

博士論文

フィリピン共和国における

狂犬病ウイルスの時空間的伝播動態に関する研究

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

B2MD5092

当广 謙太郎

目次

1. 要約.....	p.1
2. 略語一覧.....	p.4
3. 背景.....	p.5
4. 目的.....	p.9
5. 方法.....	p.11
5.1 狂犬病ウイルス遺伝子配列データ	
5.2 地図データ	
5.3 遺伝子系統解析	
5.4 島間伝播の分子時計・系統地理学的解析	
5.5 島間伝播の数理モデル解析	
5.6 島内伝播の景観遺伝学的解析	
6. 結果.....	p.26
6.1 ルソン諸島における狂犬病ウイルス遺伝子系統解析	
6.2 タブラス島における動物狂犬病サーベイランスデータ	
6.3 ルソン島-タブラス島における島間伝播例の分子時計・系統地理学的解析	
6.4 島間伝播の数理モデル解析	
6.5 ルソン島内における狂犬病感染鎖の空間構造	
6.6 ルソン島内における狂犬病伝播の景観遺伝学的解析	
7. 考察.....	p.33
8. 結論.....	p.44
9. 参考文献.....	p.46
10. 図.....	p.56
11. 表.....	p.67
12. Appendix.....	p.74
13. 謝辞.....	p.88

1. 要約

1) 背景・目的

狂犬病は、極めて致死性の高い中枢神経系のウイルス感染症である。ヒト狂犬病の発症要因としては狂犬病を発症したイヌによる咬傷が主であり、その対策としてイヌを対象とした集団ワクチン接種が有効であるが、多くの発展途上国では未だ流行が続いている状態にある。狂犬病清浄化のためには効果的なイヌワクチン接種戦略が必要であり、イヌ集団における狂犬病伝播動態についての知見が必須である。そこで、分子疫学的アプローチにより狂犬病ウイルスを遺伝子レベルで追跡することで、フィリピン共和国(以下、フィリピン)における狂犬病ウイルスの伝播動態解明を行った。島国であるフィリピンでは、大きく分けて島間伝播と島内伝播の2パターンが存在するが、それぞれの伝播パターンについて、分子疫学を軸に数理モデルや空間解析、景観遺伝学を用いて研究を行った。

2) 方法

受動的動物狂犬病サーベイランスにおいて2004-2013年にルソン諸島から得られた計302検体の狂犬病ウイルス遺伝子配列を用い、遺伝子系統解析を行った。

ルソン諸島にて見られた島間伝播について、ウイルス遺伝子情報と検体採取日及び採取地の情報と組み合わせることで分子時計・系統地理学的解析を行い、島間伝播パターン・

島間伝播時期の推定を行った他、感染症数理モデルによる島間伝播から症例検出までの時間差推定を行った。

続いて、ルソン島内にて得られたウイルス(n = 289)を用い、遺伝子系統関係及びその空間分布に寄与する因子を地形・ヒトコミュニティ・狂犬病対策活動の3種類のデータから探索・評価した。狂犬病ウイルスの地理的伝播に影響を与える予測因子とその影響について景観遺伝学による解析を行った。

3) 結果

ルソン諸島では、ルソン島-タブラス島間で1回、ルソン島-カタンドゥアネス島間で2回、少なくとも合計3回の島間伝播が検出された。ルソン島からタブラス島への島間伝播について、より詳細な分子疫学解析を行ったところ、約300kmも離れたブラカン州からのウイルス侵入が疑われ、ウイルス流入から症例検出までに約12ヵ月もの時間差が生じていたことが推測された。

ルソン島内では、標高勾配がウイルスの地理的伝播に対して最も大きな障壁であると推測された。しかし、標高勾配も含め狂犬病ウイルス感染鎖の空間分布を決定づけるほど大きな影響を持つ因子は認められず、地形・ヒトコミュニティ・狂犬病対策活動といった因子のウイルス伝播に対する影響はさほど大きくないことが示唆された。

4) 考察・結論

フィリピンにおける狂犬病ウイルスの島間・島内伝播の詳細な動態が明らかとなった。少ないながらも島間伝播が生じ、その感染鎖が維持されていたことから、現状の対策では狂犬病清浄化の実現可能性が低いことが予想される。清浄化のためにはサーベイランスの強化やワクチン接種率の向上といった対策の継続が重要であり、感染鎖の地理的な広がりを断ち切るために、地域間の連携した狂犬病対策が必要であると考えられた。

2. 略語一覽

95%HPD:	95% highest posterior density
AI:	Association Index
AICc:	Akaike Information Criterion, corrected
AICM:	Akaike Information Criterion for Markov chain Monte Carlo samples
BF:	Bayes Factor
CAR:	Cordillera Administrative Region
DA:	Department of Agriculture
DBM:	Department of Budget and Management
DEM:	Digital Elevation Model
DepEd:	Department of Education
GIS:	Geographic Information System
GPS:	Global Positioning System
GTR+G:	General Time Reversible model with Gamma distribution
G遺伝子:	Glycoprotein gene
IEC:	Information, Education, and Communication
LGU:	Local Government Unit
LP DAAC:	Land Processes Distributed Active Archive Center
MCC系統樹:	Maximum Clade Credibility tree
MCMC:	Markov chain Monte Carlo
MDS:	Multidimensional Scaling
MRCA:	Most Recent Common Ancestor
NAMRIA:	National Mapping and Resource Information Authority
NCR:	National Capital Region
NDVI:	Normalized Difference Vegetation Index
NTD:	Neglected Tropical Disease
P遺伝子:	Phosphoprotein gene
R_0 :	Basic reproduction number
RADDL:	Regional Animal Disease Diagnostic Laboratory
RITM:	Research Institute for Tropical Medicine
SRTM:	Shuttle Radar Topography Mission
tMRCA:	time to the Most Recent Common Ancestor
TN93+G:	Tamura-Nei model with Gamma distribution
WHO:	World Health Organization

3. 背景

狂犬病は狂犬病ウイルスを病原体とする極めて致死率の高い中枢神経系感染症であり、公衆衛生学上重要な人獣共通感染症である。顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Disease, NTD) の一つとして挙げられ、狂犬病による死亡者数は世界で年間59,000人と推定されている¹。狂犬病は全ての哺乳類に感染するが、ヒト狂犬病の発症要因としては狂犬病を発症したイヌによる咬傷が主である。そのため、狂犬病対策としてはイヌを対象とした集団ワクチン接種やイヌの適切な管理が有効であり^{2,3}、日本では清浄化されているものの、アフリカ及びアジアを中心とする150の地域と国が未だ高リスク地域として報告されている⁴。効果的な対策を行なうためには科学的根拠に基づくイヌワクチン接種戦略が必要であるが、イヌ集団における狂犬病伝播動態についての知見、特に発展途上国における狂犬病伝播動態についての知見は乏しい⁵。我が国でも過去にこれら発展途上国からの輸入症例が報告されており^{6,7}、感染症の急速なグローバル化を考慮すると、その公衆衛生学的問題は大きいと考えられる。これまでに筆者らは、高リスク地域における狂犬病伝播動態の解明を目的とし、狂犬病蔓延国であるフィリピン共和国 (以下、フィリピン) を調査対象地域とした分子疫学研究を行ってきた。フィリピンでは年間200-300例ほどのヒト狂犬病症例が報告されており⁸、他の東南アジア諸国同様、狂犬病高リスク地域として世界保健機関 (World Health Organization, WHO) により報告されている⁴。しかし、日本やイギリス等で狂犬病清浄化が成

功していることを考慮すると、地理的に隔離された島国であるフィリピンにおいても同様に狂犬病の清浄化が期待でき⁹、フィリピン政府も2020年までの狂犬病制圧を目標としている¹⁰。

狂犬病ウイルスを遺伝子レベルで追跡することで、フィリピンにおける狂犬病の伝播パターンを解析した結果、フィリピンにおいて流行している狂犬病ウイルス株 (Asian 2b) が他の東南アジア・東アジア諸国で流行している株 (Asian 1, 2a, 2c) とは異なること、約100年以上前に中国から狂犬病ウイルスの侵入を受けた後、他国からの侵入は見られていないこと、フィリピン国内でも島間伝播は稀であり、島内では近隣地域にまたがって広がる空間集積性が見られることが判明した^{11,12}。これらの結果から、フィリピン国内の狂犬病伝播において海が大きな障壁であること及び国内の伝播パターンとしては島内伝播と稀に生じ得る島間伝播に二分されること、島内伝播においてはその強い空間集積性を鑑みたイヌワクチン接種戦略が有効であることが考察された。フィリピンは3つの群島 (ルソン諸島 [Luzon]・ビサヤ諸島 [Visayas]・ミンダナオ諸島 [Mindanao])、17の地方 (Region)、さらに州 (Province)・市 (City)・町 (Municipality) からなり (図1)、最小行政単位としてバランガイ (Barangay) と呼ばれる行政単位が存在する地方自治性の高い国である。したがって各地の狂犬病対策は州や市・町等の地方自治体 (Local Government Unit, LGU) 主体で行われており、各LGUがどのような対策をするべきかという視点で狂犬病流行動態を解明しなければならない。2020年までの狂犬病制圧を目指し、各LGUにてイヌに対するワクチン接種等の対策が行われては

いるものの、狂犬病流行状況に大きな改善は見られていない。フィリピン国内でワクチン接種等の対策が有効であることは、ボホール島における大規模な対策プログラムが症例数を軽減させた経験からも明白であるが¹³、LGU内あるいはLGU間で狂犬病対策戦略が確立されておらず、対策が徹底されていないために国内の流行状況を改善することができていないと考えられる。LGUによる有効な狂犬病対策を確立するためには、狂犬病流行の全体像を把握するのみならず、地域内の時空間的伝播動態を詳細に解明する必要がある。

「狂犬病ウイルスがどのように広がっているのか」という伝播動態の解明において、ウイルスの遺伝子系統解析 (Phylogenetics) は非常に有用な方法である。遺伝子解読技術の目覚ましい発展により、様々な地域・年における様々な病原体の遺伝子配列情報がGenBank等のデータベースに公開されている。そのため、流行している狂犬病ウイルスの遺伝子配列を解読し、その遺伝子の相同性を公開データと照らし合わせることで、どのような遺伝子型のウイルスが流行していたのか、また、空間分布と合わせて観察することで流行しているウイルスがどこから来たのかを推察することができる^{14,15}。さらに、Phylodynamicsと呼ばれる手法が近年著しく発展しており、病原体(特に遺伝子置換速度の大きいRNAウイルス)の遺伝子変異情報と検体の疫学情報(検体採取日や採取地など)を組合せることで、その詳細な伝播動態の解明が進んでいる¹⁶。合祖理論(Coalescent theory)とは、現在の集団から得た遺伝子系統樹が、どのような動態(あるいは進化史)を経て形成された集団より得られたのかを系

統樹上の分岐を遡って推定する手法である¹⁷。PhylogeneticsではこのCoalescent theoryを応用し、採取した病原体の遺伝子変異を時空間的に遡行することで、病原体の遺伝子系統樹に沿った遺伝子進化過程・進化過程における分岐年代(分子時計、Molecular clock)・空間的伝播過程(系統地理学、Phylogeography)、さらには病原体集団動態(Population dynamics)の再構築による疫学パラメータ(基本再生産数[Basic reproduction number, R_0])の推定手法が開発されている¹⁸⁻²²。Phylogeneticsを用いて狂犬病の侵入時期や侵入・伝播経路を推定する研究が進んでおり^{12,23-27}、本研究ではこのような遺伝子系統解析やPhylogeneticsを軸に、数理モデル、地理情報システム(Geographic information system, GIS)、景観遺伝学的手法を組み合わせることで、より詳細な狂犬病の時空間的伝播動態の解明を目指す。数理モデルにより様々な疫学パラメータ下における狂犬病流行動態シミュレーションが²⁸、GISにより狂犬病感染鎖の空間解析が可能となる。また、近年生態学で発展が見られる景観遺伝学(動植物の遺伝子流動パターンを地形の不均一性を用いて推定する手法²⁹)を病原体の遺伝子流動に応用することで、狂犬病ウイルスの伝播がどのような因子(e.g. 地形)から影響を受けているのかを解析することができる。本研究では、人口の半数以上を占め、動物狂犬病症例が多く報告されているルソン諸島を研究対象地域とし、上記の解析手法を用いて島間伝播及び島内伝播動態の詳細な分子疫学研究を行うこととした。

4. 目的

多くの島々からなるフィリピンにおいて、発生頻度が少ないとはいえ島間伝播の詳細な特徴、あるいは島間伝播に対する対策について検討することは非常に重要である。狂犬病清浄地域であっても、人為的な島間伝播による狂犬病ウイルスの侵入によって狂犬病蔓延地域となる可能性があり、国全体として狂犬病を清浄化するためには、そのような人為的な島間伝播に対する対策が必要であると考えられる。そこで本研究では、遺伝子系統解析によりルソン諸島における島間伝播疑い例を探索し、さらに非流行地域であったロンブロン州 (Romblon) タブラス島 (Tablas Island) における島外からの狂犬病侵入事例を分子時計・系統地理学の手法を用いて詳細に解析することで、島間伝播動態の解明を目指すこととした。また、ウイルス侵入後の感染動態を数理モデルにてシミュレーションすることで、非流行地域へのウイルス侵入から流行検出までに掛かる時間を推定し、島間伝播に必要な対策について知見を得ることとした。

フィリピンの島内伝播については強い空間集積性が見られることが分かっており、その強い空間構造を考慮したイヌワクチン戦略が有効であると示唆されている^{11,12}。地域で流行している狂犬病の感染鎖を効率的に断ち切るためには、その空間集積性の要因を明らかにし、狂犬病が地域内でどのように広がっているのかを解明することが重要である。河川や山が北米の野生動物 (アライグマ・スカンク等) における狂犬病伝播に影響を与えていることは既に

報告されているが³⁰⁻³³、多くの発展途上国ではイヌが狂犬病伝播の主要宿主である。そのため、イヌ集団における狂犬病伝播にどのような因子が影響を与えているのかを解明することが求められている。そこで、ウイルス遺伝子系統解析と空間解析を組合せ、さらに景観遺伝学と呼ばれる生態学的手法を用いることで、ルソン島内における狂犬病ウイルス地理的伝播の障壁・促進因子の探索・評価を行うこととした。ウイルスの地理的な拡散に対する「コスト（抵抗性）」を設定し、狂犬病ウイルスの拡散パターンを説明しうるコストモデルを推定することで、狂犬病感染鎖をより効率的に断ち切るための対策について考察を行った。

5. 方法

5.1 狂犬病ウイルス遺伝子配列データ

これまでのフィリピンにおける分子疫学研究同様、動物狂犬病(主にイヌ狂犬病症例)を対象とした受動的サーベイランスにより狂犬病ウイルス遺伝子データを収集した¹¹。各地方動物衛生研究所(Regional Animal Disease Diagnostic Laboratory, RADDL)にて狂犬病陽性例(直接蛍光抗体法による診断)を得た後、陽性動物(主にイヌ)の脳組織検体より狂犬病ウイルスRNAを抽出した。Saitoらの方法に従い、得られたウイルスRNAを用いてRT-PCR及びサンガー法による塩基配列解読を行い、狂犬病ウイルスの受容体結合部位でもあるGタンパク質コード遺伝子(G遺伝子, Glycoprotein gene)の全長配列データ(1,572塩基)を得た¹¹。RT-PCRにはSuperscript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)を、PCR産物の精製にはQIAquick PCR Purification Kit(Quagen, Hilden, Germany)を、塩基配列解読にはBigDye Terminator v3.1 Sequencing Kit(Thermo Fisher Scientific)、BigDye X Terminator Purification Kit(Thermo Fisher Scientific)及びABI3730xl DNA Analyzer(Thermo Fisher Scientific)を使用した。本研究では、Saitoらが2004年-2010年にルソン諸島より得た156検体分のG遺伝子配列データに加え、新たに146検体(計302検体)分のG遺伝子配列データを得た(表1及び表2)。また、検体採取地(町)の中心点の緯度経度を抽出し、以降の解析で使用した。

本研究はフィリピン熱帯医学研究所 (Research Institute for Tropical Medicine, RITM) の倫理委員会にて承認されている (No. 2008-01-1)。

5.2 地図データ

フィリピンの行政地図データはGlobal Administrative Areasのウェブサイト (<http://www.gadm.org/>) より入手し、R 3.1.0 (R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) の *sp* 及び *maptools* パッケージを用いて作図した。

5.3 遺伝子系統解析

ルソン諸島にて得られた302検体分のG遺伝子配列情報を用い、ベイズ法による遺伝子系統樹によって検体間の遺伝子系統学的な関係性を推定した。系統樹作成はMrBayes v3.2.3を用い³⁴、マルコフ連鎖モンテカルロ法 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) による1e7世代の系統樹作成を行った後、10,000個の系統樹を抽出した。Tracer v1.6 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>) にて定常状態を確認した後、初期値の影響がある初期世代 (初期の10%) を除き、50%多数決合意樹 (50% majority rule consensus tree) 及び系統樹ノード (node) の事後確率を得た。塩基置換モデルとしては、MEGA5ソフトウェアを用いて算出した補正済赤池情報基準 (Akaike Information Criterion, corrected, AICc) より、

サイトによる塩基置換速度のばらつきをガンマ分布で補正した一般時間逆転モデル

(General time reversible model with gamma distribution, GTR+G model)を採用し³⁵、タンパク質コード遺伝子であることを鑑み各コドン位置別に塩基置換モデルを当てはめ解析を行った。

また、地域における狂犬病感染鎖の空間集積性を示すことを目的とし、ルソン島で得られた狂犬病ウイルス(n = 289, G遺伝子)のみを用いて同様にベイズ系統樹を作成、遺伝子系統クラスターを地図上に示した。遺伝子系統クラスターはPhyloPartプログラムを用いたdepth-firstアルゴリズムにより、恣意的に定義した³⁶。系統樹の樹長全長の15%・ノード事後確率90%・5検体/クラスターをカットオフとしてクラスター定義とした。定義した遺伝子系統クラスターごとに検体採取地を地図上にプロットし、遺伝子系統クラスターの空間集積性について観察を行った。

5.4 島間伝播の分子時計・系統地理学的解析

5.3の遺伝子系統解析において、近年起こったと考えられる島間伝播疑い例が検出されたことから、疑い例を含むサブクレード(n=39, ロンブロン州タブラス島より6検体、ルソン島のパンガシナン州[Pangasinan]・パンパンガ州[Pampanga]・ブラカン州[Bulacan]より計33検体)について、分子時計解析及び系統地理学的解析による詳細な島間伝播動態の解析を

行った。解析するにあたり、同じサブクレードから抽出した39検体は互いに遺伝的距離が近い
ため、G遺伝子のみでは遺伝子系統解析に十分な解像度を得ることができないと考えら
れる。そこで、分子時計解析及び系統地理学的解析における情報量を増やすため、前述し
たサブクレードに含まれる39検体について、Pタンパク質コード遺伝子(P遺伝子,
Phosphoprotein gene)の全長配列データ(891塩基)を得た。転写酵素構成成分をコードす
るP遺伝子は、感染細胞におけるインターフェロン応答にも関与することが知られ³⁷、塩基置
換速度が大きいと報告されている³⁸。P遺伝子配列もG遺伝子と同様、得られたウイルスRNA
をRT-PCRにて増幅し、サンガー法にて塩基配列を解読した。RT-PCR及び塩基配列解読
にはNPM1F及びNPM1Rプライマーセット³⁹を使用した。

得られたP遺伝子配列をG遺伝子配列と繋ぎあわせ、計2,464塩基のP-G配列データとし
てベイズ法による分子時計解析及び対称離散的系統地理学的解析(symmetric discrete
phylogeographic analysis)を行った(Text S1)。分子時計解析ではウイルス遺伝子変異及び
検体採取日を用いて塩基置換速度を推定するとともに、分岐時間推定による時間軸付き系
統樹の推定を行った²⁰。加えて、系統地理学的解析では検体採取地域(州)を離散的形質と
して捉え、分岐における最近共通祖先(Most recent common ancestor, MRCA)の形質を推
定することで、離散的形質の時間的变化(即ち時空間的な伝播動態)を推定した¹⁹。解析に
はBEAST v1.8.0及びBEAGLE v2.1を用い、ベイジアンMCMC法を使用した^{18,40}。塩基置換

モデルとしては、AICcより、サイトによる塩基置換速度のばらつきをガンマ分布で補正した Tamura-Neiモデル (TN93+G model) を使用した。予備解析において第1コドンと第2コドンの塩基置換速度に大きな差が見られなかったため、第1・第2コドンと第3コドン別に塩基置換モデルを当てはめ解析を行った。分子時計モデルとしては系統樹上の枝 (branch) 毎あるいは系統毎に塩基置換速度が一定とする Strict clock モデル、枝毎の塩基置換速度のばらつきを許容し無相関対数正規分布で補正した Relaxed clock モデルの2パターンで予備解析を行い、MCMC サンプルにおける AIC (AIC for MCMC samples, AICM) より^{41,42}、以降の解析では Strict clock モデルを採用した。2e7 世代の MCMC 解析を行い、その内 10,000 個の時間軸付き系統樹を抽出した。Tracer v1.6 にて推定値の収束を確認した後、BEAST v1.8.0 に含まれる TreeAnnotator プログラムを用いて、初期 10% を除く事後系統樹群 (posterior set of trees) の中から最大系統信頼度 (各系統の事後確率の積) を有する系統樹 (Maximum clade credibility tree, MCC 系統樹) を得るとともに、各ノードの事後確率、塩基置換速度・各 MRCA の分岐時間 (time to the most recent common ancestor, tMRCA) 及び離散的形質の事後分布を得た。その後、FigTree プログラム (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) を用いて MCC 系統樹の作図を行った。ベイジアン確率的探索変数選択法 (Bayesian stochastic search variable selection procedure) を用いたベイズ比検定 (Bayes Factor test) により、離散的形質変化 (時空間的伝播パターン) の有意性を評価 (離散的形質変化の事

前確率がポワソン分布に従うと仮定し、進化系統樹上で推定された形質変化事後確率との比較によって有意な形質変化を検出した¹⁹。ベイズ比検定ではSPREADプログラムを用いてベイズファクター (Bayes Factor, BF) を算出し⁴³、 $BF > 3$ の伝播を有意とした。また、事後系統樹群の各枝に沿った形質変化の回数 (マルコフジャンプ回数, Markov jump count) を算出することで、時間軸に沿った地域間 (州間) 伝播回数の事後分布を求めた^{44,45}。Rを用いたカーネル密度推定により時間毎のマルコフジャンプ密度 (系統樹の各枝上で生じた形質変化のタイミング) を推定し、時間軸に沿った地域間伝播動態推定を行った。

また、過去10年間におけるタブラス島内での動物狂犬病発生状況を把握するため、フィリピン農務省 (Department of Agriculture, DA) よりロンブロン州タブラス島における動物狂犬病サーベイランスデータを取得した。

5.5 島間伝播の数理モデル解析

狂犬病非流行地域 (島) へのウイルス侵入から狂犬病流行検出までに要する時間を評価することを目的とし、イヌ集団を各コンパートメントに分類した決定論的コンパートメントモデル (Deterministic compartmental model) を用いた狂犬病感染の集団動態解析²⁸を行った。SEI (感受性群-暴露群-感染群, Susceptible - Exposed - Infectious) モデルにワクチン接種群 (Vaccinated, V) を加えたSEIVモデルにより、以下の常微分方程式に従って感染動態の

シミュレーションを行った^{46,47}。数値計算にはRの*deSolve*パッケージを用いた(Text S2)。

$$N = S + E + I + V \quad (1)$$

$$dS/dt = -\beta SI + a(S + E + V) - (b + mN)S - \nu S + \delta V \quad (2)$$

$$dE/dt = \beta SI - \sigma E - (b + mN)E \quad (3)$$

$$dI/dt = \sigma E - \gamma I - (b + mN)I \quad (4)$$

$$dV/dt = \nu S - \delta V - (b + mN)V \quad (5)$$

症例報告率 (reporting rate, r) を仮定し、累積症例報告数 (Cumulative number of reported cases, C) を以下のように計算した。

$$dC/dt = r\gamma I \quad (6)$$

モデルに使用した各パラメータを表3に示した。フィリピンにおける詳細なイヌの生態学的データは報告されておらず、イヌの出生率 (a)、一般死亡率 (b)、狂犬病潜伏期間 ($1/\sigma$)、感染期間 ($1/\gamma$) 等のパラメータはアフリカにおける飼い犬集団より得られたデータを用いた^{46,47}。想定する集団としては、狂犬病症例が報告されたタブラス島オディオングン町 (Odiongan) 及びローク町 (Looc) のイヌ総集団とし、Region IV-BのDAより提供された2012年のイヌ集団総数及びワクチン接種率 (オディオングン及びロークにおけるワクチン接種頭数はそれぞれ1,297、53頭、イヌ頭数はそれぞれ5,562、1,795頭と報告されており、本研究では

オディオンガン及びロックにおけるイヌ頭数の総和を想定集団とした)を使用した。ワクチンによる免疫持続期間($1/\delta$)は2年間とし、ワクチン接種群は時間経過に伴う免疫低下により再び感受性群に戻ると仮定した⁴⁸。

狂犬病非存在時にはイヌ集団密度が一定であり、年に一度ワクチン接種を行なう(1ヶ月間のワクチン接種期間を設定)と仮定し⁴⁷、感受性群及びワクチン接種群中に外部から一例の狂犬病症例が侵入した場合の動態解析を行った。最初の症例侵入を除き、イヌ集団の外部からの流入及び流出はないものとした。これらの仮定のもと、密度依存死亡率(m)を出生率(a)・一般死亡率(b)・環境収容力(K)を用いて以下のように計算した⁴⁷。

$$m = (a - b)/K \quad (7)$$

感染力の大きさを示す R_0 (感受性群における、1感染個体から感染した平均二次感染個体数)は以下のように計算した⁴⁷。

$$R_0 = \sigma\beta S/(\sigma + a)(\gamma + a) \quad (8)$$

本モデルでは $R_0 = 1-2$ ^{5,49}及び症例報告率(r)=1-30%⁵⁰の範囲内で解析を行い、各 R_0 ・報告率条件の下、狂犬病症例侵入後5年間の症例報告数及び侵入から症例検出($C \geq 1$)までに要した期間について計算を行った。

5.6 島内伝播の景観遺伝学的解析

狂犬病ウイルスのルソン島内における地理的伝播動態の解明及び伝播関連因子の探索を目的とし、生態学分野での発展が著しい景観遺伝学²⁹による解析を行った。動植物の遺伝子流動を、地形の不均質性(e.g. 標高や河川の有無)を説明因子としてモデル化し、その詳細な移動パターンを推定・定量化する手法であるが、同手法をウイルスの地理的伝播に応用し、狂犬病ウイルスの遺伝子流動パターンを最もよく説明する因子とその抵抗性(コスト、i.e. 移動しにくさ)について明らかにすることとした。

狂犬病の地理的伝播は、地形・ヒトコミュニティ・狂犬病対策の有無に影響を受けると考えられる。標高勾配や河川・湖・水源、森林地帯などは動物(特に野良犬)の自然行動に影響を与え、その結果、ウイルスの伝播動態に影響を与えるものと考えられる。また、フィリピンでは多くのイヌがヒトコミュニティ近辺に生息しているため、ヒトの生活区域がイヌの行動圏を制限し狂犬病感染鎖を分断している可能性や、道路網が地域間の感染鎖を繋げている可能性が考えられる。各LGUに依存した狂犬病対策において、各地域でのワクチン接種率・教育活動などの差が狂犬病の不均一な伝播パターンに影響を与えている可能性も予想される。これらの仮説のもと、地形・ヒトコミュニティ・狂犬病対策活動に関する地図データセットを収集した(表4)。全ての地図データを約900m x 900m(世界測地系1984[WGS84]における0.00833度)のセルからなる格子状グリッドデータ(ラスターデータ)に変換し、解像度の調整を行った。標高勾配地図はPhilGISウェブサイト(<http://philgis.org/>)より得たShuttle Radar

Topography Mission (SRTM) 数値標高モデル (DEM, Digital Elevation Model) の標高地図を用いて作成した。あるセルにおける標高勾配は、隣接する16方向のセルとの標高差をセル間の距離で割り、得られた16の勾配値の平均値を用いた。河川・湖・水源といった水域データはNational Mapping and Resource Information Authority (NAMRIA)より得た土地利用地図から抽出し、0もしくは1の離散変数とした(河川等が含まれるセルでは1、含まれない場合は0)。植物の分布状況や量を示す植生指数 (Normalized Difference Vegetation Index, NDVI) は、Land Processes Distributed Active Archive Center (LP DAAC)より得たMOD13Q1データを使用した。MODIS Reprojection Tool (https://lpdaac.usgs.gov/tools/modis_reprojection_tool)により、2004年から2013年に得られたNDVIデータを抽出し、その平均値を用いた。NDVIは-1から1までの値をとるが、0未満の地域は植物が存在しない水や裸地であると考えられるため、0未満の地域は全て0として植生分布を示した。2010年における人口密度ラスタデータはPhilGISウェブサイトより得た。OpenStreetMapによって作成された2012年時点の道路網データも同様にPhilGISより入手し、ArcGIS 10.2.2及びSpatialAnalyst (ESRI Inc, Redlands, CA, USA)を用いて道路密度(道路の長さ/セル)を算出した。狂犬病対策活動の良い指標として、イヌにおけるワクチン接種率が挙げられる。しかし、ルソン島内の全LGUにおけるワクチン接種数やワクチン接種率、ワクチン購入数のデータを得ることができなかつたため、代替案としてLGU(州レベル)における人口当たりの総支出額

を用いることとした。予算管理省 (Department of Budget and Management, DBM) より得た 2004年 - 2013年の支出額平均値を用いた。また、情報・教育・コミュニケーション (Information, education, and communication, IEC) も狂犬病対策の一つとして知られており、教育活動の指標として、各 LGU (町レベル) における人口当たりの小学校数を用いた。教育省 (Department of Education, DepEd) より得た 2013年時点の小学校数を用いた。全ての地理データは、R 及び *raster* パッケージを用いて前述通り 900m x 900m に調整し、ルソン島のみ抽出した後、標準化を行った (最小値 0, 最大値 1 に調整)。人口密度データについてのみ、極めて人口密度が高い地域 (マニラ首都圏を含む National Capital Region など) の影響を除くため、上位 5% をカットオフとし、それ以上を標準化後最大値 = 1 となるよう設定した。

上記の地理的変数が狂犬病伝播に対してコスト (障壁因子) であるか、コンダクタンス (促進因子) であるかの解明を目的とし、それら予測因子の存在下ではウイルスが伝播しにくいと仮定するコストモデル、伝播しやすいと仮定するコンダクタンスモデル、及び伝播しやすさが一定であるとする帰無モデルを定義した。地理的変数とコスト値あるいはコンダクタンス値に線形関係を仮定し、以下の式で示した⁵¹。

$$Cost = 1 + \alpha V \quad (9)$$

$$Conductance = 1/Cost = 1/(1 + \alpha V) \quad (10)$$

コスト・コンダクタンスモデルはウイルスが「大きなコストを避けて」あるいは「大きなコンダク

タンスを好んで」伝播すると仮定したモデルであり、その伝播パターンを最小累積コスト距離として示した。それぞれの変数及びモデル(式 (9)・(10))に基いてコスト・コンダクタンス平面を作成し、コスト平面上の検体間最小累積コスト距離の計算をR及び*gdistance*パッケージを用いて行った。コスト距離は、コスト及びコンダクタンスを考慮した検体間の空間的近接性を示しており、狂犬病ウイルス検体間の感染世代の近さと比較することで、ウイルス感染鎖の地理的伝播に対する障壁・促進効果の評価を行った。式(9)、(10)中のコスト係数 α は因子に対するコスト及びコンダクタンスの重みを示しており、 α が大きいほどコスト・コンダクタンス平面上の空間的近接性に対する影響も大きくなる。帰無モデルはコスト係数 $\alpha = 0$ で示され、その場合、コスト・コンダクタンス地図は均質な平面であり、コスト距離は地形に沿った地理的直線距離と近似する(コスト距離の計算において、ラスタデータ上のセル間移動が周囲16方向に制限されており、海上は移動しないとしている)。それぞれの因子について、異なるモデル(コスト・コンダクタンス)およびコスト係数 α (0-500) 条件下でのコスト距離を算出し、以下に示すマンテルテスト⁵¹及びAssociation Index (AI) テスト⁵²を用いて各因子の障壁・促進効果の評価した(図2)。

感染世代の近さの指標としてウイルス間の遺伝的距離を用い、検体間のコスト距離行列及びウイルス間の遺伝的距離行列の相関性をマンテルテストにより評価した(図2, Text S3)。前述の通り、各因子についてコストモデル及びコンダクタンスモデルを当てはめ、ルソン島

内にて得られた各検体(n = 289)間の最小累積コスト距離行列を計算した。各ウイルス間の遺伝的距離行列はRの*ape*パッケージを用いて計算し、プリン間(A-G間) やピリミジン間(C-T間)の置換(トランジション)と、それ以外の置換であるトランスバージョンとで異なる置換確率を仮定したKimura-2パラメータモデルを用いて計算した。得られたコスト距離行列・遺伝的距離行列間の相関関係を、Rの*ecodist*パッケージによるマンテルテストを用いて解析した。ある因子のコストもしくはコンダクタンスモデルにおいて、帰無モデル(地形に沿った地理的直線距離, コスト係数 $\alpha = 0$)よりも高い相関が見られた場合、ウイルス間の感染世代の近さが障壁・促進因子を考慮したコスト距離でよりよく説明されることを示し、因子がウイルスの地理的伝播にとって障壁あるいは促進因子であることを示す。そのため、マンテルテストによる解析では、相関性がより高くなるような因子・モデルの探索を行なう。95%信頼区間は1,000回の反復によるブートストラップ法を用いて算出した。

コスト・コンダクタンス平面上の近接性に基づく空間クラスターを定義し、その空間クラスターのウイルス遺伝子系統クラスタリングに対する寄与度を、AIテストを用いて評価した(図2, Text S4)。前述のように各因子及びモデルについて検体(n = 289)間コスト距離行列を計算し、得られたコスト距離行列に対して多次元尺度構成法(Multidimensional scaling, MDS)を実施することで、コスト・コンダクタンス平面における検体間の近接関係を2次元空間上に再投影した。2次元空間上に再投影された検体群に対し、k-means法によるクラスタリングを行

い、その空間的近接性に基づいたコスト距離空間クラスターを定義した。収束したクラスタリング結果を得るべく、最大100回の反復解析を行い、ランダムな初期値設定による1,000回の再解析結果に基づきクラスターを定義した。得られた空間クラスターのウイルス遺伝子系統クラスターに対する寄与度を以下に示されるAIを用いて評価した⁵²。

$$AI = \sum_{i=1}^k \frac{1-f_i}{2^{m_i-1}} \quad (11)$$

AIは、遺伝子系統樹の先端 (i.e. 各検体) が有する離散的形質と遺伝子系統クラスタリングの関連性を示す指標であり、本研究では上記のように定義したコスト距離空間クラスター分類を離散的形質として解析した。式(11)において、 k は系統樹における内部ノードの数、 f_i はノード i 以下に位置する検体群が有する最頻出形質の出現頻度、 m_i はノード i 以下に位置する検体数を示しており、低いAI値は離散的形質と遺伝子系統クラスタリングの強い関連性を表す。AIの計算にはBaTSソフトウェア⁵²を使用 (R上で実施, Text S4)し、5.3にて作成したルソン島内のウイルス事後系統樹群 (初期10%を除く、 $n = 289$) 及び各因子・モデルにおけるコスト距離空間クラスター群を用いて解析を行った。また、観察された離散的形質をランダムに入れ替え、対応するAIの期待値を算出し、100回の反復計算によるAI期待値の平均値を得た。その後、事後系統樹群を用いて観測されたAI事後分布 (平均値及び95%最高事後密度区間 [95% highest posterior density, 95%HPD]) を平均AI期待値で割ることで調整し、AI比 (観測値/期待値) を得た。ある因子のコストもしくはコンダクタンスモデルにおいて得られ

たAI比が帰無モデルよりも低い場合、ウイルス感染鎖の分布がその障壁あるいは促進因子の分布によってよりよく説明されることを示し、因子がウイルスの地理的伝播にとって障壁あるいは促進因子であることを示す。そのため、AIテストによる解析では、AI比がより低くなるような因子・モデルの探索を行なった。様々な解像度における系統クラスタリングを評価するため、コスト距離空間クラスターを定義する際、クラスター数(K)を5, 10, 20, 及び30に分類し、4パターン解像度の解像度で解析を行った。

6. 結果

6.1 ルソン諸島における狂犬病ウイルス遺伝子系統解析

ルソン諸島にて得られた狂犬病ウイルスG遺伝子配列(n = 302)を用いてベイズ法による遺伝子系統樹を作成し、検体採取地(町レベル)を地図上にプロットした(図3A、B)。その結果、Saitoらの報告同様、ルソン諸島のほとんどのウイルス検体がルソン分岐群に含まれていた¹¹。オリエンタル・ミンドロ州(Oriental Mindoro)ミンドロ島(Mindoro Island)及びパラワン(Palawan)州パラワン島(Palawan Island)にて得られたウイルス検体はそれぞれルソン分岐群とは異なる系統に分類されており、Tohmaらの報告にあるように、中国からのウイルス侵入を受けた後、それぞれルソン分岐群とは異なる進化史をたどったものと考えられる¹²。一方で、近年起こったと疑われる島間伝播例を検出することができた。図3にあるように、Region Vのカタンドゥアネス州(Catanduanes)カタンドゥアネス島(Catanduanes Island)及びRegion IV-Bのロンブロン州タブラス島といった、ルソン島ではない2島において、ルソン分岐群に位置するウイルス検体が検出された。カタンドゥアネス島については、遺伝子系統樹より少なくとも2回の島間伝播が疑われた。カタンドゥアネス島にて得られたウイルス検体は同じRegion Vにて得られたウイルス検体と同じ遺伝子系統クラスターに位置しており、地理的距離を考慮するとRegion V内の島間伝播は比較的容易に起こりえたと考えられる。しかし、ロンブロン州タブラス島にて得られたウイルス検体はルソン島中部に位置するRegion IIIにて得られたウイル

ス検体と遺伝子系統クラスターを形成しており、長距離の人為的な伝播によるものと考えられた。国レベルでの狂犬病制圧のためには、このような人為的な島間伝播、特に狂犬病非流行地域(島)へのウイルス侵入を防ぐ必要がある。そのため、タブラス島にて見られた島間伝播疑い例に焦点を当て、詳細な島間伝播動態について解析を行った。

6.2 タブラス島における動物狂犬病サーベイランスデータ

図4A、Bにタブラス島における過去10年間の動物狂犬病サーベイランス結果を示す。タブラス島において、2004-2010年の間は狂犬病陽性例は報告されておらず、2004年以降では2011年5月に最初の狂犬病陽性例が報告された。その後、2011-2012年の間に8例の狂犬病症例が報告され、2011年にオディオンガン及びロークにて、2012年にはオディオンガンにて検出された(図4A)。8例中、6検体(2011年に3例、2012年に3例)を収集し、ウイルス遺伝子配列を得ることができた(表2)。

6.3 ルソン島-タブラス島における島間伝播例の分子時計・系統地理学的解析

得られたP-G遺伝子配列データ(n = 39)を用いた分子時計・系統地理学的解析により、タブラス島-ルソン島間の時空間的伝播動態を解析した。分岐時間推定により、ロンブロン州内のウイルス検体群(ロンブロン群)とルソン島内のウイルス検体群(ルソン群)のtMRCA

(MRCAの分岐年代)は2009年11月(中央値, 95%HPD = 2007年4月-2011年2月)と推定され、MRCA存在確率(事後確率)は0.904であった(図5A)。また、ロンブロン群内のMRCA存在確率は1.00、tMRCAは2010年12月(95%HPD = 2009年10月-2011年5月)であり、タブラス島にMRCAであるウイルスが侵入した後、感染鎖が繋がっていったことが示された(図5A)。系統地理学的解析では、ベイズ比検定よりロンブロン州タブラス島とルソン島ブラカン州の間での島間伝播が示唆された(BF = 9.0)。両地点間はおよそ300km離れており(図3B)、イヌの自然行動によらない人為的な長距離伝播であることが示唆された。カーネル密度推定により両地点間におけるウイルス伝播を時間軸に沿って見てみると、ロンブロン州-ブラカン州間の島間伝播は2011年以前(中央値: 2010年5月、最頻値: 2010年9月)に生じたものと考えられた(図5B)。幅広いカーネル密度分布のため推定値の幅も大きい(第一四分位: 2009年9月、第三四分位: 2010年11月)、ウイルス侵入から最初の症例報告までに8ヵ月(最頻値)から12ヵ月(中央値)ほど経過していたことが示唆された。

6.4 島間伝播の数理モデル解析

分子時計・系統地理学的解析において見られた侵入-報告までの時間差について、数理モデルを用いて確認を行った。感受性及びワクチン接種群へのウイルス侵入後の感染動態についてシミュレーションし、その結果を図6に示した。アジア及びアフリカ諸国のイヌ集団に

における R_0 は1.0-1.8と推定されている^{5,49}。そのため、 $R_0 = 1-2$ の範囲における感染動態をシミュレーションし、バリ島における狂犬病検出率が約7%であると推定されていることから⁴⁸、症例報告率が1-30%であると仮定した際の症例報告数(図6A)及びウイルス侵入から最初の症例報告までに要した期間(図6B)の推定を行った。結果、前述の R_0 及び報告率範囲内では、ウイルス侵入から症例報告までに3-12ヵ月以上の時間差が生じることが推測され、症例報告率が低い場合には半年以上もの症例検出の遅れが生じることが示唆された。

アフリカにおけるイヌの生態学的データ(出生率及び一般死亡率)を用いてシミュレーションを行ったが、東南アジアに位置するフィリピンとアフリカとではそれらのデータが異なると考えられる。そのため、世代交代速度が速い場合と遅い場合を仮定し、出生率(a)及び一般死亡率(b) = 0.1-1.0(/年)の範囲における感染動態を同様に解析した(図7)。いずれの場合も図5と比べて大きな違いは見られなかった。

6.5 ルソン島内における狂犬病感染鎖の空間構造

続いて地域内における感染伝播動態に注目し、ルソン島内にて得られたウイルス遺伝子系統樹及びその遺伝子系統クラスターの空間分布を図8に示した。いくつかの空間的外れ値は見られるものの(e.g. 多くが南東部に位置するクラスターDの中で、1検体のみルソン島北部にて検出された。また、クラスターIの多くが南部に位置していたが、いくつかの検体は

中央北部にて検出されている)、ルソン島における狂犬病ウイルスの感染鎖には地域的な集積性が見られた。2004-2009年(n = 148)及び2010-2013年(n = 141)とで2期間に分けてプロットした結果を図8C、Dに示す。多くのクラスターが時間経過を経てもほとんど同じ地域で流行を維持していたことから、このような強い空間構造を維持するようなウイルスの地理的伝播に対する障壁・促進因子の存在が示唆された。

6.6 ルソン島内における狂犬病伝播の景観遺伝学的解析

地形・ヒトコミュニティ・狂犬病対策活動因子について、それらがウイルス伝播に対する障壁あるいは促進因子であるという仮定のもとコスト/コンダクタンスモデルを当てはめ、マンテルテストを行った。それぞれ、コスト/コンダクタンス係数 $\alpha = 0-500$ におけるマンテル係数(相関係数)を図9に示した。コスト/コンダクタンスモデルを仮定した際に、帰無モデル($\alpha = 0$)と比べて相関性が増加するかどうかを評価しており、コストと仮定した標高勾配において、そのコスト距離と遺伝的距離との正の相関性、即ち相関係数の増加が見られた(図9A)。標高勾配のコストモデルにおいて高いコスト係数 $\alpha (\geq 130)$ を用いた場合に、相関係数が0.20(帰無モデル)から ≥ 0.30 まで増加したことから、標高勾配がウイルス伝播において障壁として寄与していることが示された。一方で、河川等水域や植生指数についてはコスト/コンダクタンスモデルのいずれにおいても相関係数の増加は認められなかった(図9B, C)。人口密

度のコンダクタンスモデルにおいて相関関係の改善が見られたが、その相関係数の増加は非常に小さく、ヒトコミュニティ関連因子によるウイルス伝播への障壁・促進効果は認められなかった(図9D, E)。LGUにおける総支出額及び小学校数についてはわずかに障壁効果が認められ、コスト係数 $\alpha \geq 40$ もしくは ≥ 50 としたコストモデルを仮定した際に、相関係数がそれぞれ0.25以上まで増加した(図9F, G)。

同様に、それぞれの因子・モデルについてコスト距離空間クラスター分類をし、AIテストを行った(図10)。それぞれの因子について、クラスター数 $K = 5, 10, 20, 30$ の4通りの解析を行い、コスト/コンダクタンス係数 $\alpha = 0-500$ におけるAI比を示した。AIテストでは、それぞれの因子についてコスト/コンダクタンスモデルを仮定した際に、帰無モデル($\alpha = 0$)と比べてAI比が減少するかどうか(即ち、コスト距離空間クラスターの遺伝子系統クラスタリングに対する寄与度が増加するかどうか)を評価している。マンテルテストの結果とは異なり、ウイルス伝播に対する明確な障壁・促進効果を示す因子は認められなかった。クラスター数 $K = 5$ では、標高勾配や河川等水域、植生指数のコストモデルにおいてAI比の減少がわずかに認められたが、 $K \geq 10$ の場合も含め、帰無モデルと比べて明確なAI比の減少は見られなかった(図10A-C)。人口密度や道路密度のコストモデルでは、どちらもコスト係数 $\alpha = 10$ 、クラスター数 $K = 5$ の場合にのみAI比の減少が見られ、帰無モデルよりも低いAI比が得られたが、 $\alpha \geq 10$ もしくは $K \geq 10$ の場合はどちらもコンダクタンスモデルの方がコストモデルよりも

低いAI比が得られた。しかし、いずれも帰無モデルより低いAI比は認められなかった(図10D,E)。LGUにおける小学校数のコストモデルでは、95%HPDの重なりは見られたものの、 $K = 5$ での解析において帰無モデルよりも低いAI比が得られた。しかし、総支出額や $K \geq 10$ での小学校数コストモデル・コンダクタンスモデルでは、いずれも帰無モデルにおけるAI比と比べて明確な減少は認められなかった。

7. 考察

ルソン諸島における狂犬病感染伝播に焦点を当て、島間及び島内伝播の詳細な知見を得ることができた。

島国であるフィリピンでは、海が狂犬病ウイルス伝播の大きな障壁であり、島間伝播は稀なイベントである¹²。しかし本研究では、ルソン諸島に焦点を当てた分子疫学解析より、ルソン島からタブラス島やカタンドゥアネス島にウイルスが伝播し、島内で感染鎖が広がっていたことを明らかにした。タブラス島ではイヌのワクチン接種率が非常に低く(2012年時点では、オディオングアン及びロークのイヌ集団において18%、タブラス島のその他ほとんどの町でも30%未満)、WHOが推奨する接種率70%には遠く及んでいない⁵³。このような低いワクチン接種率のため、ウイルス侵入後に感染鎖が広がり、感染が持続したものと考えられた。

ウイルスの遺伝子系統関係と採取地の地理的關係を考慮すると、ルソン島とタブラス島間での島間伝播は偶発的に生じた単一の伝播であり、タブラス島にウイルスが侵入した後、感染鎖が維持されたものと考えられる。タブラス島で見られた島間伝播例の分子時計解析・系統地理学的解析では、ウイルス侵入から最初の症例報告までに1年近くもの時間差があったことが推測された。決定論的モデルによるシミュレーションにおいても、イヌ狂犬病の R_0 として報告されている $R_0 = 1-2$ の範囲でウイルス侵入から検出までに数ヶ月の時間差が生じることが示唆された。今回、Townsendらの研究報告⁵⁰を参考に症例報告率 = 1-30%の範囲で

モデル解析を行ったが、タブラス島における実際の症例報告率はさらに低い可能性が考えられる。タブラス島はルソン島から海で隔てられており、狂犬病診断を行なう実験設備は島内に存在しない。そのため、狂犬病疑い動物を発見しても、検体(イヌの頭部など)を準備し、ルソン島にあるRADDLへ検体を輸送した上で直接蛍光抗体法による狂犬病診断を行なう必要がある。さらに、フィリピンでは狂犬病疑い例の報告義務に対するコミュニティ内の認識が低く、ボホール島では18%の人々しか狂犬病疑い例を行政機関に報告するという行為を認識していなかった⁵⁴。2008年にインドネシア・バリ島で起きた狂犬病流行について、当時のイヌ狂犬病症例の検出率は約7%と推定されている⁴⁸。タブラス島の症例報告率はバリ島よりもさらに低いことが予想されるが、今回のモデルにおける狂犬病報告率を同様に7%とした場合でも、ウイルス侵入から最初の症例報告までに5-12ヵ月かかることが示唆されている(2008年のバリ島の例では、ウイルスの侵入から症例検出までの期間が約7ヵ月と推定されており、本研究の結果と似た結果が得られている)。ウイルス侵入から検出までにこのような大きな時間差が生じた理由の一つとして、イヌ狂犬病の長い世代時間(平均推定値:約1ヶ月)が挙げられるが⁵、報告率が低い場合には数ヶ月もの症例検出の遅れが生じ、タブラス島における症例報告率が極めて低い可能性を考慮すると、12ヶ月もの時間差も十分に起こりうるものと考えられた。

以上より、動物狂犬病サーベイランスの強化及び症例報告率の改善が狂犬病対策におい

て極めて重要な課題であると考えられる。また、ウイルス侵入から症例報告までの数ヶ月に及ぶ時間差は、地域への狂犬病侵入の発見が非常に困難であることを示している。フィリピンでは州や市/町といったLGUが独自に狂犬病対策を行っており、各LGU内で報告された狂犬病症例数、特にヒト症例が報告された場合、その数に基づいたその場しのぎの対応となっている。しかし、本研究結果は症例報告までに大きな時間差があることを示しており、そのような一時的な対策ではウイルス侵入後に感染鎖が維持されてしまうことを示唆している。そのため、イヌに対する集団ワクチン接種などの狂犬病対策は、非流行時においても維持し継続すべきであると考えられた。

さらに、各LGUで行われる一時的な対策では狂犬病感染鎖をうまく断ち切ることができず、症例数が減少したとしても、再び症例数が増加してしまうことが予想される。例えば、Region IIIのDAより提供されたデータによると、Region IIIでは2003年以降、ワクチン接種率の増加に伴い症例報告数の減少が見られたが(2011年時点で32例の動物狂犬病症例)、2011年以降のワクチン接種率減少に伴い再び症例数の増加が見られ、2013年では80例以上の動物狂犬病症例が報告されている。狂犬病ウイルスの感染鎖には強い空間構造が見られることから、ウイルス伝播動態の空間集積性を考慮した対策によって、より効率的に感染鎖を断ち切ることができると考えられる。ウイルスの地理的伝播パターンへの理解(即ち、各LGUにおいてどこからウイルスが侵入しやすいのかあるいはしにくいのかを知ること)が、地域におけ

る狂犬病対策戦略に非常に有用であると期待される。

マンテルテストでは、標高勾配をコストとしたコスト距離がウイルス間遺伝的距離と最も強い正の相関関係を示し、狂犬病伝播において障壁となっていることが示された。つまり、狂犬病ウイルスは勾配の大きな山岳部では平野部においてよりも拡散しにくいと考えられた。

いくつかの文献では、アライグマ等の野生動物におけるウイルス伝播に対し、山や河川が障壁として寄与していることを報告している^{30,32,33}。しかし、本研究では河川等水域によるウイルス伝播への影響は認められなかった。コンダクタンスモデルでは大きく相関性が減少したことから、河川等がウイルス伝播を促進するという仮定は全く当てはまらないことが分かるが、コストモデルを仮定した場合も相関性が改善されることはなく、帰無モデルと比べて相関係数に差は認められなかった。その要因としては、乾季が存在し、イヌ集団内の感染鎖を分断するほど大きな河川があまり存在しないこと、イヌが生息するヒトコミュニティ近辺の多くで橋が掛かっていること、本研究ではルソン島全域を対象としているため河川等水域による影響が相対的に小さくなってしまっている可能性が考えられる。また、同様に植生指数についても遺伝的距離との正負の相関は認められず、ウイルス伝播に対する影響は小さいものと考えられた。フィリピンではイヌが狂犬病ウイルスの感染鎖を維持しており^{55,56}、イヌは通常ヒトコミュニティ近辺で生息していることから、野生動物で見られた狂犬病伝播動態とは異なる伝播パターンによりウイルスが広がっているものと考えられる。しかし、過去の報告では人口や

道路網がイヌ狂犬病の伝播に影響を与えていると推察されているものの^{26,57}、本研究では期待されていた影響は認められなかった。マンテルテストにおいて、人口による伝播促進効果が障壁効果よりも支持されていたが、帰無モデルと比べると相関係数に大きな改善は見られなかった。ウイルス遺伝子系統クラスターの空間分布を見ても、空間的な外れ値はあまり見られず、フィリピンにおける狂犬病ウイルス伝播ではイヌの自然行動が最も重要な要素であり、ヒトコミュニティの有無はウイルス感染鎖を分断するわけではないと考えられる。イヌが行政区分に関係なく自由行動を行い、ヒトコミュニティからヒトコミュニティへとウイルスを拡散させていることが示唆された。また、ヒトの移動や道路網に沿った長距離伝播が少なく、イヌの自然行動によるウイルス伝播が主であるため、地域ごとに感染鎖が集積したものと考えられた。

マンテルテストより、イヌの自然行動によって、特に標高勾配の影響を受けながらウイルスが地域に伝播していくと考えられた。一方でAIテストでは、狂犬病感染鎖の空間分布を決定づけるほど大きな影響を有する因子は認められなかった。マンテルテストで障壁効果が認められた標高勾配も、狂犬病感染鎖の空間分布に大きな影響を与えるものではなく、ウイルス伝播に対する本研究予測因子の影響はさほど大きくないと考えられる。標高勾配の大きな山岳部ではウイルスの伝播速度が特に遅くなると考えられるものの、感染鎖はコストの有無に関わらず分布しうることが示唆され、地形的メリットがある地域においても近隣地域からの

ウイルス侵入リスクを常に考慮しておく必要があると考えられた。

フィリピンにおいて、狂犬病は既に蔓延状態となっている。新たに病原体が侵入し、感染が伝播・拡大していくエピデミックな状況と異なり、ウイルスの伝播は一方方向でなく、様々な感染鎖が同地域に共在している状態にある。そのため、エピデミックな状況と比較するとウイルスの進化距離 (i.e. 遺伝的距離) とウイルス伝播距離との相関性が低くなってしまうと予想される。本研究において明確な伝播障壁・促進効果が得られなかった一つの要因として、このような蔓延状態における感染鎖推定の難しさが挙げられる。多くのNTDsが蔓延状態であるという現実を考慮しても、蔓延状態にある感染症の伝播動態解明が今後の課題である。

近年、検体採取地の緯度経度を用いた連続的系統地理学的解析 (continuous phylogeographic analysis) によって、病原体進化史に沿った地理的伝播動態を解析する手法が開発されつつある^{58,59}。また、今回は線形かつ単変量のコスト・コンダクタンスモデルを用いたが、非線形モデル (e.g. ヒトの歩行速度と標高勾配の関係性を示すハイキング関数のような非線形モデル⁶⁰) や閾値を設定した離散的モデル (e.g. ある閾値以上の標高勾配の上では移動できないと仮定するモデル)、さらには多変量によるコスト平面の構築等によって、より現実的なウイルス伝播モデルの推定が期待できる。これらの方法は未だ発展途上であるが、病原体の伝播動態、とりわけ宿主の生態に強く影響を受ける人獣共通感染症やベクター媒介感染症などの伝播動態の解明において非常に有用な手法であることから、今度

の発展が必要であると考えられる。

参考文献が古く、野生動物における狂犬病感染鎖については改めて調査する必要があると考えられるが、フィリピンではコウモリからのイヌもしくはヒト狂犬病感染は報告されておらず、また、フィリピンにおける狂犬病ウイルスの進化過程において、異種間伝播により生じるG遺伝子抗原決定部位の選択圧も検出されなかったことから、コウモリはイヌやヒト集団における狂犬病感染鎖に含まれていないと考えられている^{12,55,56}。そのため、本研究で見られたような島間伝播や外れ値として検出された長距離の島内伝播は、ヒトを介したイヌの移動によるものと考えられる。ヒトを介したイヌの移動による狂犬病伝播についてはいくつかの研究で推察されているが^{15,61}、狂犬病清浄地域へのウイルス侵入を防ぐためにはそのようなイヌの移動を厳しく規制する必要がある。フィリピンでは、各LGU間のイヌの輸送にはワクチン接種の証明書の提示が必要など、ヒトを介したイヌの移動に対する制限を設けているが⁶²、本研究結果はそれらの対策が十分ではなかったことを示しており、そのような長距離伝播を防ぐためにはより厳密に制限を行なう必要があると考えられた。

本研究の限界として、いくつかの問題点が挙げられる。本研究では広範囲（ルソン諸島）における検体収集を行うため受動的サーベイランスによって検体を収集したが、ヒト狂犬病症例報告数と動物狂犬病症例報告数とに相関が見られない地域があることや、全ての動物狂犬病症例から検体を入手し解析することができなかったことから、地域によるサンプリン

グバイアスの存在が示唆されている(図11)。このようなサンプリングバイアスによる地域的・時間的な偏りが、分子時計解析や系統地理学的解析における時間差推定及び景観遺伝学による解析結果に影響を与えている可能性がある。DAより得たタブラス島における動物狂犬病サーベイランスのデータについても同様、受動的サーベイランスによるサンプリングバイアスが存在していると考えている。2004年から2010年の間、タブラス島では狂犬病陽性例が報告されていないが、実際に狂犬病症例が存在していなかったのか、それとも症例検出率が低いため狂犬病症例が報告されていないかは明らかでない。本研究では、タブラス島にて異なるいくつかの感染鎖が広がっていたという事実は確認されていないが、症例報告率が低くワクチン接種率も低いことを考慮すると、2004年から2010年の間も症例が検出されなかっただけで実際は狂犬病感染鎖が存在していた可能性も否定できない。数理モデル解析では、多くのパラメータがアフリカにおける過去の研究結果を参考にして設定されており、フィリピンにおけるイヌの生態学的なデータ及びサーベイランスデータは乏しい。ヒトが関与していない野良犬のデータについてはサーベイランスデータから欠けている可能性もあり、今回用いたイヌ頭数やワクチン接種率が過小及び過大評価されている可能性がある。島内伝播研究においても同様、イヌの生態学的データや疫学データの不足により、イヌ頭数やイヌワクチン接種率等といったウイルス伝播に大きく影響を与える予測因子の影響を評価することができなかった。ルソン島内の全LGUからワクチン接種率あるいはワクチン接

種数データを得ることが困難であったため、代替案として各LGUにおける人口当たりの年間総支出額を用い、各LGUの財政力とウイルス伝播との関連性について解析を行った。結果、マンテルテストではわずかながら有意な障壁効果を示しており、ウイルス伝播を防ぐ効果があるものと考えられた。しかし、年間支出額が各LGUのワクチン購入量や狂犬病対策活動量、ワクチン接種率などを正確に反映している保証はなく、そのため狂犬病伝播に対する対策活動の効果について、本研究で仔細に議論することは難しい。この点が今後の課題であるが、より正確な狂犬病対策活動指標を使用し、ウイルスの地理的伝播に対する現行の対策活動の効果を評価することで、フィリピンにおける今後の狂犬病対策戦略の考案に大きく寄与することができると考えている。また、狂犬病に限らず、感染症対策の効果を病原体の地理的拡散という側面から評価した研究はこれまでに報告されておらず、研究手法の新規性という面でも今後の発展が期待できる。

以上のような研究限界はあるものの、本研究により明らかとなったフィリピンにおける島間伝播及び島内伝播動態についての詳細な知見は、狂犬病高リスク地域として報告されている他の発展途上国(特に、社会的背景が類似する東南アジア諸国)における狂犬病対策において有用であると考えている。ウイルス侵入から症例報告までに数ヶ月に及ぶ時間差があることから、発展途上国で見られる地域に依存した受動的サーベイランスでは、ウイルス侵入の早期検出が困難であることが推察される。同じ島国であるインドネシアにおいても島間

伝播が狂犬病清浄化における大きな問題となっており⁶³、島間伝播ではないものの、タイや中国においても人為的と疑われる狂犬病の長距離伝播例が報告されている^{15,64}。発展途上国ではサーベイランスにおける症例報告率が低いと予想され、フィリピンを含むこれら高リスク地域において、イヌの輸送規制による人為的な狂犬病伝播の防止やサーベイランスの強化による偶発的なウイルス侵入の早期検出を継続して行う必要があると考えられる。また、LGU別の対策では感染鎖を断ち切ることが難しく、地域内の狂犬病対策において、LGU等の行政区分は意味をなさないと考えられる。この知見は、同様にイヌが狂犬病を媒介する他の東南アジア諸国にも当てはまると考えられるが、隣接するLGU(あるいは島国でない他の東南アジア諸国では隣接する国々)からのウイルス侵入は常に危惧すべきであり、地形やヒトコミュニティの有無はウイルス伝播に大きく影響を与えないということを考慮した、LGU間(あるいは国間)の協調的な対策が必要であると考えられた。サーベイランスにおける症例報告率を明らかにした研究はほとんどなされておらず、対策によって症例数が減ったとしても、本当に狂犬病感染鎖を断ち切ることができたのかを正確に評価することは難しい。本研究ではウイルス遺伝子を用いることで、島間伝播の時空間的な動態や、地域内伝播に関与する障壁因子を明らかにすることができたが、今後、前向きな実地疫学に基づいて構築した個体ベースの狂犬病数理モデルと積極的サーベイランスによる詳細な分子疫学解析とを組み合わせることで、感染の確率性や非検出例を含むさらに詳細な感染鎖の動態解析が期待

できる。あるいは、イヌの自然行動パターンを全地球測位システム (Global Positioning System, GPS) 等を用いて明らかにし、狂犬病ウイルスの伝播パターンと照らし合わせることで、イヌの自然行動がどれほどウイルス伝播に寄与しているのかを直接的に解析することができるのではないかと考えている。島間あるいは近隣地域間のウイルス侵入頻度や侵入後の流行発生あるいは消滅確率、イヌの行動とウイルス伝播との関連、感染鎖維持におけるスーパープレッダーの役割、さらにはワクチン接種等対策による感染拡大の防止効果や現状のサーベイランスにおける症例検出限界の評価を行うことが、狂犬病疫学・分子疫学研究における今後の課題である。現行では、「過去2年間にイヌ由来狂犬病ウイルスによる動物及びヒト狂犬病症例が報告されていないこと」が狂犬病清浄化の指標として用いられている⁵³。しかし、フィリピンのような発展途上国は十分なサーベイランスを行うことが難しく、症例報告率が低いと考えられることから、「症例が報告されていない」ため「狂犬病が存在していない」という判断は非常に困難であると考えられる。よって、上記のような研究を通し、狂犬病流行状況をより正確に把握するためのサーベイランス手法の開発の他、対策の継続性(あるいは非継続性)と再流行確率との関係性、症例検出率と感染鎖維持確率・再流行確率との関係性を明らかにし、“清浄化”の判断に必要な新たな指標の開発を行うことで、フィリピン及び他の狂犬病蔓延国における狂犬病政策に大きく寄与できるものと期待される。

8. 結論

2004-2013年に動物狂犬病受動的サーベイランスを通して得られた狂犬病ウイルス遺伝子配列データを用い、フィリピンのルソン諸島における狂犬病ウイルスの詳細な時空間的伝播動態の解明を行った。ルソン諸島では、低頻度ながらも島から島へのウイルス伝播が見られ、侵入を受けた島内で感染鎖が広がっていたことが明らかとなった。ルソン島からタブラス島への島間伝播例では、人為的なイヌの移動によるウイルス伝播であることが示唆されており、そのようなイヌの移動に対するさらなる規制強化が必要であることを示している。また、ウイルス侵入時期を推定した結果、侵入から症例検出までに中央値で12ヵ月もの時間差が生じていたことが示され、数理モデル解析においても検出力の低いサーベイランス下では少なくとも半年以上の時間差が生じ得ることが示唆された。以上の結果は、ウイルス侵入の早期検出が困難であることを示しており、狂犬病非流行地域であっても持続的な狂犬病対策を行なう必要があると考えられる。サーベイランスによる検出率が低い場合、症例検出がさらに遅れることが予想され、サーベイランスの強化も重要な課題であると考えられた。一方で、ルソン島内の地理的伝播については、標高勾配がウイルス伝播の最も大きな障壁であることが明らかとなった。狂犬病対策に関する因子(LGU内の財政力や小学校数)もわずかにウイルス伝播を阻止していると推測されたが、標高勾配も含め、それらの影響は感染鎖の空間的広がりを定めるほど大きいものではなかった。ヒトコミュニティのウイルス伝播に対する影響も

見られず、現状のLGU別の対策では感染鎖を断ち切ることが難しいと考えられる。隣接するLGUからのウイルス侵入は常に危惧すべきであり、地形やヒトコミュニティの有無はウイルス伝播に大きく影響を与えないということを考慮した上で、各LGU間の協調的な対策を行なう必要があると考えられた。

以上より、現状の対策では狂犬病清浄化の実現可能性が低いことが予想される。清浄化のためにはサーベイランスの強化やワクチン接種率の向上といった対策の継続が重要であり、地域間の連携した狂犬病対策によつて的確に狂犬病感染鎖を断ち切る必要があると考えられた。

9. 参考文献

- 1 Hampson, K, Coudeville, L, Lembo, T *et al.* Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; **9**, e0003709.
- 2 Coleman, PG & Dye, C. Immunization coverage required to prevent outbreaks of dog rabies. *Vaccine* 1996; **14**, 185–186.
- 3 Lembo, T, on behalf of the Partners for Rabies Prevention, 2012. The blueprint for rabies prevention and control: a novel operational toolkit for rabies elimination. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; **6**, e1388.
- 4 World Health Organization. Global distribution of risk to humans of contracting rabies. 2013; Available: <http://www.who.int/rabies/epidemiology/en/> (Accessed on 26 October 2015).
- 5 Hampson, K, Dushoff, J, Cleaveland, S *et al.* Transmission dynamics and prospects for the elimination of canine rabies. *PLoS Biol* 2009; **7**, e53.
- 6 Yamamoto, S, Iwasaki, C, Oono, H, Ninomiya, K & Matsumura, T. The first imported case of rabies into Japan in 36 years: a forgotten life-threatening disease. *Journal of travel medicine* 2008; **15**, 372–374.
- 7 Tamashiro, H, Matibag, GC, Ditangco, RA, Kanda, K & Ohbayashi, Y. Revisiting

- rabies in Japan: is there cause for alarm? *Travel Med Infect Dis* 2007; **5**, 263–275.
- 8 World Health Organization Western Pacific Region. Rabies in the Philippines. Available: http://www.wpro.who.int/philippines/areas/communicable_diseases/rabies/continuation_rabies_area_page/en/ (Accessed on 20 December 2015).
- 9 Centers for Disease Control and Prevention. Rabies-Free Countries and Political Units. 2013; Available: <http://www.cdc.gov/importation/rabies-free-countries.html> (Accessed on 20 December 2015).
- 10 Dodet, B. Report of the sixth AREB meeting, Manila, The Philippines, 10–12 November 2009. *Vaccine* 2010; **28**, 3265–3268.
- 11 Saito, M, Oshitani, H, Orbina, JRC *et al.* Genetic diversity and geographic distribution of genetically distinct rabies viruses in the Philippines. *PLoS Neglected Tropical Disease* 2013; **7**, e2144.
- 12 Tohma, K, Saito, M, Kamigaki, T *et al.* Phylogeographic analysis of rabies viruses in the Philippines. *Infect Genet Evol* 2014; **23**, 86–94.
- 13 Lapiz, SM, Miranda, ME, Garcia, RG *et al.* Implementation of an intersectoral program to eliminate human and canine rabies: the Bohol Rabies Prevention and Elimination Project. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; **6**, e1891.

- 14 Bourhy, H, Reynes, JM, Dunham, EJ *et al.* The origin and phylogeography of dog rabies virus. *J Gen Virol* 2008; **89**, 2673–2681.
- 15 Denduangboripant, J, Wacharapluesadee, S, Lumlertdacha, B *et al.* Transmission dynamics of rabies virus in Thailand: implications for disease control. *BMC Infect Dis* 2005; **5**, 52.
- 16 Grenfell, BT, Pybus, OG, Gog, JR *et al.* Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science* 2004; **303**, 327–332.
- 17 Griffiths, RC & Tavaré, S. Ancestral Inference in Population Genetics. *Statistical Science* 1994; **9**, 307–319.
- 18 Drummond, AJ, Suchard, MA, Xie, D & Rambaut, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol* 2012; **29**, 1969–1973.
- 19 Lemey, P, Rambaut, A, Drummond, AJ & Suchard, MA. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Comput Biol* 2009; **5**, e1000520.
- 20 Pybus, OG & Rambaut, A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat Rev Genet* 2009; **10**, 540–550.
- 21 Stadler, T, Kouyos, R, von Wyl, V *et al.* Estimating the basic reproductive number from viral sequence data. *Mol Biol Evol* 2012; **29**, 347–357.

- 22 Lemey, P, Rambaut, A, Welch, JJ & Suchard, MA. Phylogeography takes a relaxed random walk in continuous space and time. *Mol Biol Evol* 2010; **27**, 1877–1885.
- 23 Fusaro, A, Monne, I, Salomoni, A *et al.* The introduction of fox rabies into Italy (2008–2011) was due to two viral genetic groups with distinct phylogeographic patterns. *Infect Genet Evol* 2013; **17**, 202–209.
- 24 Gong, W, Jiang, Y, Za, Y *et al.* Temporal and spatial dynamics of rabies viruses in China and Southeast Asia. *Virus Res* 2010; **150**, 111–118.
- 25 Meng, S, Xu, G, Wu, X *et al.* Transmission dynamics of rabies in China over the last 40 years: 1969–2009. *J Clin Virol* 2010; **49**, 47–52.
- 26 Talbi, C, Lemey, P, Suchard, MA *et al.* Phylodynamics and human-mediated dispersal of a zoonotic virus. *PLoS Pathog* 2010; **6**, e1001166.
- 27 Hayman, DT, Johnson, N, Horton, DL *et al.* Evolutionary history of rabies in Ghana. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; **5**, e1001.
- 28 Panjeti, VG & Real, LA. Mathematical models for rabies. *Advances in virus research* 2011; **79**, 377–395.
- 29 Manel, S, Schwartz, MK, Luikart, G & Taberlet, P. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in ecology & evolution* 2003; **18**,

- 189–197.
- 30 Biek, R, Henderson, JC, Waller, LA, Rupprecht, CE & Real, LA. A high-resolution genetic signature of demographic and spatial expansion in epizootic rabies virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**, 7993–7998.
- 31 Recuenco, S, Eidson, M, Kulldorff, M, Johnson, G & Cherry, B. Spatial and temporal patterns of enzootic raccoon rabies adjusted for multiple covariates. *International journal of health geographics* 2007; **6**, 14.
- 32 Rees, EE, Pond, BA, Cullingham, CI *et al.* Assessing a landscape barrier using genetic simulation modelling: implications for raccoon rabies management. *Prev Vet Med* 2008; **86**, 107–123.
- 33 Wheeler, DC & Waller, LA. Mountains, valleys, and rivers: The transmission of raccoon rabies over a heterogeneous landscape. *Journal of agricultural, biological, and environmental statistics* 2008; **13**, 388–406.
- 34 Ronquist, F, Teslenko, M, van der Mark, P *et al.* MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology* 2012; **61**, 539–542.
- 35 Tamura, K, Peterson, D, Peterson, N *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics

- analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; **28**, 2731–2739.
- 36 Prosperi, MC, Ciccozzi, M, Fanti, I *et al.* A novel methodology for large-scale phylogeny partition. *Nature communications* 2011; **2**, 321.
- 37 Brzozka, K, Finke, S & Conzelmann, KK. Identification of the rabies virus alpha/beta interferon antagonist: phosphoprotein P interferes with phosphorylation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 2005; **79**, 7673–7681.
- 38 Nadin-Davis, SA & Real, LA. Molecular phylogenetics of the lyssaviruses—insights from a coalescent approach. *Advances in virus research* 2011; **79**, 203–238.
- 39 Campos, AC, Melo, FL, Romano, CM *et al.* One-step protocol for amplification of near full-length cDNA of the rabies virus genome. *J Virol Methods* 2011; **174**, 1–6.
- 40 Suchard, MA & Rambaut, A. Many-core algorithms for statistical phylogenetics. *Bioinformatics* 2009; **25**, 1370–1376.
- 41 Baele, G, Lemey, P, Bedford, T *et al.* Improving the accuracy of demographic and molecular clock model comparison while accommodating phylogenetic uncertainty. *Mol Biol Evol* 2012; **29**, 2157–2167.
- 42 Raftery, AE, Newton, MA, Satagopan, JM & Krivitsky, PN. Estimating the Integrated

- Likelihood via Posterior Simulation Using the Harmonic Mean Identity. *Bayesian Statistics* 2007; **8**, 1–45.
- 43 Bielejec, F, Rambaut, A, Suchard, MA & Lemey, P. SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. *Bioinformatics* 2011; **27**, 2910–2912.
- 44 Minin, VN & Suchard, MA. Counting labeled transitions in continuous-time Markov models of evolution. *J Math Biol* 2008; **56**, 391–412.
- 45 O’Brien, JD, Minin, VN & Suchard, MA. Learning to count: robust estimates for labeled distances between molecular sequences. *Mol Biol Evol* 2009; **26**, 801–814.
- 46 Hampson, K, Dushoff, J, Bingham, J *et al.* Synchronous cycles of domestic dog rabies in sub-Saharan Africa and the impact of control efforts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**, 7717–7722.
- 47 Kitala, PM, McDermott, JJ, Coleman, PG & Dye, C. Comparison of vaccination strategies for the control of dog rabies in Machakos District, Kenya. *Epidemiol Infect* 2002; **129**, 215–222.
- 48 Townsend, SE, Sumantra, IP, Pudjiatmoko *et al.* Designing programs for eliminating canine rabies from islands: Bali, Indonesia as a case study. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; **7**, e2372.

- 49 Zinsstag, J, Durr, S, Penny, MA *et al.* Transmission dynamics and economics of rabies control in dogs and humans in an African city. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**, 14996–15001.
- 50 Townsend, SE, Lembo, T, Cleaveland, S *et al.* Surveillance guidelines for disease elimination: a case study of canine rabies. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2013; **36**, 249–261.
- 51 Shirk, AJ, Wallin, DO, Cushman, SA, Rice, CG & Warheit, KI. Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Mol Ecol* 2010; **19**, 3603–3619.
- 52 Parker, J, Rambaut, A & Pybus, OG. Correlating viral phenotypes with phylogeny: accounting for phylogenetic uncertainty. *Infect Genet Evol* 2008; **8**, 239–246.
- 53 World Health Organization. WHO Expert Consultation on Rabies, *WHO Technical Report Series 982*, Second report. 2013.
- 54 Davlin, SL, Lapid, SM, Miranda, ME & Murray, KO. Knowledge, attitudes, and practices regarding rabies in Filipinos following implementation of the Bohol Rabies Prevention and Elimination Programme. *Epidemiol Infect* 2014; **142**, 1476–1485.
- 55 Armbrulo, PV, 3rd, Beran, GW & Escudero, SH, 3rd. Eradication of rabies in the

- Philippines. *HSMHA Health Rep* 1972; **87**, 87–92.
- 56 Beran, GW. Ecology of Dogs in the Central Philippines in Relation to Rabies Control Efforts. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 1982; **5**, 265–270.
- 57 Tenzin, Wacharapluesadee, S, Denduangboripant, J *et al.* Rabies virus strains circulating in Bhutan: implications for control. *Epidemiol Infect* 2011; **139**, 1457–1462.
- 58 Dellicour, S, Rose, R & Pybus, OG. Explaining the geographic spread of emerging viruses: a new framework for comparing viral genetic information and environmental landscape data. *European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology* 2014; Stockholm, Sweden (poster presentation).
- 59 Bouckaert, R, Lemey, P, Dunn, M *et al.* Mapping the origins and expansion of the Indo-European language family. *Science* 2012; **337**, 957–960.
- 60 Tobler, W. Three presentations on geographical analysis and modeling. National center for geographic information and analysis. TECHNICAL REPORT 93-1, 1993.
- 61 Talbi, C, Lemey, P, Suchard, MA *et al.* Phylodynamics and human-mediated dispersal of a zoonotic virus. *PLoS Pathog* 2010; **6**, e1001166.

- 62 Department of Health, Philippines. National Rabies Prevention and Control Program Manual of Operations. 2012. Available: <http://www.doh.gov.ph/sites/default/files/FINALMOP6.4.13WORDRADMay30.pdf> (Accessed on 21 August 2015).
- 63 Dibia, IN, Sumiarto, B, Susetya, H *et al.* Phylogeography of the current Rabies viruses in Indonesia. *J Vet Sci* 2015.
- 64 Gong, W, Jiang, Y, Za, Y *et al.* Temporal and spatial dynamics of rabies viruses in China and Southeast Asia. *Virus Res* 2010; **150**, 111–118.

10. 図

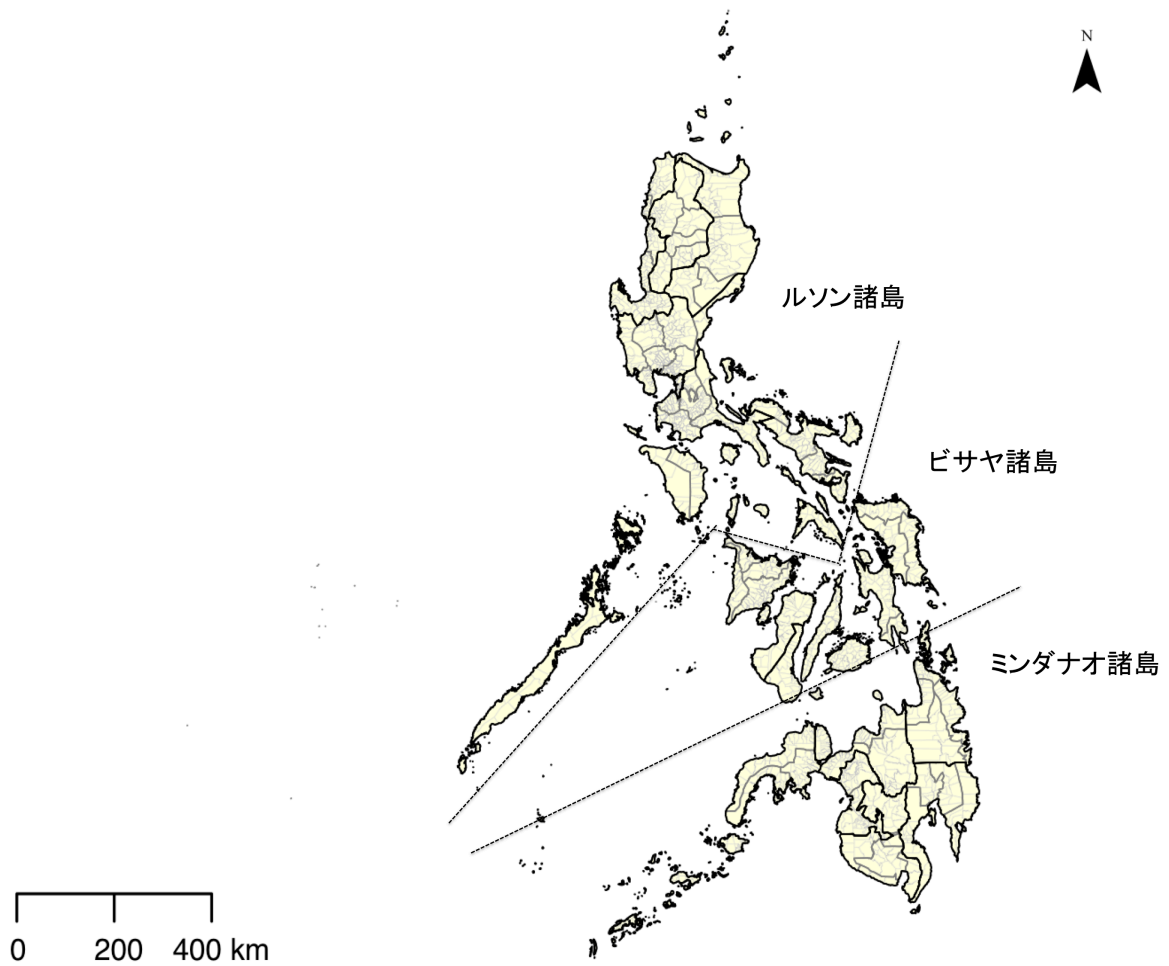
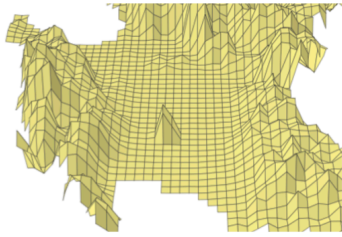


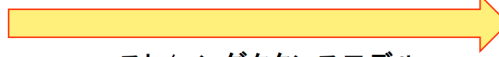
図1:フィリピン共和国行政地図

フィリピンにおける3つの群島(ルソン諸島、ビサヤ諸島、ミンダナオ諸島)及び地方(黒線)・州(灰色線)・市/町(薄い灰色細線)を示す。

説明変数 V_1



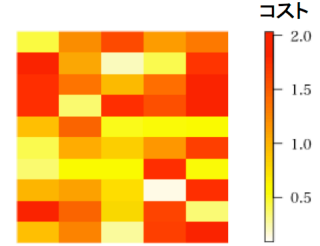
コスト/コンダクタンス平面変換



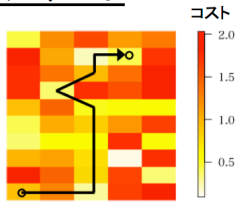
コスト/コンダクタンスモデル

$$Cost = 1 + \alpha V_1 [scaled]$$

$$Conductance = 1 / Cost$$

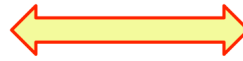


1. マンテルテスト



最小累積コスト距離
(コスト/コンダクタンス平面上)

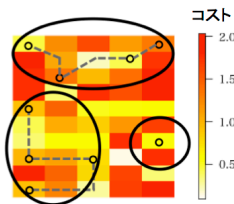
距離行列間
相関解析



```
GCTCTTTTGTGGTACCCCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTTTGTGGTACCCCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCTCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTATGTTTGTACCCCTTCTGGTCTT1  
GCTCTTTTGTGGTACCCCTTCTGGTCTT1
```

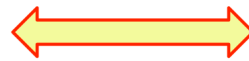
ウイルス遺伝的距離

2. Association index (AI)テスト

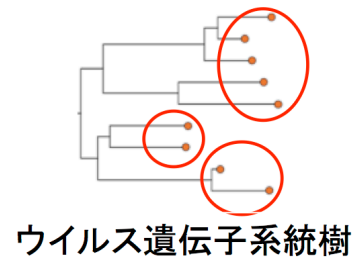


空間クラスター (k-means法)
(コスト/コンダクタンス平面上)

クラスター間
関連度解析



(AI: 空間クラスターの
遺伝子系統クラスター
に対する寄与度)



ウイルス遺伝子系統樹

図2: 景観遺伝学による狂犬病地理的伝播関連因子の探索・評価方法

コスト/コンダクタンス平面変換、マンテルテストによる距離行列間相関解析及び、AIテストによるクラスター間関連度解析の手順を示す。

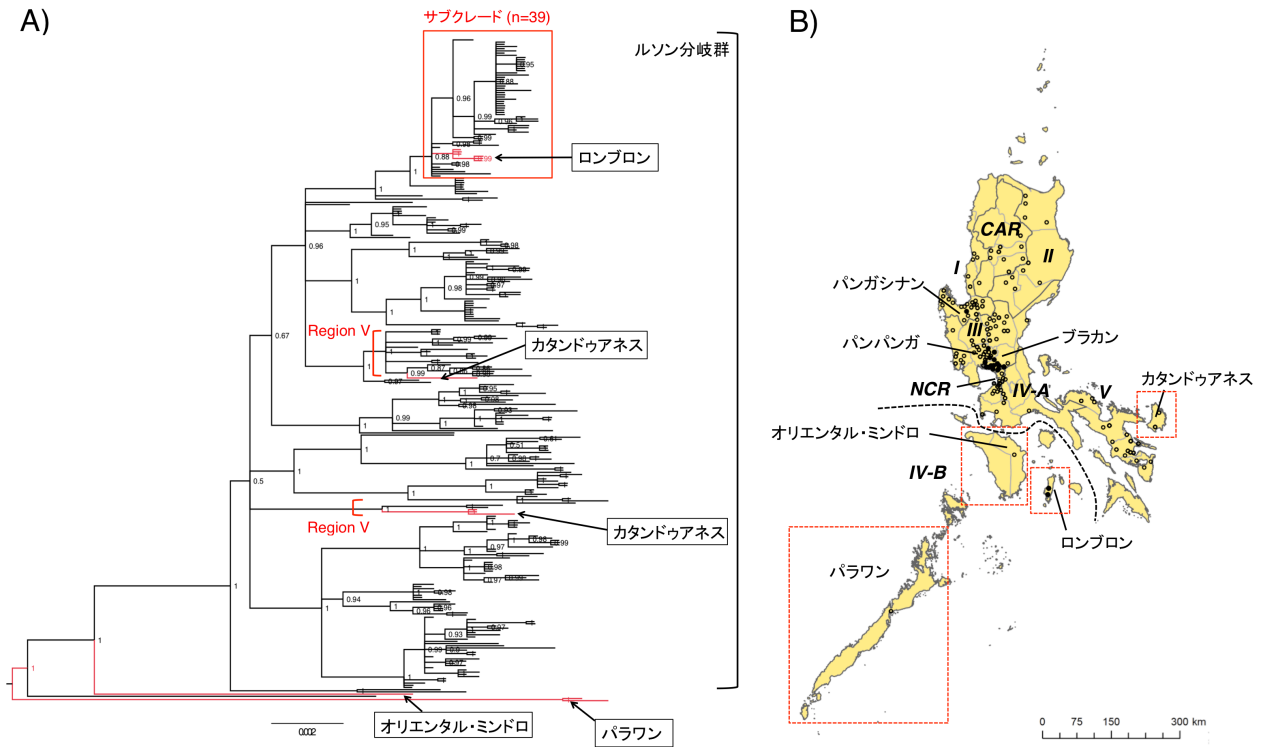


図3:ルソン諸島における狂犬病ウイルス遺伝子系統関係及び空間分布

A)ルソン諸島において得られた狂犬病ウイルス(n = 302)の遺伝子系統樹を示す。ルソン島以外の島で得られた検体を矢印及び赤色で示し、得られた島名を記載している。得られたウイルスのほぼ全てがルソン分岐群に分類されるが、オリエンタル・ミンドロ州及びパラワン州にて得られたウイルスはそれぞれ異なる分岐群に位置していた。図中の四角はロンブロン州タブラス島にて得られた検体を含むサブクレード群(n = 39)を示す。B)得られた狂犬病ウイルス検体の空間分布を示す。●は前述のサブクレードに含まれる検体を、○はその他の検体を示している。サブクレード群に含まれる検体はロンブロン州の他、それぞれブラカン州・パンパンガ州・パンガシナン州にて得られた。

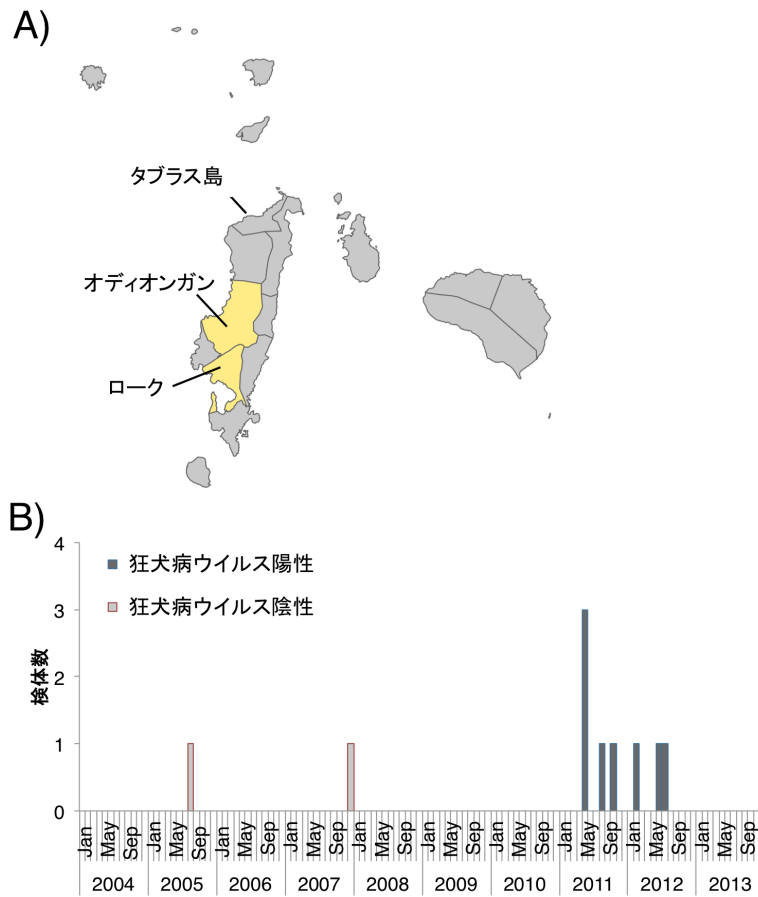
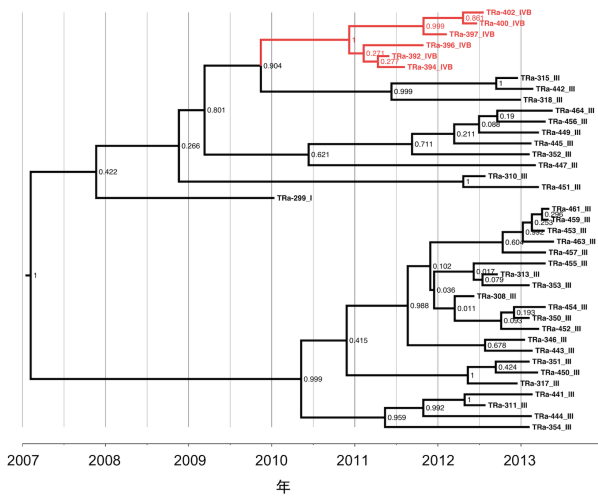


図4: タブラス島における動物狂犬病サーベイランスデータ

A) ロンブロン州及びタブラス島の地図を示す。狂犬病陽性例は、図に示すオディオンガン及びロークにて検出された。B) タブラス島における過去10年間の動物狂犬病サーベイランス結果を示す。

A)



B)

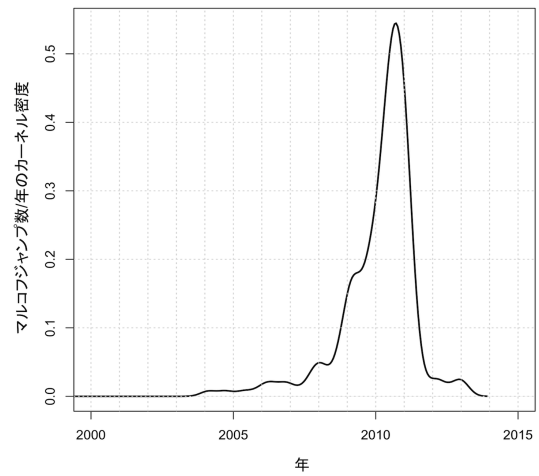


図5: タブラス島における島間伝播例の分子時計・系統地理学的解析

A) サブクレード群の分子時計解析結果(時間軸付き系統樹)を示す。各最近共通祖先(Most recent common ancestor, MRCA)の事後確率を各ノード上に示す。タブラス島にて得られた検体を赤色で示している。B) カーネル密度推定にて得たロンブロン州-ブラカン州における島間伝播推定時期を示す。

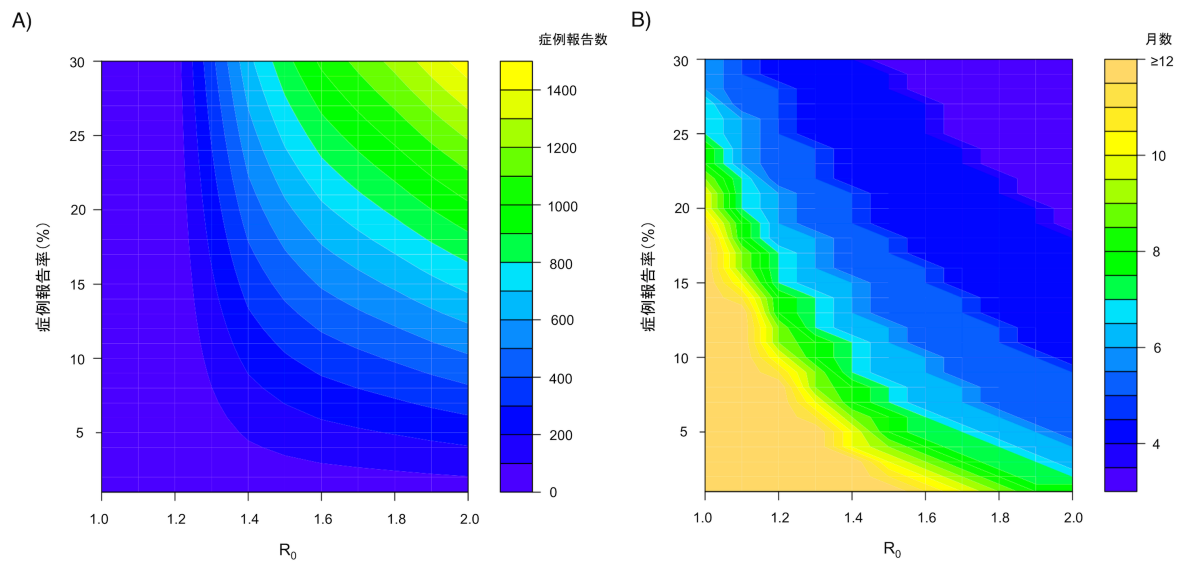


図6: 島間伝播の数理モデル解析

様々な R_0 及び症例報告率における、A)ウイルス侵入後5年間の累積症例報告数とB)ウイルス侵入から症例検出までに要した月数を示す。

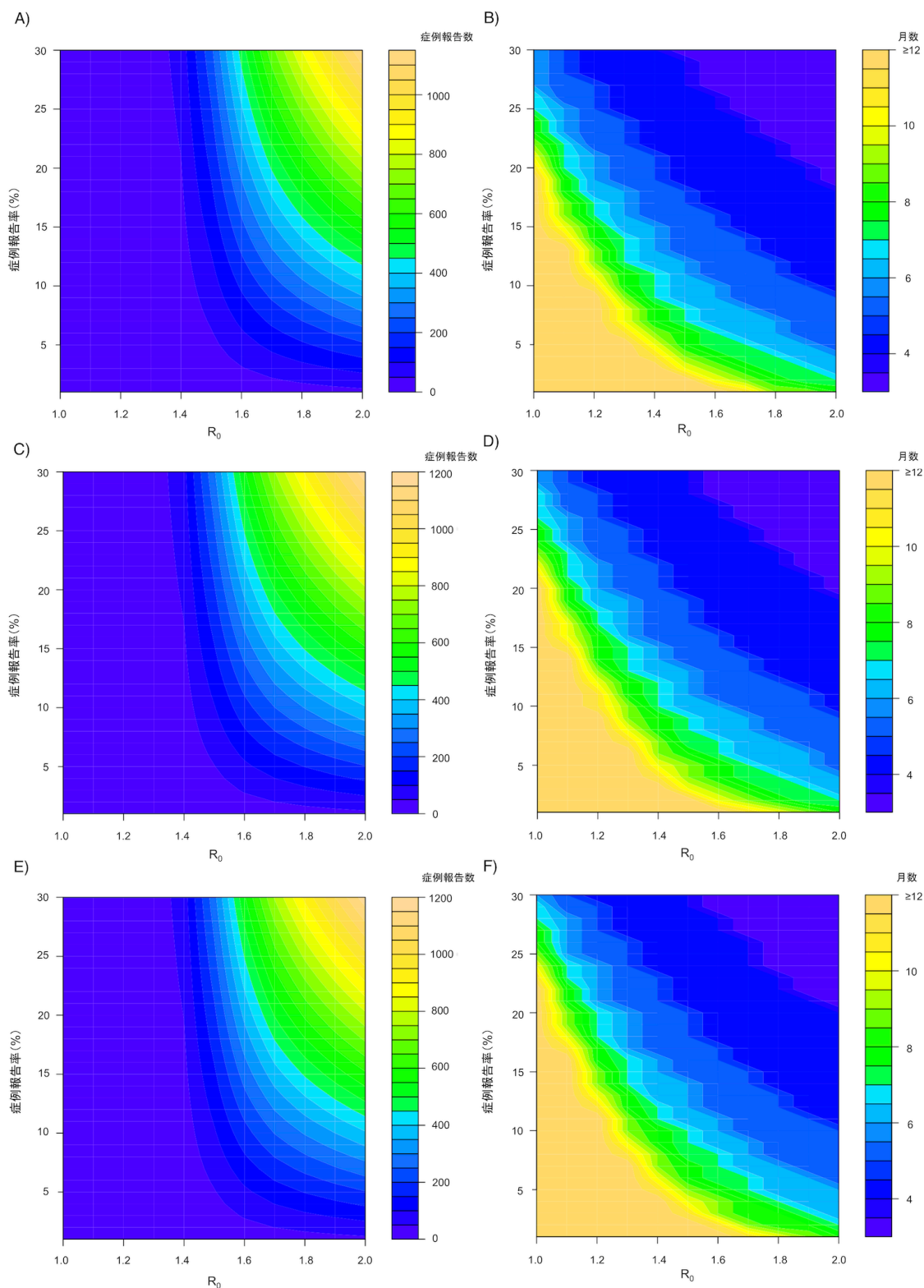


図7: 様々な出生率・一般死亡率における島間伝播数理モデル解析

様々な R_0 及び症例報告率における、出生率・一般死亡率 = 0.1, 0.5, 1.0(/年)条件下での A, C, E) ウイルス侵入後5年間の累積症例報告数と B, D, F) ウイルス侵入から症例検出までに要した月数を示す。

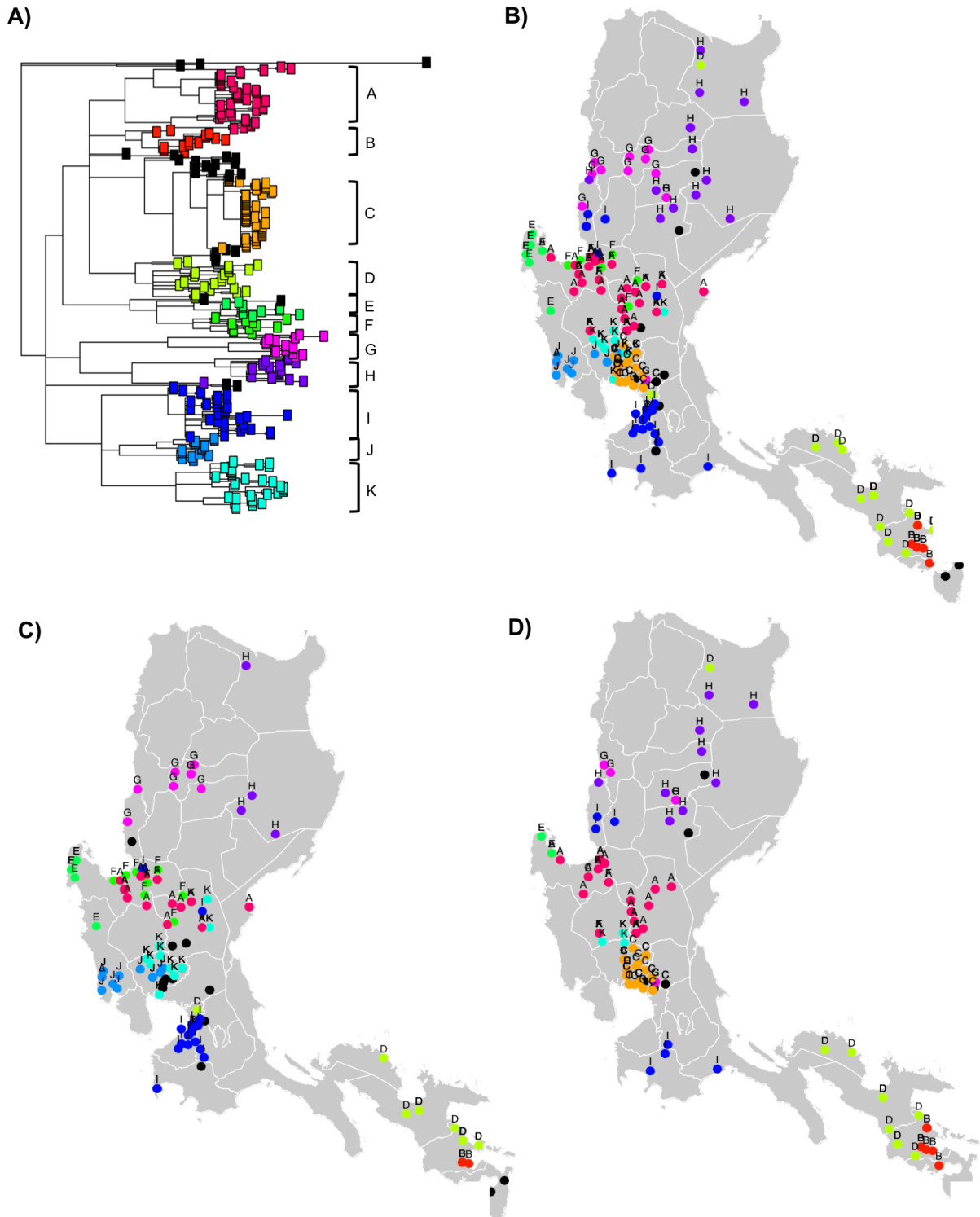


図8:ルソン島内における狂犬病感染鎖の空間構造

A)ルソン島内にて得られた狂犬病ウイルス(n = 289) 遺伝子系統樹及び、系統クラスターを示す。B)各遺伝子系統クラスターを行政地図(州レベル)上に示す。A)においていずれの遺伝子系統クラスターにも分類されなかった検体は●で示す。C, D)はそれぞれ2004-2009年(n = 148)、2010-2013年(n = 141)に得られた遺伝子系統クラスターの空間分布を示す。

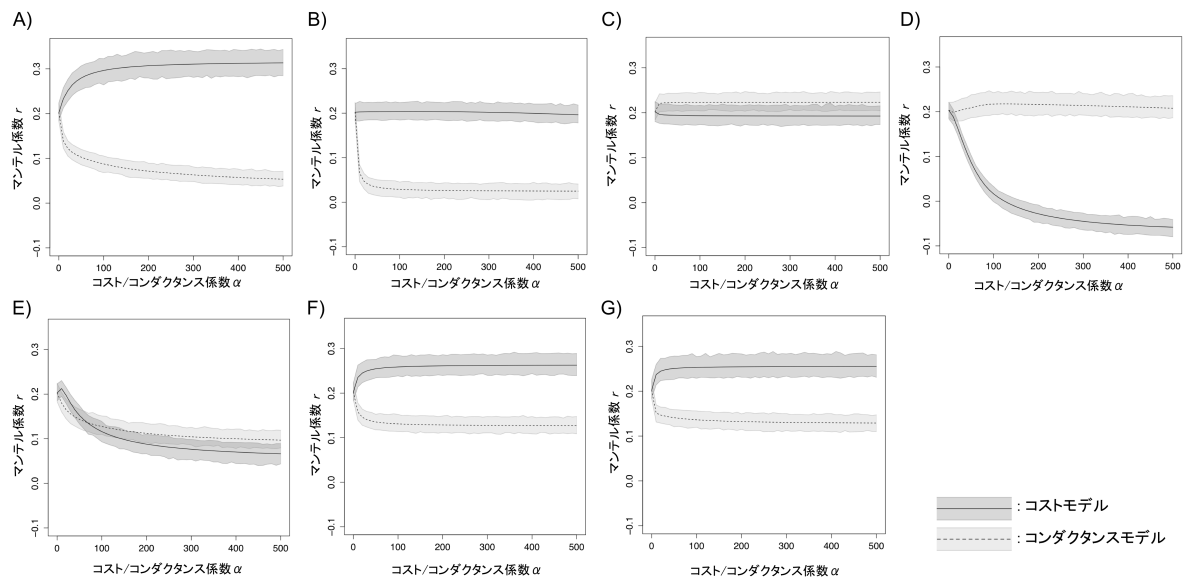


図9: マンテルテスト

A-G)はそれぞれ標高勾配、河川等水域、植生指数、人口密度、道路密度、LGU総支出額、小学校数のコストモデル(実線及び濃い灰色[95%信頼区間])及びコンダクタンスモデル(点線及び薄い灰色[95%信頼区間])におけるマンテルテストの結果を示す。x軸がコスト/コンダクタンス係数 α を、y軸がマンテル係数(相関係数, r)を示す。

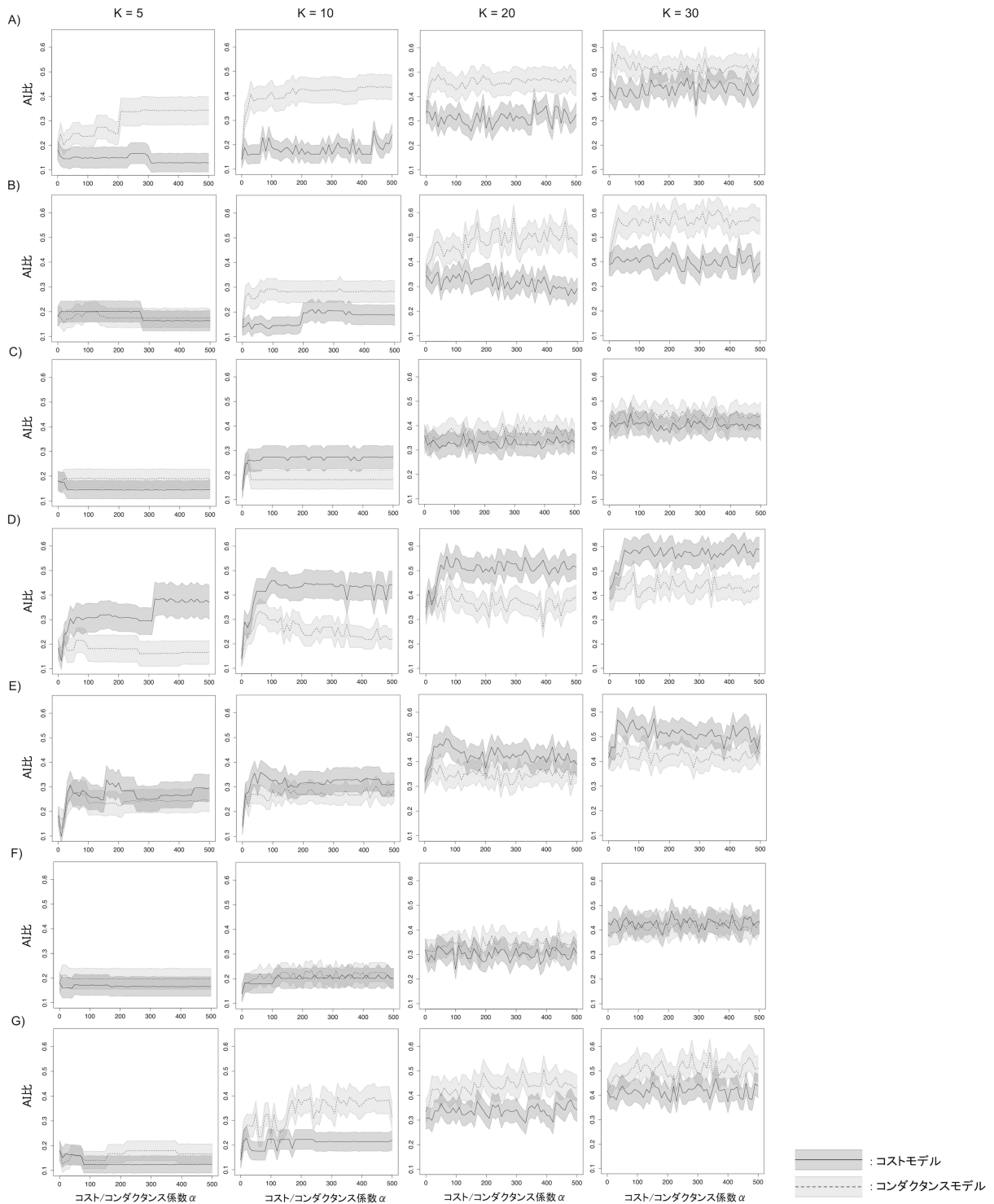


図10: AIテスト

A-G)はそれぞれ標高勾配、河川等水域、植生指数、人口密度、道路密度、LGU総支出額、小学校数のコストモデル(実線及び濃い灰色[95%最高事後密度区間])及びコンダクタンスモデル(点線及び薄い灰色[95%最高事後密度区間])におけるAIテストの結果を示す。それぞれ、クラスター数(K) = 5, 10, 20, 30の結果を示している。x軸がコスト/コンダクタンス係数 α を、y軸がAI比を示す。

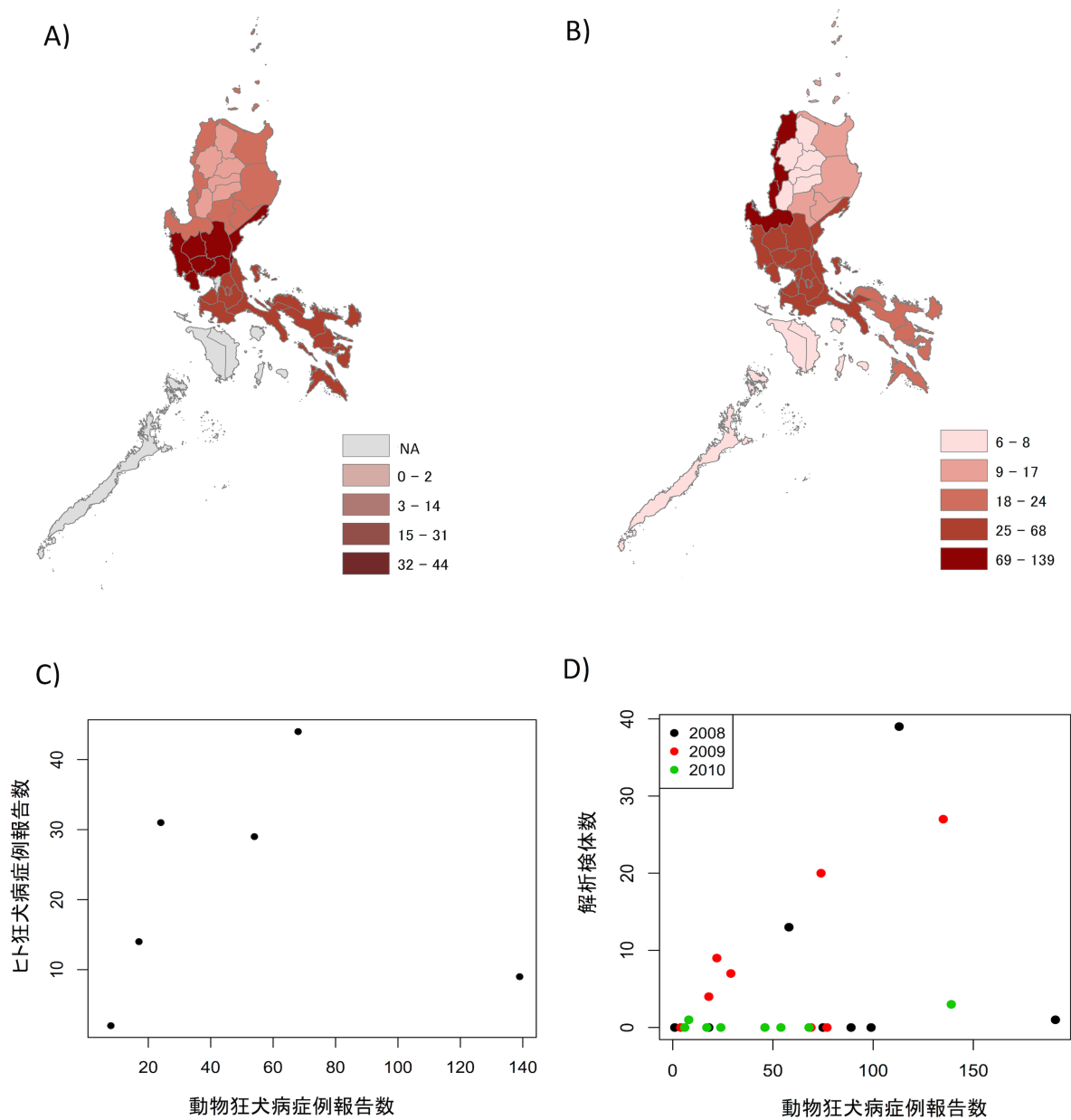


図11: サンプルバイアス

A, B, C)はそれぞれ、2010年にルソン諸島で報告されたヒト狂犬病症例報告数のヒートマップ、動物狂犬病症例報告数のヒートマップ、及び動物狂犬病症例報告数とヒト狂犬病症例報告数の散布図を示す。D)は、2008-2010年にルソン諸島で得られた動物狂犬病症例報告数と解析に用いた遺伝子配列数(検体数)の散布図を示す。いずれも地方ごとに集計されたデータを用いた。

11. 表

表1. 検体数情報

地方	年										計
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
CAR	0	0	0	0	0	7	1	0	0	8	16
I	0	0	0	0	1	27	3	0	14	4	49
II	0	0	0	0	0	4	0	0	0	7	11
III	1	2	0	0	39	20	0	0	14	66	142
IV-A	4	0	10	4	0	0	0	1	3	1	23
IV-B	0	0	1	0	0	0	0	3	3	2	9
NCR	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0	10
V	0	0	0	0	13	9	0	0	12	8	42
総数	7	10	11	4	53	67	4	4	46	96	302

CAR: the Cordillera Administrative Region, NCR: the National Capital Region

表 2. 検体情報

ウイルス検体名	検体採取日	検体採取地				動物種	アクセッション番号		参考文献
		地方	州	市/町	島		G遺伝子	P遺伝子	
RV/R3.PHL/2008/TRa-002	2008/6/12	III	Pampanga	San Simon	Luzon	Dog	AB563838	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-005	2008/6/16	V	Albay	Tabaco City	Luzon	Dog	AB563839	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-006	2008/6/19	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	AB563840	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-009	2008/6/24	III	Nueva Ecija	Lupao	Luzon	Dog	AB563841	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-010	2008/6/30	III	Pampanga	Santa Ana	Luzon	Dog	AB563842	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-011	2008/7/2	III	Zambales	Subic	Luzon	Cat	AB563843	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-013	2008/7/9	III	Tarlac	Concepcion	Luzon	Dog	AB563844	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-016	2008/7/21	III	Zambales	San Antonio	Luzon	Dog	AB563846	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-017	2008/7/23	III	Pampanga	Mexico	Luzon	Dog	AB683585	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-018	2008/7/28	III	Zambales	San Antonio	Luzon	Dog	AB563847	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-019	2008/7/28	III	Pampanga	Mabalacat	Luzon	Dog	AB563848	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-020	2008/7/28	III	Pampanga	Santa Rita	Luzon	Dog	AB563849	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-021	2008/7/28	III	Nueva Ecija	Quezon	Luzon	Dog	AB563850	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-022	2008/7/28	III	Pampanga	Mabalacat	Luzon	Dog	AB563851	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-031	2008/7/8	V	Albay	Bacacay	Luzon	Dog	AB563858	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-032	2008/7/16	V	Albay	Bacacay	Luzon	Dog	AB563859	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-034	2008/7/17	V	Albay	Tabaco City	Luzon	Dog	AB683632	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-036	2008/8/14	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	AB563861	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-037	2008/8/15	V	Camarines Sur	Gainza	Luzon	Dog	AB563862	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-038	2008/8/4	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	AB563863	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-040	2008/8/8	III	Zambales	San Felipe	Luzon	Dog	AB563864	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-041	2008/8/11	III	Tarlac	Moncada	Luzon	Dog	AB563865	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-047	2008/8/26	III	Zambales	San Narciso	Luzon	Dog	AB563867	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-048	2008/8/27	III	Zambales	San Narciso	Luzon	Dog	AB563868	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-049	2008/8/29	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	AB563869	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-051	2008/9/9	III	Pampanga	Magalang	Luzon	Dog	AB563870	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-059	2008/9/10	III	Pampanga	Mexico	Luzon	Dog	AB563878	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-060	2008/9/15	III	Pampanga	Magalang	Luzon	Dog	AB563879	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-061	2008/9/23	III	Pampanga	Mabalacat	Luzon	Dog	AB563880	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-062	2008/9/24	III	Nueva Ecija	Licab	Luzon	Dog	AB563881	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-063	2008/9/25	III	Nueva Ecija	Rizal	Luzon	Dog	AB563882	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-064	2008/9/29	III	Pampanga	Masantol	Luzon	Dog	AB563883	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-065	2008/10/10	III	Nueva Ecija	San Jose City	Luzon	Dog	AB563884	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-066	2008/10/13	III	Pampanga	San Simon	Luzon	Dog	AB563885	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-067	2008/8/21	V	Albay	Daraga (Locsin)	Luzon	Dog	AB563886	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-071	2008/10/2	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	AB563887	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-072	2008/10/15	V	Albay	Tiwi	Luzon	Dog	AB563888	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-073	2008/10/21	V	Sorsogon	Juban	Luzon	Dog	AB563889	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-086	2008/10/20	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	AB563901	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-087	2008/11/3	III	Pampanga	Santa Rita	Luzon	Dog	AB563902	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-088	2008/11/4	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	AB563903	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-089	2008/11/10	III	Nueva Ecija	Laur	Luzon	Dog	AB563904	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-090	2008/11/12	III	Pampanga	Macaabebe	Luzon	Dog	AB563905	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-091	2008/11/19	III	Pampanga	San Luis	Luzon	Dog	AB563906	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-092	2008/11/25	III	Pampanga	Santa Rita	Luzon	Dog	AB563907	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-093	2008/12/2	III	Pampanga	Angeles City	Luzon	Dog	AB563908	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2008/TRa-094	2008/12/3	I	Pangasinan	Lingayen	Luzon	Dog	AB563909	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-095	2008/12/5	III	Nueva Ecija	Laur	Luzon	Dog	AB563910	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-111	2008/12/9	III	Pampanga	Mabalacat	Luzon	Dog	AB563924	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2008/TRa-112	2008/12/17	III	Zambales	Castillejos	Luzon	Dog	AB563925	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-113	2009/1/5	III	Nueva Ecija	Munoz	Luzon	Dog	AB563926	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-114	2009/1/6	III	Zambales	San Marcelino	Luzon	Dog	AB563927	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-115	2009/1/29	III	Pampanga	Santa Ana	Luzon	Dog	AB563928	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-116	2009/1/14	III	Zambales	San Felipe	Luzon	Dog	AB563929	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-117	2009/1/19	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	AB563930	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-118	2009/1/26	III	Pampanga	San Luis	Luzon	Dog	AB563931	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-120	2008/11/20	V	Catanduanes	Virac	Catanduanes	Dog	AB683637	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-121	2008/11/27	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	AB563934	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2008/TRa-123	2008/12/24	V	Catanduanes	Virac	Catanduanes	Dog	AB563936	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-127	2009/2/2	III	Pampanga	Masantol	Luzon	Dog	AB563937	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-128	2009/2/2	III	Nueva Ecija	Palayan	Luzon	Dog	AB563938	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-129	2009/2/1	III	Pampanga	San Luis	Luzon	Dog	AB563939	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-130	2009/2/13	III	Pampanga	Angeles City	Luzon	Dog	AB563940	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-132	2009/2/20	III	Nueva Ecija	Talugtug	Luzon	Dog	AB683586	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-133	2009/2/23	III	Pampanga	Santo Tomas	Luzon	Dog	AB563942	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-134	2009/2/26	III	Nueva Ecija	Pantabangan	Luzon	Dog	AB563943	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-135	2009/3/5	III	Pampanga	Santa Ana	Luzon	Dog	AB563944	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-136	2009/3/29	III	Nueva Ecija	San Antonio	Luzon	Dog	AB563945	—	Saito et al., 2013
RV/R2.PHL/2009/TRa-142	2009/2/26	II	Cagayan	Allacapan	Luzon	Dog	AB563946	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-150	2009/3/5	I	Pangasinan	Asingan	Luzon	Dog	AB563951	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-151	2009/3/5	I	Pangasinan	Asingan	Luzon	Dog	AB563952	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-153	2009/3/11	I	Pangasinan	Laoac	Luzon	Dog	AB563953	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-154	2009/3/13	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB563954	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-156	2009/3/23	I	Pangasinan	Burgos	Luzon	Dog	AB838709	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-157	2009/3/31	I	Pangasinan	Agno	Luzon	Dog	AB563955	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-159	2009/4/2	I	Pangasinan	San Jacinto	Luzon	Dog	AB563956	—	Saito et al., 2013

表 2. 検体情報(続き)

RV/R1.PHL/2009/TRa-161	2009/4/13	I	Pangasinan	Urdaneta	Luzon	Dog	AB563957	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-183	2009/5/12	V	Albay	Daraga (Locsin)	Luzon	Dog	AB563969	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-198	2009/7/13	CAR	Mountain Province	Tadian	Luzon	Dog	AB563973	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-199	2009/7/14	CAR	Mountain Province	Sadanga	Luzon	Dog	AB563974	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-200	2009/7/28	CAR	Mountain Province	Sadanga	Luzon	Dog	AB563975	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-201	2009/5/12	III	Nueva Ecija	San Leonardo	Luzon	Dog	AB563976	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-202	2009/5/13	III	Zambales	Masinloc	Luzon	Dog	AB563977	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-204	2009/5/22	III	Pampanga	San Luis	Luzon	Dog	AB563978	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-205	2009/5/25	III	Nueva Ecija	San Jose City	Luzon	Dog	AB563979	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2009/TRa-206	2009/7/7	III	Pampanga	Porac	Luzon	Dog	AB563980	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-208	2009/4/27	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB563981	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-209	2009/5/11	I	Pangasinan	Pozorrubio	Luzon	No data	AB563982	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-210	2009/5/25	I	Pangasinan	Urdaneta	Luzon	Dog	AB563983	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-213	2009/6/10	I	Pangasinan	Binalaya	Luzon	Dog	AB563984	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-214	2009/6/15	I	Pangasinan	Bani	Luzon	Dog	AB563985	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-215	2009/6/17	I	Pangasinan	Manaoag	Luzon	Dog	AB563986	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-216	2009/6/29	I	La Union	Aringay	Luzon	Dog	AB563987	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-218	2009/7/13	I	La Union	San Fernando	Luzon	Dog	AB563988	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-219	2009/7/20	I	Pangasinan	Urbiztondo	Luzon	Dog	AB563989	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-220	2009/7/22	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB563990	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-221	2009/7/23	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB563991	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-222	2009/8/13	CAR	Mountain Province	Besao	Luzon	Dog	AB563992	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-224	2009/8/26*	CAR	Ifugao	Banaue	Luzon	Dog	AB563993	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-225	2009/5/18	V	Albay	Daraga (Locsin)	Luzon	Dog	AB563994	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-226	2009/5/25	V	Albay	Daraga (Locsin)	Luzon	Dog	AB563995	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-227	2009/6/22	V	Albay	Tabaco City	Luzon	Dog	AB563996	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-229	2009/7/24	V	Catanduanes	Virac	Catanduanes	Dog	AB563997	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-231	2009/8/17	V	Camarines Norte	Vinzons	Luzon	Dog	AB563998	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-233	2009/9/16	I	Mountain Province	Bontoc	Luzon	Dog	AB563999	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-234	2009/9/17	CAR	Mountain Province	Bontoc	Luzon	No data	AB564000	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-256	2009/8/3	I	Pangasinan	San Manuel	Luzon	Dog	AB733964	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-257	2009/8/11	I	Pangasinan	Bani	Luzon	Dog	AB733965	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-258	2009/8/18	I	Pangasinan	Agno	Luzon	Dog	AB733966	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-259	2009/8/14	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB733967	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-260	2009/8/17	I	Pangasinan	Alcala	Luzon	Dog	AB733968	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-263	2009/10/14	I	Pangasinan	Dagupan City	Luzon	Dog	AB733969	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2009/TRa-265	2009/10/21	I	Ilocos Sur	Tagudin	Luzon	Dog	AB733970	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-268	2009/10/20	V	Sorsogon	Gubat	Luzon	Dog	AB733977	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-272	2009/11/18	V	Albay	Daraga (Locsin)	Luzon	Dog	AB733978	—	Saito et al., 2013
RV/R5.PHL/2009/TRa-273	2009/11/26	V	Albay	Legaspi City	Luzon	Dog	AB733979	—	Saito et al., 2013
RV/R2.PHL/2009/TRa-279	2009/7/3	II	Isabela	San Mateo	Luzon	Dog	AB733974	—	Saito et al., 2013
RV/R2.PHL/2009/TRa-283	2009/11/25	II	Isabela	Santiago City	Luzon	Dog	AB733975	—	Saito et al., 2013
RV/R2.PHL/2009/TRa-284	2009/11/25	II	Isabela	San Agustin	Luzon	Dog	AB733976	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2009/TRa-285	2009/10/24	CAR	Mountain Province	Bontoc	Luzon	Dog	AB733961	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2010/TRa-286	2010/1/4	I	Ilocos Sur	Suyo	Luzon	Dog	AB733971	—	Saito et al., 2013
RV/CAR.PHL/2010/TRa-289	2010/1/25	CAR	Ifugao	Alfonso	Luzon	Dog	AB733962	—	Saito et al., 2013
RV/R1.PHL/2010/TRa-299	2010/1/11	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	AB733972	LC018592	Saito et al., 2013及び本研究
RV/R1.PHL/2010/TRa-300	2010/2/15	I	Pangasinan	Alcala	Luzon	Dog	AB733973	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2012/TRa-302	2012/2/16	III	Tarlac	Capas	Luzon	Dog	LC018482	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-303	2012/4/23	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC018483	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-305	2012/4/25	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	LC018484	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-306	2012/5/15	III	Nueva Ecija	Guimba	Luzon	Dog	LC018485	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-307	2012/5/22	III	Tarlac	Bamban	Luzon	Dog	LC018486	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-308	2012/6/7	III	Bulacan	Santa Maria	Luzon	Dog	LC018487	LC018593	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-309	2012/7/9	III	Tarlac	Capas	Luzon	Dog	LC018488	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-310	2012/7/26	III	Bulacan	Santa Maria	Luzon	Dog	LC018489	LC018594	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-311	2012/7/26	III	Bulacan	Paombong	Luzon	Dog	LC018490	LC018595	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-312	2012/7/30	III	Nueva Ecija	Zaragosa	Luzon	Dog	LC018491	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-313	2012/9/18	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC018492	LC018596	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-314	2012/9/19	III	Tarlac	Concepcion	Luzon	Dog	LC018493	—	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-315	2012/12/16	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018494	LC018597	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-317	2012/12/14	III	Bulacan	Meycauayan	Luzon	Dog	LC018495	LC018598	本研究
RV/R3.PHL/2012/TRa-318	2012/12/28	III	Bulacan	Marilao	Luzon	Dog	LC018496	LC018599	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-320	2012/1/6	I	Pangasinan	Bolinao	Luzon	Dog	LC018497	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-323	2012/2/17	I	Pangasinan	Alaminos	Luzon	Dog	LC018498	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-324	2012/3/11	I	Pangasinan	Bolinao	Luzon	Dog	LC018499	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-325	2012/3/12	I	Pangasinan	Alaminos	Luzon	Dog	LC018500	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-327	2012/4/10	I	Pangasinan	Mangatarem	Luzon	No data	LC018501	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-337	2012/8/7	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	LC018502	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-338	2012/8/9	V	Catanduanes	Panganiban	Catanduanes	Dog	LC018503	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-339	2012/8/13	V	Albay	Oas	Luzon	Dog	LC018504	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-340	2012/8/15	V	Camarines Norte	Daet	Luzon	Dog	LC018505	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-343	2012/11/6	V	Camarines Norte	Labo	Luzon	Dog	LC018506	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-344	2012/12/5	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	LC018507	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-346	2013/1/16	III	Pampanga	San Simon	Luzon	Dog	LC018508	LC018600	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-347	2013/1/23	III	Nueva Ecija	Licab	Luzon	No data	LC018509	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-348	2013/1/23	III	Nueva Ecija	San Antonio	Luzon	Dog	LC018510	—	本研究

表 2. 検体情報(続き)

RV/R3.PHL/2013/TRa-349	2013/1/23	III	Nueva Ecija	San Antonio	Luzon	Dog	LC018511	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-350	2013/2/5	III	Bulacan	Malolos	Luzon	Dog	LC018512	LC018601	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-351	2013/2/5	III	Bulacan	Pandi	Luzon	No data	LC018513	LC018602	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-352	2013/2/5	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018514	LC018603	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-353	2013/2/5	III	Bulacan	Malolos	Luzon	Dog	LC018515	LC018604	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-354	2013/2/5	III	Bulacan	Baliuag	Luzon	Dog	LC018516	LC018605	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-355	2012/6/11	V	Albay	Tiwi	Luzon	Dog	LC018517	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-356	2012/6/13	V	Albay	Tabaco	Luzon	Dog	LC018518	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-357	2012/6/14	V	Sorsogon	Castilla	Luzon	Dog	LC018519	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-358	2012/6/14	V	Camarines Norte	Labo	Luzon	Dog	LC018520	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-360	2012/6/18	V	Albay	Legaspi City	Luzon	Dog	LC018521	—	本研究
RV/R5.PHL/2012/TRa-362	2012/7/19	V	Albay	Oas	Luzon	Dog	LC018522	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-364	2013/1/15	V	Albay	Camalig	Luzon	Dog	LC018523	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-365	2013/2/4	V	Albay	Tabaco	Luzon	Dog	LC018524	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-370	2013/2/25	CAR	Kalinga Apayao	Tabuk	Luzon	Dog	LC018525	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-375	2012/5/8	I	Pangasinan	San Carlos City	Luzon	Dog	LC018526	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-376	2012/5/8	I	Pangasinan	Alcala	Luzon	Dog	LC018527	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-377	2012/5/15	I	Pangasinan	Santa Barabara	Luzon	Dog	LC018528	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-378	2012/5/29	I	Pangasinan	Santa Barabara	Luzon	Dog	LC018529	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-379	2012/6/7	I	Pangasinan	San Jacinto	Luzon	Dog	LC018530	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-381	2012/6/13	I	Pangasinan	Manaoag	Luzon	Dog	LC018531	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-382	2012/11/5	I	La Union	Aringay	Luzon	Dog	LC018532	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-383	2012/11/14	I	Pangasinan	Sual	Luzon	Dog	LC018533	—	本研究
RV/R1.PHL/2012/TRa-384	2012/12/19	I	Pangasinan	San Jacinto	Luzon	Dog	LC018534	—	本研究
RV/R4B.PHL/2011/TRa-392	2011/5/31	IV-B	Romblon	Odiangan	Tablas	Dog	LC018535	LC018606	本研究
RV/R4A.PHL/2011/TRa-393	2011/7/27	IV-A	Laguna	Calamba	Luzon	Dog	LC018536	—	本研究
RV/R4B.PHL/2011/TRa-394	2011/8/7	IV-B	Romblon	Looc	Tablas	Dog	LC018537	LC018607	本研究
RV/R4B.PHL/2011/TRa-396	2011/10/28	IV-B	Romblon	Looc	Tablas	Dog	LC018538	LC018608	本研究
RV/R4B.PHL/2012/TRa-397	2012/2/7	IV-B	Romblon	Odiangan	Tablas	Dog	LC018539	LC018609	本研究
RV/R4A.PHL/2012/TRa-398	2012/5/11	IV-A	Quezon	Lucena City	Luzon	Dog	LC018540	—	本研究
RV/R4B.PHL/2012/TRa-400	2012/6/19	IV-B	Romblon	Odiangan	Tablas	Dog	LC018541	LC018610	本研究
RV/R4A.PHL/2012/TRa-401	2012/6/22	IV-A	Batangas	San Nicolas	Luzon	Dog	LC018542	—	本研究
RV/R4B.PHL/2012/TRa-402	2012/7/18	IV-B	Romblon	Odiangan	Tablas	Dog	LC018543	LC018611	本研究
RV/R4A.PHL/2012/TRa-404	2012/8/31	IV-A	Batangas	Tanauan	Luzon	Dog	LC018544	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-405	2013/4/26	CAR	Ifugao	Lamut	Luzon	Dog	LC018545	—	本研究
RV/R1.PHL/2013/TRa-406	2013/4/14	I	Ilocos sur	Santa Cruz	Luzon	Dog	LC018546	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-407	2013/4/5	CAR	Ifugao	Lamut	Luzon	Dog	LC018547	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-409	2013/2/18	CAR	Benguet	La Trinidad	Luzon	Dog	LC018548	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-421	2013/1/15	V	Albay	Camalig	Luzon	Dog	LC018549	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-422	2013/2/4	V	Albay	Tabaco	Luzon	Dog	LC018550	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-425	2013/3/15	V	Camarines Sur	Naga City	Luzon	Dog	LC018551	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-426	2013/3/18	V	Camarines Sur	Bato	Luzon	Dog	LC018552	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-427	2013/4/15	V	Albay	Jovellar	Luzon	Dog	LC018553	—	本研究
RV/R5.PHL/2013/TRa-429	2013/4/24	V	Albay	Daraga	Luzon	Dog	LC018554	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-435	2013/5/2	II	Cagayan	Piat	Luzon	Dog	LC018555	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-437	2013/5/15	II	Nueva Vizcaya	Bayombong	Luzon	Dog	LC018556	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-439	2013/5/17	II	Cagayan	Lasam	Luzon	Dog	LC018557	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-441	2013/2/18	III	Pampanga	Macabebe	Luzon	Dog	LC018558	LC018612	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-442	2013/2/21	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018559	LC018613	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-443	2013/2/18	III	Bulacan	Paombong	Luzon	Dog	LC018560	LC018614	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-444	2013/2/14	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018561	LC018615	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-445	2013/2/13	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Cat	LC018562	LC018616	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-446	2013/3/5	III	Tarlac	Concepcion	Luzon	Dog	LC018563	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-447	2013/3/4	III	Bulacan	Santa Maria	Luzon	Dog	LC018564	LC018617	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-448	2013/3/11	III	Nueva Ecija	San Antonio	Luzon	Dog	LC018565	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-449	2013/3/18	III	Bulacan	Guiguinto	Luzon	Dog	LC018566	LC018618	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-450	2013/3/14	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018567	LC018619	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-451	2013/3/18	III	Bulacan	Santa Maria	Luzon	Dog	LC018568	LC018620	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-452	2013/3/19	III	Bulacan	Malolos	Luzon	Dog	LC018569	LC018621	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-453	2013/4/12	III	Pampanga	Arayat	Luzon	Dog	LC018570	LC018622	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-454	2013/4/16	III	Bulacan	Bulacan	Luzon	Dog	LC018571	LC018623	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-455	2013/4/16	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC018572	LC018624	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-456	2013/4/16	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018573	LC018625	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-457	2013/4/18	III	Pampanga	Macabebe	Luzon	Dog	LC018574	LC018626	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-458	2013/4/25	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC018575	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-459	2013/4/29	III	Pampanga	Candaba	Luzon	No data	LC018576	LC018627	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-460	2013/4/30	III	Nueva Ecija	San Antonio	Luzon	No data	LC018577	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-461	2013/5/2	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	LC018578	LC018628	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-462	2013/5/20	III	Nueva Ecija	San Jose City	Luzon	Dog	LC018579	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-463	2013/5/23	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	LC018580	LC018629	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-464	2013/5/17	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC018581	LC018630	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-465	2013/6/5	III	Nueva Ecija	Zaragoza	Luzon	Dog	LC018582	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-466	2013/6/17	III	Nueva Ecija	Talavera	Luzon	Dog	LC018583	—	本研究
RV/R4A.PHL/2013/TRa-485	2013/2/22	IV-A	Batangas	Tanauan	Luzon	Dog	LC068916	—	本研究
RV/R4B.PHL/2013/TRa-486	2013/5/18	IV-B	Palawan	Puerto Princesa City	Palawan	Dog	LC018584	—	本研究
RV/R4B.PHL/2013/TRa-487	2013/6/13	IV-B	Palawan	Puerto Princesa City	Palawan	Dog	LC018585	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-500	2013/8/14	CAR	Mountain Province	Paracelis	Luzon	Dog	LC018586	—	本研究

表 2. 検体情報(続き)

RV/R2.PHL/2013/TRa-503	2013/7/5	II	Nueva Vizcaya	Kasilbu	Luzon	Dog	LC018587	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-504	2013/7/30	II	Nueva Vizcaya	Bagabag	Luzon	Dog	LC018588	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-505	2013/8/8	II	Isabela	San Mateo	Luzon	Dog	LC018589	—	本研究
RV/R2.PHL/2013/TRa-506	2013/9/17	II	Cagayan	Peñablanca	Luzon	Dog	LC018590	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-507	2013/9/19	CAR	Kalinga Apayao	Tabuk	Luzon	Dog	LC018591	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-509	2013/9/27	III	Bulacan	Sta. Maria	Luzon	Dog	LC068917	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-510	2013/10/1	CAR	Ifugao	Kiangán	Luzon	Dog	LC068918	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-533	2013/7/18	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	LC068919	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-534	2013/7/18	III	Pampanga	Arayat	Luzon	Dog	LC068920	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-535	2013/7/18	III	Bulacan	Pandi	Luzon	Dog	LC068921	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-536	2013/7/15	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC068922	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-537	2013/8/1	III	Bulacan	Meycauayan	Luzon	Dog	LC068923	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-538	2013/7/24	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC068924	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-540	2013/8/29	III	Pampanga	San Luis	Luzon	Dog	LC068925	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-541	2013/9/6	III	Nueva Ecija	Jaeñ	Luzon	Dog	LC068926	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-542	2013/9/16	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	LC068927	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-543	2013/10/3	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC068928	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-544	2013/10/7	III	Pampanga	Macabebe	Luzon	Cat	LC068929	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-545	2013/10/14	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC068930	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-547	2013/10/8	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC068931	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-548	2013/10/21	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC068932	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-549	2013/10/25	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC068933	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-550	2013/10/29	III	Pampanga	San Simon	Luzon	Dog	LC068934	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-551	2013/11/4	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	NA	LC068935	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-552	2013/11/4	III	Pampanga	Candaba	Luzon	Dog	LC068936	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-554	2013/11/20	III	Bulacan	Hagonoy	Luzon	Dog	LC068937	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-556	2013/11/20	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC068938	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-557	2013/11/20	III	Bulacan	San Jose del Monte	Luzon	Dog	LC068939	—	本研究
RV/R1.PHL/2013/TRa-569	2013/11/21	I	Ilocos Sur	Santa Cruz	Luzon	Dog	LC068940	—	本研究
RV/CAR.PHL/2013/TRa-571	2013/11/27	CAR	Mountain Province	Paracelis	Luzon	Dog	LC068941	—	本研究
RV/R1.PHL/2013/TRa-572	2013/11/27	I	La Union	Bangar	Luzon	Dog	LC068942	—	本研究
RV/R1.PHL/2013/TRa-573	2013/11/29	I	La Union	Naguilian	Luzon	Dog	LC068943	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-581	2013/11/21	III	Tarlac	Capas	Luzon	Dog	LC068944	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-582	2013/12/2	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	LC068945	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-583	2013/12/2	III	Pampanga	Macabebe	Luzon	Dog	LC068946	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-584	2013/12/3	III	Nueva Ecija	Pantabangan	Luzon	Dog	LC068947	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-586	2013/12/9	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC068948	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-587	2013/12/23	III	Pampanga	San Fernando	Luzon	Dog	LC068949	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-588	2013/12/26	III	Pampanga	Minalin	Luzon	Dog	LC068950	—	本研究
RV/R3.PHL/2013/TRa-589	2013/12/27	III	Pampanga	Macabebe	Luzon	Dog	LC068951	—	本研究
RV/R4A.PHL/2004/Z04-042	2004/1/22	IV-A	Cavite	Dasmariñas	Luzon	Dog	AB563791	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2004/Z04-401	2004/7/5	IV-A	Rizal	Taytay	Luzon	Dog	AB563794	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2004/Z04-470	2004/8/12	IV-A	Laguna	Santa Rosa	Luzon	Dog	AB683587	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2004/Z04-480	2004/8/22	IV-A	Laguna	San Pedro	Luzon	Dog	AB563797	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2004/Z04-519	2004/9/18	III	Aurora	Baler	Luzon	Dog	AB563798	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2004/Z04-522	2004/9/9	NCR	Metropolitan Manila	Parañaque City	Luzon	Dog	AB683584	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2004/Z04-646	2004/12/6	NCR	Metropolitan Manila	Parañaque City	Luzon	Dog	AB733963	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-009	2005/1/7	NCR	Metropolitan Manila	Quezon City	Luzon	Dog	AB563800	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-090	2005/2/15	NCR	Metropolitan Manila	Pasig City	Luzon	Dog	AB563803	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-149	2005/3/16	NCR	Metropolitan Manila	Pasay City	Luzon	Dog	AB563805	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-168	2005/3/29	NCR	Metropolitan Manila	Taguig City	Luzon	Dog	AB563806	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2005/Z05-198	2005/4/13	III	Nueva Ecija	Palayan	Luzon	Dog	AB563809	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-373	2005/7/18	NCR	Metropolitan Manila	Parañaque City	Luzon	Dog	AB563812	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-396	2005/7/28	NCR	Metropolitan Manila	Las Piñas City	Luzon	Dog	AB563813	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-465	2005/9/17	NCR	Metropolitan Manila	Pasig City	Luzon	Dog	AB563815	—	Saito et al., 2013
RV/NCR.PHL/2005/Z05-466	2005/9/19	NCR	Metropolitan Manila	Parañaque City	Luzon	Dog	AB563816	—	Saito et al., 2013
RV/R3.PHL/2005/Z05-507	2005/10/27	III	Bulacan	Norzagaray	Luzon	Dog	AB563817	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-163	2006/5/2	IV-A	Laguna	Calamba	Luzon	Dog	AB563819	—	Saito et al., 2013
RV/R4B.PHL/2006/Z06-203	2006/5/24	IV-B	Oriental Mindoro	No data	Mindoro	Dog	AB563821	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-222	2006/5/31	IV-A	Cavite	Trece Martires City	Luzon	Dog	AB563822	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-231	2006/6/6	IV-A	Cavite	Cavite City	Luzon	Dog	AB563823	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-342	2006/9/1	IV-A	Laguna	Santa Rosa	Luzon	Dog	AB563824	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-348	2006/9/8	IV-A	Cavite	Dasmariñas	Luzon	Dog	AB563826	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-357	2006/9/14	IV-A	Batangas	Calatagan	Luzon	Dog	AB563827	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-361	2006/9/18	IV-A	Laguna	Calamba	Luzon	Dog	AB563828	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-362	2006/9/18	IV-A	Batangas	Calatagan	Luzon	Dog	AB563829	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2006/Z06-365	2006/9/20	IV-A	Cavite	Gen. Trias	Luzon	Cat	AB563830	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2007/Z07-189	2007/6/11	IV-A	Cavite	Cavite City	Luzon	Dog	AB683629	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2007/Z07-243	2007/7/24	IV-A	Cavite	Bacoor	Luzon	Dog	AB683630	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2007/Z07-317	2007/9/28	IV-A	Cavite	Bacoor	Luzon	Dog	AB563836	—	Saito et al., 2013
RV/R4A.PHL/2007/Z07-330	2007/10/5	IV-A	Cavite	Bacoor	Luzon	Dog	AB563837	—	Saito et al., 2013

CAR: the Cordillera Administrative Region, NCR: the National Capital Region
 * RV/CAR.PHL/2009/TRa-224 については、安楽死を行った日付を用いた

表 3. モデルに用いたパラメータ

パラメータ	値	参考文献
出生率 (a)	0.42 (/年)	47
一般死亡率 (b)	0.33 (/年)	47
環境収容力 (K)	31.6 (頭/km ²)	2012 年度報告*
潜伏期間 (1/σ)	25.5 (日)	46
感染期間 (1/γ)	5.7 (日)	46
集団総数 (N, 初期値)	7357 (頭/ 233 km ²)	2012 年度報告*
ワクチン接種率 (ν)	18%	2012 年度報告*
免疫持続期間 (1/δ)	2 (年)	48

*Region IV-B の農務省 (DA) より提供 (オディオンガン及びビロークのデータ)

表 4. 地図データセット

データタイプ	変数	入手先*
地形	標高勾配 (傾斜の傾き度合)	SRTM DEM (2007)
	河川・湖・水源地	NAMRIA (2003)
	植生指数 (NDVI)	LP DAAC (2004-2013)
ヒトコミュニティ	人口密度	NSCB (2010)
	道路密度	OpenStreetMap (2012)
狂犬病対策活動	地方自治体における年間総支出額/人数	DBM (2004-2013)
	地方自治体における小学校数/人数	DepEd (2013)

*SRTM: Shuttle Rader Topographical Mission, DEM: Digital Elevation Model, NAMRIA: National Mapping and Resource Information Authority, NDVI: Normalized Difference Vegetation index, LP DAAC: Land Processes Distributed Active Archive Center, MODIS: Moderate resolution Imaging Spectroradiometer, LGUs: Local government units, DBM: Department of Budget and Management, DepEd: Department of Education

12. Appendix

Text S1: BEAST による分子時計・系統地理学的解析

```
#####
<?xml version="1.0" standalone="yes"?>

<!-- Generated by BEAUTi v1.8.0 -->
<!-- by Alexei J. Drummond, Andrew Rambaut and Marc A. Suchard -->
<!-- Department of Computer Science, University of Auckland and -->
<!-- Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh -->
<!-- David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles-->
<!-- http://beast.bio.ed.ac.uk -->

<beast>
  <!-- The list of taxa to be analysed (can also include dates/ages). -->
  <!-- ntax=39 -->
  <taxa id="taxa">
    <taxon id="TRa-299_I_2010.033">
      <date value="2010.033" direction="forwards" units="years"/>
      <attr name="prov">
        Pangasinan
      </attr>
    </taxon>
    <!-- 省略 -->
  </taxa>

  <!-- The sequence alignment (each sequence refers to a taxon above). -->
  <!-- ntax=39 nchar=2463 -->
  <alignment id="alignment" dataType="nucleotide">
    <sequence>
      <taxon idref="TRa-299_I_2010.033"/>
      AGCAAGATCTTCGTCAATCCAAGTGCAATCAGAGCCGGCTTGGCTGACCTTGAGATG...
    <!-- 省略 -->
  </alignment>

  <patterns id="CP1.patterns" from="1" every="3" strip="false">
    <alignment idref="alignment"/>
  </patterns>
  <patterns id="CP2.patterns" from="2" every="3" strip="false">
    <alignment idref="alignment"/>
  </patterns>
  <patterns id="CP3.patterns" from="3" every="3" strip="false">
    <alignment idref="alignment"/>
  </patterns>

  <generalDataType id="prov.dataType">
    <state code="Bulacan"/>
    <state code="Pampanga"/>
    <state code="Pangasinan"/>
    <state code="Romblon"/>
  </generalDataType>
  <attributePatterns id="prov.pattern" attribute="prov">
    <taxa idref="taxa"/>
    <generalDataType idref="prov.dataType"/>
  </attributePatterns>
  <constantSize id="constant" units="years">
    <populationSize>
      <parameter id="constant.popSize" value="34.0" lower="0.0"/>
    </populationSize>
  </constantSize>
  <coalescentSimulator id="startingTree">
    <taxa idref="taxa"/>
    <constantSize idref="constant"/>
  </coalescentSimulator>
  <treeModel id="treeModel">
    <coalescentTree idref="startingTree"/>
    <rootHeight>
      <parameter id="treeModel.rootHeight"/>
    </rootHeight>
  </treeModel>
</beast>
```



```

        </rootHeight>
        <nodeHeights internalNodes="true">
            <parameter id="treeModel.internalNodeHeights"/>
        </nodeHeights>
        <nodeHeights internalNodes="true" rootNode="true">
            <parameter id="treeModel.allInternalNodeHeights"/>
        </nodeHeights>
    </treeModel>
    <coalescentLikelihood id="coalescent">
        <model>
            <constantSize idref="constant"/>
        </model>
        <populationTree>
            <treeModel idref="treeModel"/>
        </populationTree>
    </coalescentLikelihood>

    <strictClockBranchRates id="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.branchRates">
        <rate>
            <parameter id="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.clock.rate"
                value="4.0E-4" lower="0.0"/>
        </rate>
    </strictClockBranchRates>
    <strictClockBranchRates id="prov.branchRates">
        <rate>
            <parameter id="prov.clock.rate" value="1.0" lower="0.0"/>
        </rate>
    </strictClockBranchRates>

    <TN93Model id="CP1.tn93">
        <frequencies>
            <frequencyModel dataType="nucleotide">
                <frequencies>
                    <parameter id="CP1.frequencies"
                        value="0.25 0.25 0.25 0.25"/>
                </frequencies>
            </frequencyModel>
        </frequencies>
        <kappa1>
            <parameter id="CP1.kappa1" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa1>
        <kappa2>
            <parameter id="CP1.kappa2" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa2>
    </TN93Model>
    <TN93Model id="CP2.tn93">
        <frequencies>
            <frequencyModel dataType="nucleotide">
                <frequencies>
                    <parameter id="CP2.frequencies"
                        value="0.25 0.25 0.25 0.25"/>
                </frequencies>
            </frequencyModel>
        </frequencies>
        <kappa1>
            <parameter id="CP2.kappa1" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa1>
        <kappa2>
            <parameter id="CP2.kappa2" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa2>
    </TN93Model>
    <TN93Model id="CP3.tn93">
        <frequencies>
            <frequencyModel dataType="nucleotide">
                <frequencies>
                    <parameter id="CP3.frequencies"
                        value="0.25 0.25 0.25 0.25"/>
                </frequencies>
            </frequencyModel>
        </frequencies>
        <kappa1>
            <parameter id="CP3.kappa1" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa1>
    </TN93Model>

```

```

        <kappa2>
          <parameter id="CP3.kappa2" value="2.0" lower="0.0"/>
        </kappa2>
      </TN93Model>
    <siteModel id="CP1.siteModel">
      <substitutionModel>
        <TN93Model idref="CP1.tn93"/>
      </substitutionModel>
      <relativeRate>
        <parameter id="CP1.mu" value="1.0" lower="0.0"/>
      </relativeRate>
      <gammaShape gammaCategories="4">
        <parameter id="CP1.alpha" value="0.5" lower="0.0"/>
      </gammaShape>
    </siteModel>
    <siteModel id="CP2.siteModel">
      <substitutionModel>
        <TN93Model idref="CP2.tn93"/>
      </substitutionModel>
      <relativeRate>
        <parameter id="CP2.mu" value="1.0" lower="0.0"/>
      </relativeRate>
      <gammaShape gammaCategories="4">
        <parameter id="CP2.alpha" value="0.5" lower="0.0"/>
      </gammaShape>
    </siteModel>
    <siteModel id="CP3.siteModel">
      <substitutionModel>
        <TN93Model idref="CP3.tn93"/>
      </substitutionModel>
      <relativeRate>
        <parameter id="CP3.mu" value="1.0" lower="0.0"/>
      </relativeRate>
      <gammaShape gammaCategories="4">
        <parameter id="CP3.alpha" value="0.5" lower="0.0"/>
      </gammaShape>
    </siteModel>
    <compoundParameter id="allMus">
      <parameter idref="CP1.mu"/>
      <parameter idref="CP2.mu"/>
      <parameter idref="CP3.mu"/>
    </compoundParameter>

    <treeLikelihood id="CP1.treeLikelihood" useAmbiguities="false">
      <patterns idref="CP1.patterns"/>
      <treeModel idref="treeModel"/>
      <siteModel idref="CP1.siteModel"/>
      <strictClockBranchRates
        idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.branchRates"/>
    </treeLikelihood>
    <treeLikelihood id="CP2.treeLikelihood" useAmbiguities="false">
      <patterns idref="CP2.patterns"/>
      <treeModel idref="treeModel"/>
      <siteModel idref="CP2.siteModel"/>
      <strictClockBranchRates
        idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.branchRates"/>
    </treeLikelihood>
    <treeLikelihood id="CP3.treeLikelihood" useAmbiguities="false">
      <patterns idref="CP3.patterns"/>
      <treeModel idref="treeModel"/>
      <siteModel idref="CP3.siteModel"/>
      <strictClockBranchRates
        idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.branchRates"/>
    </treeLikelihood>

    <generalSubstitutionModel id="prov.model">
      <generalDataType idref="prov.dataType"/>
      <frequencies>
        <frequencyModel id="prov.frequencyModel" normalize="true">
          <generalDataType idref="prov.dataType"/>
          <frequencies>
            <parameter id="prov.frequencies" dimension="4"/>
          </frequencies>
        </frequencyModel>
      </frequencies>
    </generalSubstitutionModel>

```

```

        </frequencyModel>
    </frequencies>
    <rates>
        <parameter id="prov.rates" dimension="6" value="1.0"/>
    </rates>
    <rateIndicator>
        <parameter id="prov.indicators" dimension="6" value="1.0"/>
    </rateIndicator>
</generalSubstitutionModel>
<sumStatistic id="prov.nonZeroRates" elementwise="true">
    <parameter idref="prov.indicators"/>
</sumStatistic>
<productStatistic id="prov.actualRates" elementwise="false">
    <parameter idref="prov.indicators"/>
    <parameter idref="prov.rates"/>
</productStatistic>
<siteModel id="prov.siteModel">
    <substitutionModel>
        <generalSubstitutionModel idref="prov.model"/>
    </substitutionModel>
</siteModel>

<!-- Record the markov jump history -->
<markovJumpsTreeLikelihood id="prov.treeLikelihood" stateTagName="prov.states"
useUniformization="true" numberOfSimulants="1" saveCompleteHistory="true">
    <attributePatterns idref="prov.pattern"/>
    <treeModel idref="treeModel"/>
    <siteModel idref="prov.siteModel"/>
    <generalSubstitutionModel idref="prov.model"/>
    <strictClockBranchRates idref="prov.branchRates"/>
    <!-- Count the number of migration b/w Romblon and Pampanga -->
    <parameter id="count_Romb-Pamp" value="
        0 0 0 1
        0 0 0 0
        0 0 0 0
        1 0 0 0
    "/>
</markovJumpsTreeLikelihood>

<operators id="operators" optimizationSchedule="log">
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP1.kappa1"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP2.kappa1"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP3.kappa1"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP1.kappa2"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP2.kappa2"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP3.kappa2"/>
    </scaleOperator>
    <deltaExchange delta="0.01" weight="0.1">
        <parameter idref="CP1.frequencies"/>
    </deltaExchange>
    <deltaExchange delta="0.01" weight="0.1">
        <parameter idref="CP2.frequencies"/>
    </deltaExchange>
    <deltaExchange delta="0.01" weight="0.1">
        <parameter idref="CP3.frequencies"/>
    </deltaExchange>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP1.alpha"/>
    </scaleOperator>
    <scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
        <parameter idref="CP2.alpha"/>
    </scaleOperator>

```

```

<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="0.1">
  <parameter idref="CP3.alpha"/>
</scaleOperator>
<deltaExchange delta="0.75" parameterWeights="821 821 821" weight="4">
  <parameter idref="allMus"/>
</deltaExchange>
<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <parameter i
    dref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.clock.rate"/>
</scaleOperator>
<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <parameter idref="prov.clock.rate"/>
</scaleOperator>
<subtreeSlide size="3.4" gaussian="true" weight="15">
  <treeModel idref="treeModel"/>
</subtreeSlide>
<narrowExchange weight="15">
  <treeModel idref="treeModel"/>
</narrowExchange>
<wideExchange weight="3">
  <treeModel idref="treeModel"/>
</wideExchange>
<wilsonBalding weight="3">
  <treeModel idref="treeModel"/>
</wilsonBalding>
<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <parameter idref="treeModel.rootHeight"/>
</scaleOperator>
<uniformOperator weight="30">
  <parameter idref="treeModel.internalNodeHeights"/>
</uniformOperator>
<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <parameter idref="constant.popSize"/>
</scaleOperator>
<upDownOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <up>
    <parameter
      idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.clock.rate"/>
  </up>
  <down>
    <parameter idref="treeModel.allInternalNodeHeights"/>
  </down>
</upDownOperator>
<upDownOperator scaleFactor="0.75" weight="3">
  <up>
    <parameter idref="prov.clock.rate"/>
  </up>
  <down>
    <parameter idref="treeModel.allInternalNodeHeights"/>
  </down>
</upDownOperator>
<scaleOperator scaleFactor="0.75" weight="1" scaleAllIndependently="true">
  <parameter idref="prov.rates"/>
</scaleOperator>
<bitFlipOperator weight="1">
  <parameter idref="prov.indicators"/>
</bitFlipOperator>
</operators>

<mcmc id="mcmc" chainLength="2000000" autoOptimize="true"
operatorAnalysis="RABV_PG2463nt.ops.txt">
  <posterior id="posterior">
    <prior id="prior">
      <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">
        <parameter idref="CP1.kappa1"/>
      </logNormalPrior>
      <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">
        <parameter idref="CP2.kappa1"/>
      </logNormalPrior>
      <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">

```

```

        <parameter idref="CP3.kappa1"/>
    </logNormalPrior>
    <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">
        <parameter idref="CP1.kappa2"/>
    </logNormalPrior>
    <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">
        <parameter idref="CP2.kappa2"/>
    </logNormalPrior>
    <logNormalPrior mean="1.0" stdev="1.25" offset="0.0"
        meanInRealSpace="false">
        <parameter idref="CP3.kappa2"/>
    </logNormalPrior>
    <gammaPrior shape="0.001" scale="2000.0" offset="0.0">
        <parameter idref="CP1.mu"/>
    </gammaPrior>
    <gammaPrior shape="0.001" scale="2000.0" offset="0.0">
        <parameter idref="CP2.mu"/>
    </gammaPrior>
    <gammaPrior shape="0.001" scale="2000.0" offset="0.0">
        <parameter idref="CP3.mu"/>
    </gammaPrior>
    <uniformPrior lower="0.0" upper="1.0">
        <parameter idref="CP1.frequencies"/>
    </uniformPrior>
    <uniformPrior lower="0.0" upper="1.0">
        <parameter idref="CP2.frequencies"/>
    </uniformPrior>
    <uniformPrior lower="0.0" upper="1.0">
        <parameter idref="CP3.frequencies"/>
    </uniformPrior>
    <exponentialPrior mean="0.5" offset="0.0">
        <parameter idref="CP1.alpha"/>
    </exponentialPrior>
    <exponentialPrior mean="0.5" offset="0.0">
        <parameter idref="CP2.alpha"/>
    </exponentialPrior>
    <exponentialPrior mean="0.5" offset="0.0">
        <parameter idref="CP3.alpha"/>
    </exponentialPrior>
    <gammaPrior shape="0.001" scale="2000.0" offset="0.0">
        <parameter
idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.clock.rate"/>
    </gammaPrior>
    <ctmcScalePrior>
        <ctmcScale>
            <parameter idref="prov.clock.rate"/>
        </ctmcScale>
        <treeModel idref="treeModel"/>
    </ctmcScalePrior>
    <oneOnXPrior>
        <parameter idref="constant.popSize"/>
    </oneOnXPrior>
    <poissonPrior mean="0.6931471805599453" offset="3.0">
        <statistic idref="prov.nonZeroRates"/>
    </poissonPrior>
    <uniformPrior lower="0.0" upper="1.0">
        <parameter idref="prov.frequencies"/>
    </uniformPrior>
    <cachedPrior>
        <gammaPrior shape="1.0" scale="1.0"
            offset="0.0">
            <parameter idref="prov.rates"/>
        </gammaPrior>
        <parameter idref="prov.rates"/>
    </cachedPrior>
    <coalescentLikelihood idref="coalescent"/>
    <generalSubstitutionModel idref="prov.model"/>
</prior>
<likelihood id="likelihood">
    <treeLikelihood idref="CP1.treeLikelihood"/>
    <treeLikelihood idref="CP2.treeLikelihood"/>

```

```

        <treeLikelihood idref="CP3.treeLikelihood"/>
        <markovJumpsTreeLikelihood idref="prov.treeLikelihood"/>
    </likelihood>
</posterior>
<operators idref="operators"/>

<log id="screenLog" logEvery="2000">
    <column label="Posterior" dp="4" width="12">
        <posterior idref="posterior"/>
    </column>
    <column label="Prior" dp="4" width="12">
        <prior idref="prior"/>
    </column>
    <column label="Likelihood" dp="4" width="12">
        <likelihood idref="likelihood"/>
    </column>
</log>
<log id="fileLog" logEvery="2000" fileName="RABV_PG2463nt.log.txt">
    <posterior idref="posterior"/>
    <prior idref="prior"/>
    <likelihood idref="likelihood"/>
    <parameter idref="treeModel.rootHeight"/>
    <parameter idref="constant.popSize"/>
    <parameter idref="CP1.kappa1"/>
    <parameter idref="CP1.kappa2"/>
    <parameter idref="CP2.kappa1"/>
    <parameter idref="CP2.kappa2"/>
    <parameter idref="CP3.kappa1"/>
    <parameter idref="CP3.kappa2"/>
    <parameter idref="CP1.frequencies"/>
    <parameter idref="CP2.frequencies"/>
    <parameter idref="CP3.frequencies"/>
    <parameter idref="CP1.alpha"/>
    <parameter idref="CP2.alpha"/>
    <parameter idref="CP3.alpha"/>
    <compoundParameter idref="allMus"/>
    <parameter
    idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.clock.rate"/>
    <parameter idref="prov.clock.rate"/>
    <parameter idref="prov.rates"/>
    <parameter idref="prov.indicators"/>
    <sumStatistic idref="prov.nonZeroRates"/>
    <treeLikelihood idref="CP1.treeLikelihood"/>
    <treeLikelihood idref="CP2.treeLikelihood"/>
    <treeLikelihood idref="CP3.treeLikelihood"/>
    <markovJumpsTreeLikelihood idref="prov.treeLikelihood"/>
    <coalescentLikelihood idref="coalescent"/>
</log>

<log id="RABV_PG2463nt.provrateMatrixLog"
logEvery="2000" fileName="RABV_PG2463nt.rates.log">
    <parameter idref="prov.rates"/>
    <parameter idref="prov.indicators"/>
    <sumStatistic idref="prov.nonZeroRates"/>
</log>

<logTree id="treeFileLog" logEvery="2000" nexusFormat="true"
fileName="RABV_PG2463nt.trees.txt"
sortTranslationTable="true">
    <treeModel idref="treeModel"/>
    <trait name="rate" tag="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.rate">
        <strictClockBranchRates
    idref="RABV_PG2463nt_2nd_Rom_n39_detailed.branchRates"/>
    </trait>
    <trait name="rate" tag="prov.rate">
        <strictClockBranchRates idref="prov.branchRates"/>
    </trait>
    <posterior idref="posterior"/>
    <trait name="prov.states" tag="prov">
        <markovJumpsTreeLikelihood idref="prov.treeLikelihood"/>
    </trait>
</logTree>

```

```
<!-- write markov jump history in txt file -->
<log id="completeJumpHistory" logEvery="5000"
fileName="RABV_PG2463nt_jumpHistory.log.txt">
  <completeHistoryLogger>
    <markovJumpsTreeLikelihood idref="prov.treeLikelihood"/>
  </completeHistoryLogger>
</log>

</mcmc>
<report>
  <property name="timer">
    <mcmc idref="mcmc"/>
  </property>
</report>
</beast>
```

Text S2: R による決定論的 SEIV モデル解析

```
#####
library(deSolve)
library(lattice)

#####
## Deterministic SEIR Model under pulse vaccination ##
#####
## S = Susceptible, E = Exposed, I = Infected, R = Removed (Died by rabies)
## V = vaccinated, RR = Reported
## Unit is "month"
## Annual pulse vaccination
## One month continuous vaccination once a year
## Assuming dog population in Tablas island in Romblon (where RABVs were migrated)
seirPv <- function(time, state, parameters) {
  with(as.list(c(state, parameters)), {
    n <- c(1:50)
    if(any(time>=12*n & time<12*(n+1)))
      dS <- -beta * S * I + a*(S+E+V) - b*S - m*((S+E+I+V)/area)*S - v*S + delta*V
    else dS <- -beta * S * I + a*(S+E+V) - b*S - m*((S+E+I+V)/area)*S + delta*V
    dE <- beta*S*I - sigma*E - b*E - m*((S+E+I+V)/area)*E
    dI <- sigma*E - gamma * I - b*I - m*((S+E+I+V)/area)*I
    if(any(time>=12*n & time<12*(n+1)))
      dV <- v*S - delta*V - b*V - m*((S+E+I+V)/area)*V
    else dV <- -delta*V - b*V - m*((S+E+I+V)/area)*V
    dR <- gamma*I

    # Reporting rate r
    dRR <- r*gamma*I
    return(list(c(dS, dE, dI, dV, dR, dRR)))
  })
}

#####
### 1. Total Reported cases due to rabies ##
#####
## R0: basic reproduction number
## report: Reporting rate
## vac: vaccination rate = 0.18 in this study
## birth: birth rate = 0.42 in this study
## death: general mortality rate = 0.33 in this study
## parameters in Table 3
rptd <- function(R0,report,vac,birth,death){
  Infected <- Died <- Reported <- data.frame(V1=c(0:60))
  N <- 7357 # Dog population in Odiongan&Looc in 2012
  K <- 7357/233.064 # Carrying capacity; dogs/km2 in Tablas island in 2012
  # Initial status
  # init(R)= Dogs vaccinated in 2012
  init <- c(S = N-1-N*vac, E = 0, I = 1, V = N*vac, R = 0, RR = 0)

  parameters <- c(
    beta = R0*(1/(25.5/30) + 0.42/12)*(1/(5.7/30) + 0.42/12)/(N*1/(25.5/30)),
    sigma = 1/(25.5/30),
    gamma = 1/(5.7/30),
    v = vac,
    delta = 1/(2*12),
    a = birth/12,
    b = death/12,
    m = ((0.42-0.33)/12)/K,
    area = 233.064,
    r=report)

  times <- seq(0, 60, by = 1) # upto 60/12 years
  out <- as.data.frame(ode(y = init, times = times, func = seirPv, parms = parameters))
  out$time <- NULL
  Infected <- out[,3]
  Died <- out[,5]
  Reported <- out[,6]
  final <- max(Reported)
  return(final)
}

```



```

}

## Heatmap of the reported cases (5 yrs) under various R0 and r
hmap.rptd <- function(vac,birth,death){
  # R0 = 1~2, r = 1~30%
  hmap <- matrix(rep(NA,330),nrow=11)
  for(i in 1:11){
    for(j in 1:30){
      hmap[i,j] <- rptd(R0=1+(i-1)/10,report=j/100,vac,birth,death)
    }
  }
  tex <- paste("vaccination coverage =",vac*100,"%")
  filled.contour(1+((1:11)-1)/10,(1:30),hmap,xlab="R0",ylab="Reporting rate (%)",
    col=topo.colors(20),main=tex)
  return(hmap)
}

## Results
hmap.rptd(vac=0.18,birth=0.42,death=0.33)

#####
## 2. Time required to report ≥1 cases ##
#####
trqd <- function(R0,report,vac,birth,death){
  Infected <- Died <- Reported <- Reported_1m <- data.frame(V1=c(0:60))
  N <- 7357 # Dog population in Odiongan & Looc in 2012
  K <- 7357/233.064 # Carrying capacity; dogs/km2 in Tablas island in 2012
  # Initial status
  init <- c(S = N-1-N*vac, E = 0, I = 1, V = N*vac, R = 0, RR = 0)
  parameters <- c(
    beta = R0*(1/(25.5/30) + 0.42/12)*(1/(5.7/30) + 0.42/12)/(N*1/(25.5/30)),
    sigma = 1/(25.5/30),
    gamma = 1/(5.7/30),
    v = vac,
    delta = 1/(2*12),
    a = birth/12,
    b = death/12,
    m = ((0.42-0.33)/12)/K,
    area = 233.064,
    r=report)

  times <- seq(0, 60, by = 1) # upto 60/12 years
  out <- as.data.frame(ode(y = init, times = times, func = seirPv, parms = parameters))
  out$time <- NULL
  Infected <- out[,3]
  Died <- out[,5]
  Reported <- out[,6]
  for(k in 1:61){
    Reported_1m[k,] <- if(out[k,6]<1) 1 else 0
  }
  trqd_1m <- sum(Reported_1m)+1
  return(trqd_1m)
}

## Time required to detect ≥1 case after introduction under various R0 and r
hmap.trqd <- function(vac,birth,death){
  # R0 = 1~2, r = 1~30%
  hmap <- matrix(rep(NA,330),nrow=11)
  for(i in 1:11){
    for(j in 1:30){
      hmap[i,j] <- trqd(R0=1+(i-1)/10,report=j/100,vac,birth,death)
      ## Cutoff of 12 months
      if(hmap[i,j]>12) hmap[i,j] <- 12
    }
  }
  tex <- paste("vaccination coverage =",vac*100,"%")
  filled.contour(1+((1:11)-1)/10,(1:30),hmap,xlab="R0",ylab="Reporting rate (%)",
    col=topo.colors(20),main=tex,family="Arial")
  return(hmap)
}

## Results
hmap.trqd(vac=0.18,birth=0.42,death=0.33)

```

Text S3: R によるマンテルテスト

```
#####  
library(maptools)  
library(rgdal)  
library(gdistance)  
library(seqinr)  
library(ape)  
library(adeigenet)  
library(ecodist)  
  
#####  
##          Data set          ##  
#####  
setwd("XXXXX") # Set working directory  
  
## Map data  
rasters.scl <- raster("XXX")  
  
## Rabies samples location data  
rabv <- readShapePoints("XXXX")  
proj4string(rabv) <- CRS("+proj=longlat +ellps=WGS84")  
  
## Rabies sequence data  
dna <- fasta2DNAbin(file=".seq/RABV_G_Luz_n289_20141224_fin.fas")  
  
#####  
##          Mantel test          ##  
## Cost or Conductance = a*V1      ##  
## V1 = Predictors, (e.g. slope, road, population) ##  
## a = cost/conductance coefficient ##  
#####  
# dna: sequene data  
# points: location of the samples  
# raster.scl: raster map (predictors to be tested)  
# Resistance: 1=TRUE (Cost), 2=False (Conductance)  
# max: max of coefficient a in the graph  
  
## Mantel test under Cost or Conductance model of Variable V1  
mantel.test <- function(dna,points,raster.scl,Resistance,max){  
  # Genetic distance (Kimura 2-parm model)  
  genDist <-dist.dna(dna,model="K80",gamma=F)  
  
  calc <- function(par){  
    a <- par[1]  
    # Cost or Conductance surface  
    R <- 1 + a*raster.scl  
    if(Resistance=="1"){  
      tr <- transition(R, function(x){1/mean(x)},directions=16)  
    }  
    if(Resistance=="2"){  
      tr <- transition(R, function(x){mean(x)},directions=16)  
    }  
    tr.c <- geoCorrection(tr,scl=FALSE)  
  
    # Least-cost distance  
    costDist <- as.dist(costDistance(tr.c,points))  
  
    # Mantel test  
    test <- mantel(genDist ~ costDist)  
    return(test)  
  }  
  
  graph <- data.frame(no=0:50,r=rep(NA,51),  
                     L95=rep(NA,51),  
                     H95=rep(NA,51))  
  # Mantel test under various coefficient a  
  for(i in 1:51){  
    corr <- calc(graph$no[i]*max/50)  
    graph$r[i] <- corr[1]  
    graph$L95[i] <- corr[5]
```

```

    graph$H95[i] <- corr[6]
  }

# Plot
x <- graph$no*max/50
y <- graph$r
y1 <- graph$L95
y2 <- graph$H95
xlabel <- if(Resistance=="1"){paste("Cost coefficient")} else
  paste("Conductance Coefficient")
matplot(x,graph[,c(3,4)],col="grey85",type="l",lty=1,xlim=c(0,max),
  xlab=xlabel,ylab="mantel's r")
polygon(c(x,rev(x)),c(y1,rev(y2)),col="grey85",border="grey85",lty=1)
matplot(x,y,type="l",col=1,lty=1,add=T)
return(graph)
}

## Graph of Cost and Conductance model of Variable V1
# x: Results under Cost model
# x.C: Results under Conductance model
fig <- function(x,x.C){
  y <- data.frame(x,x.C)
  matplot(y$no*10,y[,c(3,4,7,8)],col="grey85",type="l",lty=1,xlim=c(0,500),
    xlab="cost/conductance coefficient",ylab="mantel's r")
  polygon(c(x$no*10,rev(x$no*10)),c(x$L95,rev(x$H95)),col="#30303030",
    border="#30303030",lty=1)
  polygon(c(x.C$no*10,rev(x.C$no*10)),c(x.C$L95,rev(x.C$H95)),col="#95959530",
    border="#95959530",lty=1)
  matplot(y$no*10,y[,c(2,6)],type="l",col=1,lty=c(1,2),add=T)
}

## Mantel test using slope data
SL <- mantel.test(dna,rabv,slope.scl,1,500) # "Slope is Cost"
SL.C <- mantel.test(dna,rabv,slope.scl,2,500) # "Slope is Conductance"

# Plot the results of slope under both cost and conductance model
fig(SL,SL.C)

```

Text S4: R による AI テスト

```
#####
library(maptools)
library(rgdal)
library(gdistance)
library(seqinr)
library(ape)
library(adeigenet)
library(ecodist)

#####
##          Data set          ##
#####
setwd("XXXXX") # Set working directory

## Map data
rasters.scl <- raster("XXX")

## Rabies samples location data
rabv <- readShapePoints("XXXX")
proj4string(rabv) <- CRS("+proj=longlat +ellps=WGS84")

## Posterior set of phylogenetic trees (by MrBayes, edited for AI test in BaTS)
ai.input <- readLines("./XXXX/tmp/RABV_AI_input.txt",n=1)

#####
##----- LCD clusters -----##
## Least-cost distance calculation ##
## R = a*V1 ##
## V1 = Slope, road, population, landtype etc ##
## a = resistance coefficient ##
##----- MDS & k-means -----##
## Least cost distance matrix will be projected into 2 dimension map by MDS ##
## Iteration of k-means: max 100 ##
## Number of start: 1000 to obtain convergence ##
##----- BaTS analysis -----##
## Traits: k-means clusters ##
## No of iterations for null distribution = 100 ##
#####
# ai.input: template tree set for BaTS
# points: location of the samples (SpatialPoints)
# raster.scl: raster map (predictors to be tested)
# Resistance: 1=True (Cost), 2=False (Conductance)
# K: no of k-means clusters
# max: max of coefficient a in the graph
## AI test under Cost or Conductance model of Variable V1

AI.test <- function(ai.input,points,raster.scl,Resistance,K,max){
  bats <- function(par){
    # Least cost distance
    a <- par[1]
    R <- 1 + a*raster.scl
    if(Resistance=="1"){
      tr <- transition(R, function(x){1/mean(x)},directions=16)
    }
    if(Resistance=="2"){
      tr <- transition(R, function(x){mean(x)},directions=16)
    }
    tr.c <- geoCorrection(tr,scl=FALSE)
    costDist <- as.dist(costDistance(tr.c,points))

    # K-means clustering
    mds <- cmdscale(costDist,k=2)
    kc <- kmeans(mds[,c(1,2)],K,iter.max=100,nstart=1000)

    # Input file for BaTS
    input <- NA
    for(i in 1:nrow(points)){
      input[i] <- paste(i,kc$cluster[i])
      ai.input[i+3] <- input[[i]]
    }
  }
}
```

```

    }
    # template file generated in the tmo folder
    write(ai.input, ".XXXX/tmp/temp.txt")
    # AI test (100 replicates for randomization test)
    # Use BaTS software (java) from R using "command"
    command <- paste("
    java -jar C:/Users/XXXXX/BaTS_beta_build2.jar single
    .XXXX/tmp/temp.txt 100", K)
    output <- system(command,intern=T,show.output.on.console=F)

    # Extract AI results
    output <- strsplit(tail(output,K+5+2),"¥t")
    aio <- as.numeric(output[[1]][2:4]) # Observed AI
    aie <- as.numeric(output[[1]][5:7]) # Expected AI
    # AI ratio = Observed AI[95CI from posteriors]/ Expected AI
    ai.r <- data.frame(med=aio[1]/aie[1],L95=aio[2]/aie[1], H95=aio[3]/aie[1])
    ai.o <- data.frame(med=aio[1],L95=aio[2],H95=aio[3])
    ai.e <- data.frame(med=aie[1],L95=aie[2],H95=aie[3])
    AI <- rbind(ai.r,ai.o,ai.e)
    rownames(AIPS)<-c("AI ratio","AI","AI exp")
    return(AI)
  }

  graph <- data.frame(no=0:50,ai=rep(NA,51),
                    ai95L=rep(NA,51),
                    ai95H=rep(NA,51),
                    aie=rep(NA,51),
                    aie95L=rep(NA,51),
                    aie95H=rep(NA,51),
                    air=rep(NA,51),
                    air95L=rep(NA,51),
                    air95H=rep(NA,51)
                    )

  # AI test under various coefficient a
  for(i in 1:51){
    AIs <- bats(graph$no[i]*max/50)
    graph$ai[i] <- AI[2,1]
    graph$ai95L[i] <- AI[2,2]
    graph$ai95H[i] <- AI[2,3]
    graph$aie[i] <- AI[3,1]
    graph$aie95L[i] <- AI[3,2]
    graph$aie95H[i] <- AI[3,3]
    graph$air[i] <- AI[1,1]
    graph$air95L[i] <- AI[1,2]
    graph$air95H[i] <- AI[1,3]
  }

  # Plot
  xlabel <- if(Resistance=="1") {paste("Cost coefficient")} else paste("Conductance coefficient")
  x <- graph$no*max/50
  matplot(x,graph[,8:10],type="l",xlim=c(0,max),xlab=xlabel,ylab="AI ratio",lty=1,col="grey85")
  polygon(c(x,rev(x)),c(graph$air95L,rev(graph$air95H)),col="grey85",border="grey85")
  matplot(x,graph$air,type="l",lty=1,col=1,add=T)
  return(graph)
}

## Graph of Cost and Conductance model of Variable V1
# x: Results under Cost model
# x.C: Results under Conductance model
fig <- function(x,x.C){
  y <- data.frame(x,x.C)
  matplot(y$no*10,y[,c(9,10,19,20)],col="grey85",type="l",lty=1,xlim=c(0,500),
          xlab="cost/conductance coefficient",ylab="AI ratio")
  polygon(c(x$no*10,rev(x$no*10)),c(x$air95L,rev(x$air95H)),col="#30303030",border="#30303030",lty=1)
  polygon(c(x.C$no*10,rev(x.C$no*10)),c(x.C$air95L,rev(x.C$air95H)),col="#95959530",
          border="#95959530",lty=1)
  matplot(y$no*10,y[,c(8,18)],type="l",col=1,lty=c(1,2),add=T)
}

## AI test using slope data, K (number of clusters) = 10
slope.AI10 <- AI.test(ai.input,rabv,slope.scl,1,10,500)
slope.AI10C <- AI.test(ai.input,rabv,slope.scl,2,10,500)
fig(slope.AI10,slope.AI10C)

```

13. 謝辞

本博士研究を進めるにあたり、終始温かい目で見守りご指導下さいました東北大学大学院微生物学分野の押谷仁教授に心より感謝申し上げます。発展途上国に赴き研究を行なうという、大変に貴重な機会を頂き、現地のニーズに答える真摯な研究姿勢を学ぶことができたことを深く感謝しております。

フィリピンに駐在する齊藤麻理子助教、東北大学での指導教官である神垣太郎助教には、狂犬病という大変興味深い研究テーマを提案して頂きましたことを深く感謝申し上げます。両先生のご指導により、本研究を行なうに必要な知識や技術を学ぶことができた他、様々な研究アイデアを深めることができたことを感謝しております。また、実地疫学者としての判断や研究姿勢について多くのご指導を頂きました齊藤繭子准教授に感謝申し上げます。

共同研究機関であるフィリピン熱帯医学研究所(RITM)の Beatriz P. Quiambao 先生、Daria L. Manalo 先生、Demetria S. Catalino 先生及び RITM の皆様には、狂犬病臨床検体や疫学データを入手するにあたり、大変ご尽力頂きましたことを感謝申し上げます。

グラスゴー大学の Roman Biek 先生には、本研究における解析手法について多くの御助言を頂きましたことを感謝申し上げます。全く見知らぬ日本の学生からのメールに快くお応え下さり、グラスゴー大学での約 1 ヶ月に渡る留学を受け入れて下さいましたことを大変感謝しております。

また、共同研究にて大変お世話になりました東北大学未来科学技術共同研究センターの大村達夫教授、ジョンズ・ホプキンス大学の Robert H Gilman 教授に感謝申し上げます。縁あって一緒できたことを深く感謝しております。

研究活動費においては、日本学術振興会特別研究員奨励費(25・1263)からご支援を頂きました。誠に有難うございました。

最後になりましたが、4 年間に及ぶ博士生活を支えて下さりました微生物学分野の皆様、心より感謝申し上げます。