教

齊藤（小畑） 麻理子 助教

Clyde Dapat 講師

微生物学分野の皆様

国際協力機構（JICA）／ケニア保健省

玉記 雷太 先生

Tohoku-RITM Collaboration Research Center on Emerging and Reemerging

Infectious Diseases

中川 恵美子 助教

TOHOKU スタッフの皆様

Research Institute for Tropical Medicine

Dr. Scorro Lupisan

Dr. Veronica Tallo

Dr. Edelwisa Segubre-Mercado

RITM の皆様

Health facilities in Biliran

Dr. Balasbas

Dr. Plaza

BPH、RHU 医療スタッフの皆様

公益財団法人 武田科学振興財団

理事長 飯澤 祐史 様

公益財団法人 武田科学振興財団の皆様からのご支援に感謝申し上げます。