

大阪市における結核菌の分子疫学解析状況(2012-2014)

山本香織¹、中村寛海¹、小向潤²、和田崇之³、梅田 薫¹、
小笠原 準¹、平井有紀¹、平山照雄¹、長谷 篤¹、松本健二²、西尾孝之¹

Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in Osaka City Japan during 2012-2014

Kaori YAMAMOTO, Hiromi NAKAMURA, Jun KOMUKAI, Takayuki WADA,
Kaoru UMEDA, Jun OGASAWARA, Yuki HIRAI, Teruo HIRAYAMA, Atsushi HASE,
Kenji MATSUMOTO and Takayuki NISHIO

Abstract

Clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (n=1,654) were obtained from patients with tuberculosis in Osaka City during 2012-2014. We analyzed 687 strains using Japan Anti-Tuberculosis Association(JATA)(12)-variable numbers of tandem repeats (VNTR). Additional 12 VNTR loci were analyzed when needed. Eleven M-strains were detected. Cluster J₁₂-0010, which belongs to non-Beijing family, causing tuberculosis among homeless patients since 2007 and its equivalent type were also detected from homeless patients in this study. VNTR analysis and epidemiologic information did not imply that a type specific for foreign birth patients was spreading in the City area. Analysis of isolates derived from young patients exhibited two major clusters (J₁₂-0001 and G) consisting of 9 isolates each. By the analysis of the additional 12 VNTR loci, it was shown that there was no relation among patients of cluster J₁₂-0001. Cluster G included isolates derived from an outbreak in a high school. In 18 multiple drug resistant-MTB, 3 isolates exhibited an identical VNTR type. Further investigations based on genotyping data is required to find individual contact among tuberculosis patients. It would also provide a clue to characterize clinically important strains derived from tuberculosis patients in Osaka City.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, VNTR, molecular epidemiology

I 緒言

結核は結核患者の咳と共に結核菌が飛散することでヒトからヒトへ感染伝播する公衆衛生上重要な細菌感染症である。結核患者は長期の治療が必要となることから著しい経済的負担と社会的活動の制限をうける。厚生労働省の結核登録者情報調査年報集計結果(概況)[1]によると、我が国の 2013 年結核罹患率(人口 10 万対の新登録結核患者数)は 16.1 で、欧米諸国(米国(3.1)、ドイツ(4.9)、オーストラリア(5.7))と比較すると依然として高い状況にあり、低蔓延国の水準となる結核罹患率 10 以下にはまだ至っていない。大阪府は全国の都市で結核罹患率が最も高く(2013 年:39.4)、第二次大阪市結核対策基本指針(以下、指針)において 2020 年度までに結核罹患率 25 以下を目標とした取

り組みをおこなっている[2]。

結核菌の遺伝型別は、縦列反復数多型(variable numbers of tandem repeats:VNTR)型別[3]が主流となっている。VNTR 型別は、結核菌ゲノム上に存在する数 10 bp の反復配列領域(VNTR 領域)が示す多様性を利用した遺伝型別法である。国内では、12 か所の VNTR 領域を対象とした Japan Anti-Tuberculosis Association(以下、JATA)(12)-VNTR 型別[4,5]が提唱され、各地方衛生研究所で普及している。本法は東アジア全域で主要な遺伝系統群である北京型結核菌[6]において特に分解能が高いことが知られている。VNTR 型別の目的は、疫学的に共通の感染源が示唆された患者間の関連調査(接触調査)に科学的裏付けを与えるための分析とサーベイランス分析の二つに分

-
- 1) 大阪市立環境科学研究所
〒543-0026 大阪市天王寺区東上町 8-34
Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan
- 2) 大阪市保健所
〒545-0051 大阪市阿倍野区旭町 1-27-1000
Osaka City Public Health Center, 1-27-1000 Asahimachi, Abeno-ku, Osaka 545-0051, Japan
- 3) 長崎大学熱帯医学研究所
〒852-8523 長崎県長崎市坂本 1-12-4
Nagasaki University Institute of Tropical Medicine, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki City 852-8523, Japan

けられる。サーベイランス分析では、未知の伝播経路の推定のみならず、特定の菌株が出現・拡散・流行する傾向をあらかじめ監視できる。特定株の監視は、過去の蓄積データとの比較によっておこなう。阪神地域においては、蓄積データの解析により出現頻度の高い 33 クラスタータイプ (J₁₂-0001~0033) が和田らによってまとめられている[7]。このクラスタータイプには、2003-2004 年に首都圏で集団発生を引き起こし、高い病原性を持つと言われている M 株 (J₁₂-0006) [8] や、2006 年以降に大阪市あいらん地域で高頻度に分離され、同地域内での集団感染が示唆されているクラスタータイプ (J₁₂-0010) [7] が含まれている。

大阪市では、2012 年 4 月から「結核菌の分子型別による分子疫学調査事業」を実施しており、当研究所では保健所から搬入された結核菌株について VNTR 型別を実施している。

本研究では、2012 年 1 月~2014 年 12 月の間に大阪市内で新登録となった結核患者由来菌株の一部について、ハイリスクグループ (結核を発病する可能性が高いか、発病した際に周囲に多くの人々を感染させる恐れが高いグループ) として指針に挙げられている、ホームレス、外国出生 (外国で出生した在日外国人)、若年 (40 歳未満) の患者由来株と、多剤耐性結核菌 (Multi-Drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: MDR-MTB, 以下 MDR) に着目し、分子疫学解析をおこなったので報告する。

II 材料および方法

1) 検査対象

2012 年 1 月~2014 年 12 月の大阪市における新登録結核患者は 3,204 名であった。結核菌が分離され当研究所に搬入された 1,650 株および大阪府立公衆衛生研究所に搬入された 4 株の計 1,654 株のうち 687 株

について JATA (12)-VNTR 型別を実施した (表 1)。同一患者から複数の株が分離された場合は、初回搬入のみを解析対象とした。687 株のうちハイリスクグループに属するものは、ホームレス患者由来 68 株、外国出生患者由来 28 株、若年患者由来 187 株、MDR 患者由来 18 株であった。解析対象には、ホームレスで若年者、外国出生で若年者などの重複を含んでいる。

2) 結核菌の DNA 抽出および VNTR 型別

結核菌を純水 200 μL に懸濁し、95°C、10 分の加熱処理後、15,000 × g、10 分遠心分離した上清をテンプレート DNA とした。PCR 法による VNTR 領域の増幅は既報に従っておこなった[4]。VNTR 領域は、国内の標準法として提唱されている JATA (12)-VNTR 領域[4, 5] を基本とし、必要に応じて JATA (15) 3 領域 (QUB-11a, QUB-18, ETR A) [9]、国際比較 6 領域 (MIRU04, MIRU16, MIRU40, ETR C, Mtub30, Mtub3) [10]、超可変 3 領域 (QUB-3232, VNTR3820, VNTR4120) [11] の 12 領域を加えた 24 領域とした。得られた PCR 産物は i チップ/日立コスモアイ SV1210 (日立化成工業株式会社) で電気泳動を実施し、測定した鎖長から各領域の反復数を算出して VNTR 型を決定した。JATA (12)-VNTR 型別により 12 領域での反復数が一致したものをクラスターと定義した。

III 結果

2012-2014 年に解析を実施した 687 株のうち 419 株 (61.0%) が 86 クラスターを形成した。図 1 にクラスタータイプの出現割合を示した。クラスタータイプ (J₁₂-0001~0033) [7] は和田らの命名に従った。2009 年以降に出現したクラスターには任意のアルファベットを付与した。クラスタータイプの出現割合は J₁₂-0001 が 5.8% (40 株) と最も多く、2006-2011 年の出現割合とほ

表 1 各解析対象の JATA(12)-VNTR 型別実施菌株数

		登録年			計
		2012	2013	2014	
全体	新登録患者数	1,142	1,058	1,004 ^{*1}	3,204
	搬入菌株数	593	547	514	1,654
	型別実施菌株数 ^{*2}	205	277	205	687 ^{*3}
解析対象別 型別実施 菌株数	ホームレス	25	25	18	68
	外国出生	4	17	7	28
	若年 (40 歳未満)	70	56	61	187
	多剤耐性結核	10	5	3	18
	その他	182	183	125	490

*1: 2015 年 5 月現在概数値

*2: JATA(12)-VNTR 型別実施菌株数

*3: 解析対象に重複を含むため解析対象別型別実施菌株数の合計とは一致しない

出現割合(%)

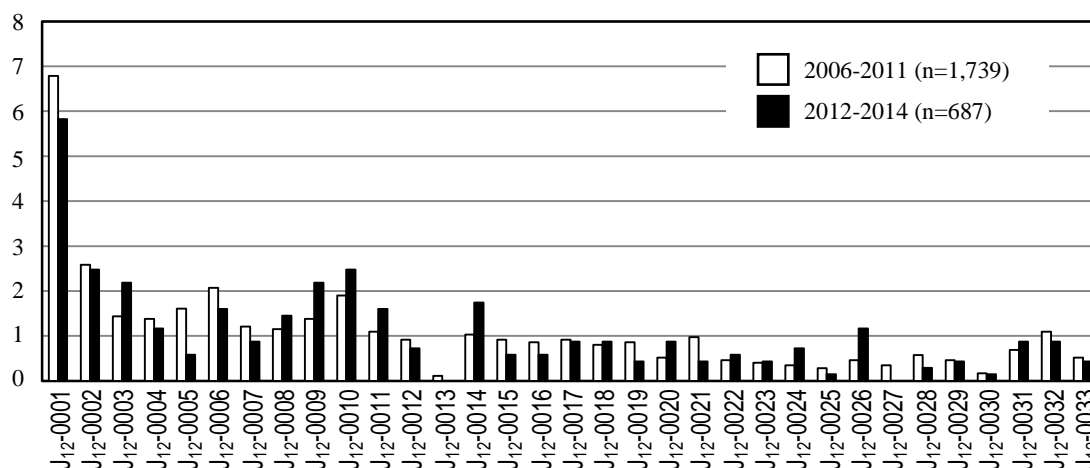


図1 クラスタータイプ(J₁₂-0001～0033)の出現割合(2006-2014)

表2 外国出生患者由来株と国内出生患者由来株間のクラスター形成菌株数

クラスタータイプ	JATA(12)-VNTR												クラスター形成菌株数	
	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	外国出生患者由来株数	国内出生患者由来株数
J ₁₂ -0001	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	1	39
J ₁₂ -0008	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3	4	7
J ₁₂ -0009	4	3	4	3	6	3	7	4	5	8	8	3	1	14
J ₁₂ -0014	4	3	3	3	6	3	7	4	5	8	8	5	1	11
J ₁₂ -0031	4	3	4	3	4	3	7	4	5	7	8	3	1	5
クラスターA	1	3	4	3	5	3	5	4	5	7	9	3	1	16
クラスターB	4	3	3	3	6	3	7	4	5	7	8	3	1	1
クラスターC	1	4	7	3	9	1	2	4	4	7	7	2	1	1
クラスターD	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	8	3	1	1
クラスターE	4	3	4	3	6	3	6	4	4	7	8	3	1	1
クラスターF	4	2	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3	1	1

表3 若年患者由来株における上位2クラスターの内訳

クラスタータイプ	菌株No.	登録年	JATA(12)-VNTR												追加領域											
			J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	M04	M16	M40	EA	EC	t30	t39	Q11a	Q3232	V3820	V4120	Q18
J ₁₂ -0001	若1-1	2012	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	10	12	11	10
	若1-2	2012	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	10	9	7	9
	若1-3	2012	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	9	10	11	10
	若1-4	2013	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	3	3	4	4	4	3	8	14	12	10	8
	若1-5	2014	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	11	12	10	10
	若1-6	2014	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	20 ^{*1}	12	12	11	10
	若1-7	2014	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	10	9	7	10
	若1-8	2014	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	12	13	11	10
	若1-9	2014	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	2	4	3	4	4	4	3	8	9	12	11	10
クラスターG	若56-1	2012	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-2	2012	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-3	2012	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-4	2012	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-5	2013	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-6	2014	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	12	10	9
	若56-7	2014	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	2	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-8	2014	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9
	若56-9	2014	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	3	3	3	4	4	1	8	12	13	10	9

*1:反複数が20を超える

表 4 MDR 患者由来株の JATA(12)-VNTR 型別結果

クラスター タイプ	菌株 No.	登録年	JATA(12)-VNTR											
			J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12
J ₁₂ -0022	MDR-1	2012	3	3	3	3	5	3	7	2	5	10	6	4
	MDR-2	2012	3	3	3	3	5	3	7	2	5	10	6	4
	MDR-3	2012	3	3	3	3	5	3	7	2	5	10	6	4
none *1	MDR-4	2012	4	1	3	2	7	3	7	4	5	7	8	5
none	MDR-5	2012	4	3	4	3	4	3	7	4	5	7	8	3
none	MDR-6	2012	2	3	3	3	3	3	7	4	2	4	6	4
none	MDR-7	2012	2	3	3	3	4	3	7	2	5	10	8	4
none	MDR-8	2012	3	3	4	3	5	3	6	4	5	8	8	3
none	MDR-9	2012	2	3	2	×*2	2	5	1	2	3	13	7	4
none	MDR-10	2012	4	3	3	3	7	3	7	4	5	7	7	5
none	MDR-11	2013	3	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5
none	MDR-12	2013	4	1	2	2	6	4	2	4	4	7	8	5
none	MDR-13	2013	4	3	3	3	3	3	5	4	2	4	7	4
none	MDR-14	2013	4	2	×	3	×	4	4	4	3	12	4	3
none	MDR-15	2013	4	3	3	2	×	2	7	4	5	7	8	×
none	MDR-16	2014	4	4	1	3	3	2	6	4	4	4	5	3
none	MDR-17	2014	4	3	3	4	6	3	6	4	5	7	7	3
none	MDR-18	2014	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	7	5

*1:クラスター非形成

*2:該当領域に増幅なし

ほぼ同様であった。

M 株を示すクラスタータイプである J₁₂-0006 は 1.6% (11 株) 検出された (図 1)。ホームレス患者由来 68 株において最も大きなクラスターは 7 株から形成される J₁₂-0010 で、このうち 6 株については追加領域を含めた 24 領域の VNTR 型が全て一致した。外国出生患者由来株の市内における蔓延状況を知るために、外国および国内出生患者のクラスター形成状況を表 2 に示した。外国出生患者由来 28 株のうち、14 株が国内出生患者由来株と 11 クラスターを形成した。しかしながら、このうち 5 クラスター (B、C、D、E、F) は、追加領域の VNTR 型が不一致であり (データ示さず)、国内出生患者由来株とは異なる菌株であることが判明した。若年患者由来 187 株間では 91 株 (48.7%) が 30 クラスターを形成した。最も大きなクラスターは、各々 9 株からなる J₁₂-0001 とクラスター G であった (表 3)。クラスター G には、2012 年に発生した集団感染事例関連 4 株 (若 56-1~4) が含まれていた。MDR 18 株のうち 3 株は J₁₂-0022 であった (表 4)。これらは追加領域の VNTR 型も一致した。残りの 15 株は JATA (12)-VNTR 型が不一致であった。

IV 考察

M 株 (J₁₂-0006) は、2003-2004 年に首都圏で集団感染を起こして以降、国内各地から検出されている [7,12,13]。本市においても 2006-2011 年に 36 株、2012-2014 年に 11 株検出されている。本株は追加領域を含めた 24 領域の VNTR 型が一致するため細分類ができず、患者間の関連が不明の場合が多い。近年、

結核菌のゲノム解析によって地域特性を示す単塩基置換 (SNVs) が見いだされた [12] ことから、今後 SNVs の解析をおこなうことによって M 株間の関連性を検証することが可能となるであろう。

J₁₂-0010 は、2007 年以降、あいりん地域患者、ホームレス患者から毎年検出されている。本クラスタータイプの遺伝系統群はわが国において 8 割を占める遺伝系統群である北京型株 [14] とは異なり、非北京型株と呼ばれる。今回の解析ではホームレス患者由来 68 株のうち 7 株 (10.3%) が本クラスタータイプであった。ホームレス以外の患者 (以下、一般患者) 由来 619 株のうち、本クラスタータイプを示したのは 10 株 (1.6%) と低率であった。また、ホームレス患者由来 7 株のうち 5 株と一般患者由来 10 株のうち 5 株があいりん地域の患者由来株であった。ホームレス患者由来 7 株のうち 6 株は追加領域の VNTR 型も一致し、本タイプの結核菌株はホームレスおよびあいりん地域において現在も継続的に伝播・発症していることが示唆された。

外国出生患者由来 28 株と国内出生患者由来 659 株の比較を行った結果、外国出生患者由来 14 株が国内出生患者由来 97 株と 11 クラスターを形成した (表 2)。クラスター B、C、D、E、F を形成する各菌株は追加領域の VNTR 型が不一致であった。また、クラスタータイプ J₁₂-0001、0008、0009、0014、0031 およびクラスター A は、外国出生患者が結核を発症する 2012 年以前から大阪市内で多数検出されていた。このことから、外国出生患者は入国後での感染が疑われ、これらのクラスタータイプに属する菌株が外国出生患者によって海

外から流入し、その後大阪市内に拡散した可能性は低いと考えられた。しかし、近年は結核高蔓延国である中国、韓国、フィリピン[15]から就学・就労目的で入国する若年者が増加しており[16]、今後の動向にはなお注意が必要である。これらのアジア諸国で分離される結核菌は日本と同じく北京型結核菌が多く[6]、国内患者との接触に起因する直近の伝播と海外からの新規菌株の流入を厳密に区別するためには、次世代シーケンサーなどを活用した比較ゲノム解析が必要となるであろう。

若年患者由来株では、各々9株からなる2クラスター(J₁₂-0001、クラスターG)が存在した(表 3)。J₁₂-0001は2006年以降、大阪市内で最も多く検出されるクラスタータイプである。本タイプはJATA(12)-VNTR型が一致するものの、菌株間の関連が不明であることも多く[16]、追加領域による型別が必要である。今回9株すべてにおいて追加領域のVNTR型が不一致であることから関連が否定され、患者間の接触歴も認められなかった。もう一方のクラスターGは、2012年に発生した高校関連の集団事例由来4株(若 56-1~4)が含まれており、追加領域のVNTR型も一致した。残りの5株のうち、3株は追加領域のVNTR型別も一致したが、患者間の関連は不明であった。

MDR18株のうち3株がクラスタータイプJ₁₂-0022であり、追加領域のVNTR型も一致した(表 4)。患者間の関連については現在調査中である。2012-2014年に出現したクラスタータイプJ₁₂-0022は4株で、このうち3株がMDRと高い割合であったことから、今後本クラスタータイプが出現した際にはMDRの可能性について注意が必要である。

VNTR型別は、患者間の疫学情報があらかじめ存在する接触調査では12領域での型別が有効である[17]が、サーベイランス分析ではJ₁₂-0001のように関連は不明であるが同一VNTR型に分類されるようなケースも見られ、追加領域についての解析が必要となることもある。現在大阪市では、2か月に一度分子疫学検討会を実施し、JATA(12)-VNTRで一致した株についての検討をおこない、必要に応じて追加領域のVNTR型別を実施している。

今後は継続した調査をおこなうと共に他グループについても分子疫学解析をおこない、地域的な蔓延状況の把握に努めることで大阪市の結核対策に寄与したい。

V まとめ

2012-2014年の大阪市における新登録結核患者由来の結核菌687株について、JATA(12)-VNTRによる分子疫学解析をおこなった。M株を示すクラスタータイプであるJ₁₂-0006は11株検出された。ホームレス由来株では2007年から検出されている非北京型株(J₁₂-0010)が継続して検出された。外国出生患者は入国後

の感染が疑われ、海外から流入した結核菌が大阪市内で拡散した可能性は低いと考えられた。若年患者由来株では各々9株からなるクラスターが2つ存在した。一方は追加領域の型別により関連が否定され、他方は集団感染事例株を含むクラスターであった。クラスタータイプJ₁₂-0022を示すMDRが3株見出され、これらは追加領域のVNTR型も一致していた。今後本クラスタータイプを示す菌株が出現した際にはMDRの可能性について注意が必要である。

謝辞 結核菌株の収集、搬入および疫学情報の収集にご尽力いただきました、大阪市保健所感染症対策課、各区保健福祉センターの皆様には深謝いたします。

また、MDRのVNTR型別にご協力頂きました大阪府立公衆衛生研究所の田丸重貴博士に感謝いたします。本研究の一部は平成26年度当研究所指定研究課題「大阪市内の結核ハイリスクグループにおける結核分子疫学研究」として実施した。また、本研究の一部は科学研究費助成事業「結核菌の遺伝系統分類および疫学情報に基づく若年者結核のリスク要因究明(研究課題番号26893338)、平成24~26年度の厚生労働科学研究費補助金による「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業(研究代表者:石川信克)」の分担研究(分担研究者:松本健二)の助成を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) 厚生労働省, 平成25年結核登録者情報調査年報集計結果, <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou03/13.html>
- 2) 大阪市, 第2次大阪市結核対策基本指針「STOP TB 作戦」, <http://www.city.osaka.lg.jp/kenko/page/0000135307.html>
- 3) Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B, and Loch C. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. *Mol Microbiol.* 2000; 36: 762-771.
- 4) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 菅原勇, 加藤誠也. 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)システム-JATA(12)-VNTR分析法の実際-. *Kekkaku* 2008; 83(10): 673-678.
- 5) Murase Y, Mitarai S, and Sugawara I. Promising loss of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. *J Med Microbiol.* 2008; 57: 873-880.
- 6) Van Soolingen D, Qian L, de Haas PE, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of east Asia. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 3234-3238.

- 7) 和田崇之, 岩本朋忠, 田丸亜貴, 有川健太郎, 中西典子, 小向潤, 他. 複数自治体をまたぐ広域的結核分子疫学の基盤構築. *Kekkaku* 2013; 88(4): 393-398.
- 8) Ohkado A, Murase Y, Mori M, Hasegawa N, Otsuka G, Nagamine M, et al. Transmission of specific genotype streptomycin resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* in the Tokyo Metropolitan area in Japan. *BMC Infect Dis.* 2009; 9: 138.
- 9) 前田伸司, 和田崇之, 岩本朋忠. 国内結核菌を効率よく型別するための標準反復配列多型(VNTR)分析法. *日本細菌学雑誌* 2010; 65: 201.
- 10) Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso-Oelemann M, Rusch-Gerdes S, Willery E, et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 4498-4510.
- 11) Iwamoto T, Yoshida S, Suzuki K, Tomota M, Fujiyama R, Nakanishi N, et al. Hyper variable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family. *FEMS Microbiol Lett.* 2007; 270: 67-74.
- 12) Wada T, Iwamoto T, Tamaru A, Seto J, Ahiko T, Yamamoto K, et al. Clonality and micro-diversity of a nationwide spreading genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Japan. *PLoS One* 2015; 10(3): e0118495.
- 13) 和田崇之, 長谷 篤. 結核菌の縦列反復配列多型(VNTR)解析に基づく分子疫学とその展望. *Kekkaku* 2010; 85(12): 845-852.
- 14) 岩本明忠. 結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い. *Kekkaku* 2009; 84(12): 755-759.
- 15) 公益財団法人 結核予防会 結核研究所 疫学情報センター, 結核の統計「資料編」2013 表 5, <http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/toukei/adddata/>
- 16) 法務省, 平成 24 年における外国人入国者数及び日本人出国者数について(確定値), http://www.moj.go.jp/nyuukokukanri/kouhou/nyuu_kokukanri04_00032.html
- 17) 田丸亜貴, 和田崇之, 岩本朋忠, 長谷 篤. JATA(12)-VNTR 型別による結核集団発生事例の菌株異同調査. *Kekkaku* 2013; 88(4): 399-403.