

京都府分離結核菌株の JATA (12)-VNTR 型別解析 — 結核対策における JATA (12)-VNTR 型別法の有用性 —

浅井 紀夫 杉浦 伸明 真田 正稔 堀 忍*1
中村 清康*2 和田 崇之*3 長谷 篤*4

Examination of JATA (12)-VNTR Method on Isolated from People in Kyoto Prefecture.
— Evaluation of JATA (12)-VNTR as a Marker of the Source of Measures of *Mycobacterium tuberculosis* —

Norio ASAI Nobuaki SUGIURA Masatoshi SANADA Shinobu HORI*1
Kiyoyasu NAKAMURA*2 Takayuki WADA*3 Atushi HASE*4

前報で京都府保健環境研究所における行政検査として Japan Anti-Tuberculosis Association (12)-VNTR (以下「JATA (12)-VNTR」という。) 型別解析を実施するための検査プロトコルを確立した。今回、この方法を用いて 2004 年 4 月～2012 年 3 月に当所で分離・保存した 42 菌株および 2012 年 4 月～2013 年 3 月に新たに入手した 18 菌株 (山城北保健所管内 12 菌株、丹後保健所管内 6 菌株) 合計 60 菌株についての解析を行った。VNTR 型は 45 のパターンに分類され、このうち 9 パターンについては 2 菌株以上が 11 カ所以上の反復配列領域で同じ反復数を示すクラスターを形成した。各クラスターについて実地疫学的に詳細な調査をした結果、感染源や感染経路などが予想される事例においては、その特定に JATA (12)-VNTR 型別は有用であり、結核対策上の重要な科学的根拠を与えるツールとして評価できた。一方、サーベイランス分析を目的とした解析については、菌株同士の関連が明白な場合は JATA (12)-VNTR 型別は非常に有用であるが、明白でない場合は感染経路の解明は困難であると推測した。今後の結核菌疫学解析における JATA (12)-VNTR 型別の活用方法について考察し、26-Loci-VNTR 法を補助的に用い、さらにデータを蓄積することにより実地疫学的に解明困難な結核事例の対策にも有用であると推論した。

キーワード：結核菌、VNTR、JATA (12)-VNTR、分子疫学、反復数、実地疫学調査

key words : *Mycobacterium tuberculosis*, Variable number of tandem repeats, Japan anti-tuberculosis association (12)-VNTR, Molecular epidemiology, Repeat number, Field epidemiological survey.

はじめに

結核は潜伏期間が長期におよび、早期発見も他の感染症と比較して困難であることなどから、感染経路の解明には分子疫学的手法が重要視される感染症の一つである。結核菌感染症における分子疫学解析方法としては Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 法が広く行われている¹⁾。しかし、この解析法は多量の結核生菌が必要で、検査担当者への感染危険性が高く、菌の培養にも長期間を要する。また、同時に検査を行わないと菌株間の比較は困難である。Supply ら²⁾は結核菌ゲノム上にある遺伝子の繰り返し領域に注目し、15 ないし 24 カ所の領域での繰り返し部位のコピー数から結核菌を分類する方法 Variable Number of Tandem Repeats (以下「VNTR」という。) 型別を開発した。PCR を用いる分子疫学手法であり、少量の未精製 DNA を検体として用い、

死菌からの解析も可能であるため、安全面としても推奨される方法である。さらに結果を数値化できるため、データの保存・蓄積、施設間での比較・検討にも有利である。この VNTR 型別は世界規模で収集された菌株の分類では優れた解析能力を有するが、各地域内で分離される近縁株の型別分類には限界があり、「北京型ファミリー」と呼ばれる結核菌系統群が分離菌株の 80% を占める日本の菌株を解析しても正しい分類ができない³⁾。

そこで、前田ら⁴⁾は日本で分離される菌株に適用可能な方法を検討し、Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA) 12-VNTR (以下「JATA (12)-VNTR」という。) 法を確立した。これは結核菌ゲノムの JATA1～JATA12 と呼ばれる 12 カ所の領域での、配列の繰り返し単位数 (以下「反復数」という。) を測定することによる分類法である。

この手法は検査条件等により結果が影響を受けやすく、当所ではミネラルオイル型のサーマルサイクラーを使用すること、検体が長期間冷蔵・冷凍保存される可能性があること、検体が発育インジケター付き液体培地で搬入される可能性が高いこと、オートクレーブに急冷機能がないこと等から、前田の方法をそのまま当所の検査法として採用することができない。そこで、京都府行政検査対応として安全・迅速・正確に検査できる「JATA (12)-

(平成25年7月31日受理)

*1 京都府山城北保健所

*2 京都府丹後保健所

*3 長崎大学熱帯医学研究所

*4 大阪市立環境科学研究所

VNTR」方法を模索し、前報でプロトコルを確立した⁵⁾。

今回、このプロトコルを用いて、2004年4月～2012年3月に当所で分離・保存した42菌株および2012年4月～2013年3月に新たに入手した18菌株（山城北保健所管内12菌株、丹後保健所管内6菌株）、合計60菌株についてJATA (12)-VNTR型別を行い、実地疫学調査の結果も併せてJATA (12)-VNTR型別解析の有用性と型別結果の活用方法について考察した。

材料と方法

1. 供試菌株

2004年4月～2012年3月に当所で分離し、小川培地に冷蔵あるいは冷凍保存した42菌株および2012年4月～2013年3月に新規登録された結核患者から入手した18菌株（山城北保健所管内12菌株、丹後保健所管内6菌株）、合計60菌株について解析を行った。

2. 検査方法

2-1. Template DNA の調製

小川培地で保存された菌株、および小川培地で搬入された菌株については、1μLプラスチックチューブで培地上の生菌コロニーを掻き取り、遺伝子用蒸留水50μLに十分懸濁し、ヒートブロック (DTU-2B:TAITEC製)を用いて、98℃、20分間加熱処理後、氷冷却し、11,000rpmで1分間遠心した上清をTemplate DNAとした。

発育インジケーター付液体培地で搬入された検体については、一白金耳を小川培地に塗抹し、37℃で1ヶ月程度培養した後、形成したコロニーについて上記と同様に処理しTemplate DNAを作製した。

2-2. 使用プライマー

前報⁵⁾と同様のプライマーを使用した。

2-3. PCR

前報⁵⁾と同様にしてPCRを行った。スケールは前報で定義したもののうち「20μLスケール」を用いた。

2-4. 電気泳動

前報⁵⁾と同様にして電気泳動を行い、JATA1～JATA12の領域における反復数を算出した。当所で分離・保存した菌株については電気泳動槽 (Mupid 2plus:アドバンス製)を用い、分子量が800bpまでのDNAサイズのバンドについては50V、100分間電気泳動し、800bpを超えるDNAサイズのバンドについては50V、150分間泳動した。上記操作が煩雑であるため、2012年4月～2013年3月に新たに入手した菌株については、電気泳動槽 (ワイドミニサブ®セルGTシステム:バイオラッド)を用い、50V、300分間電気泳動し、一度の泳動で完了した。

3. 実地疫学調査

実地疫学調査はクラスター型の一致したものについて、発症時期、発症地域、患者の個人情報や行動等から、患者同士の接触について調査し、感染経路を検討した。

結果

菌株番号、分離年、発症地域、JATA (12)-VNTR型別の反復数およびクラスター型を表1に示す。発症地域は菌株の患者所在地を管轄する広域保健所名で示した。結果はJATA1～JATA12の各領域の反復数を「,」で区切り列挙した。今回調査した60菌株のうち、JATA1～JATA12の全ての反復配列領域での反復数が一致した菌株が8パターン存在したため、表1に同じクラスター型としてb～iで示した。田丸ら⁶⁾はJATA (12)-VNTR型別において1カ所の領域の反復数のみが異なる事例は、集団感染事例の10.2%、非集団感染事例の1.6%でみられたと報告している。そこで、11カ所の領域で反復数が一致した菌株についてアルファベットの右肩にダッシュあるいはダブルダッシュの記載をし、同じアルファベットのクラスター型に準ずる菌株とした。

60菌株のVNTR型は45パターンに分類され、このうち24菌株で9個のクラスター（準ずる菌株を含む）a～iを形成した。2菌株で構成されるクラスターが4個、3菌株で構成されるクラスターが3個、4菌株で構成されるクラスターが1個および5菌株で構成されるクラスターが1個であった。

クラスター型ごとの実地疫学調査結果を事例番号、クラスター型、菌株番号、菌株に該当する個人情報、実地疫学調査内容および事例動向について表2に示す。事例動向は事例説明につながった事例、引き続き追跡調査に発展した事例および感染経路などが解明できなかった事例をそれぞれ「解明」、「追跡調査中」および「不明」で示した。事例1、事例6および事例7の3事例が解明され、そのうち事例7は追跡調査に発展し、事例2、事例3、事例4、事例5、事例8および事例9の6事例は調査が行き詰まり不明となった。

事例1は同一人物の再発であり、JATA6以外の11カ所の領域で反復数が一致したことから再燃の可能性が予測される。

事例6のNo.34およびNo.35は夫婦であり、同一職場に勤務していた。夫婦の母親が再燃し、家族内感染した可能性が高いと推測されたが、母親の過去の菌株は存在せず、VNTR型別による診断ができないため、職場内感染の恐れを否定できず、定期的に当該職場の感染状況を確認することとなった。

事例7のNo.40は父親が2004年に結核を発症している⁷⁾ことから、潜在性結核の発症により、感染源となった可能性が予測できるが、暴露から6年経過しており、イソニアジドによる潜在性結核感染症治療も行っていたため、別経路による再感染の可能性も否定できない。父親の菌株も入

表 1. JATA (12)-VNTR 型別結果とクラスター型分類

菌株番号 (No.)	分離年	発生地域	JATA (12)-VNTR 型別の反復数	クラスター型*)
1	2004	中丹	2,1,3,2,6,4,7,4,5,7,6,5	a
2	2005	中丹	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,8,4	b
3	2005	中丹	2,3,3,3,5,3,5,5,11,8,4	
4	2006	丹後	2,2,1,3,4,2,5,3,4,12,4,3	c
5	2006	山城	4,1,3,2,6,4,7,4,5,7,8,5	
6	2006	山城	2,3,1,3,2,2,5,4,3,13,5,1	
7	2006	中丹	2,1,3,2,6,3,7,4,5,7,6,5	a'
8	2006	丹後	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,8,4	b
9	2006	山城	3,3,3,5,7,3,7,6,5,7,2,5	
10	2006	山城	3,3,3,5,7,3,7,6,5,7,3,6	
11	2006	中丹	3,3,3,4,7,3,7,5,5,7,2,5	d
12	2006	中丹	3,3,3,4,7,3,7,6,2,7,6,6	
13	2006	丹後	3,3,3,4,7,3,7,5,5,7,2,5	d
14	2006	丹後	2,3,1,3,4,2,5,4,3,13,3,3	
15	2006	中丹	3,3,3,3,3,3,7,4,5,7,7,4	
16	2006	中丹	2,3,3,4,7,3,7,5,5,7,2,5	
17	2006	中丹	3,2,3,3,3,3,7,5,5,7,7,4	
18	2006	南丹	4,3,4,3,3,3,7,4,5,6,8,4	
19	2006	南丹	4,3,4,3,5,3,4,4,5,6,8,3	
20	2006	南丹	2,3,3,3,7,2,5,4,3,13,3,3	
21	2006	南丹	4,3,3,4,2,3,12,4,5,7,8,4	
22	2006	丹後	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,8,4	b
23	2006	丹後	2,2,1,3,4,2,5,3,4,12,4,3	c
24	2007	南丹	2,3,3,3,7,3,7,2,5,10,8,4	
25	2007	南丹	0,2,0,3,3,1,5,5,3,10,5,1	
26	2007	丹後	2,3,3,2,4,3,7,4,5,7,10,5	
27	2007	丹後	4,3,4,3,8,3,7,4,5,7,8,3	e
28	2009	丹後	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,8,4	b
29	2009	丹後	1,3,8,3,9,1,2,4,4,10,6,2	
30	2010	山城	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,8,4	b
31	2010	山城	4,1,3,2,7,4,6,4,5,7,8,5	h"
32	2010	山城	5,1,3,2,7,4,7,4,4,7,8,5	
33	2010	山城	3,8,3,2,8,4,9,4,4,10,8,2	
34	2010	山城	3,3,4,3,5,3,6,4,5,10,8,3	f
35	2010	山城	3,3,4,3,5,3,6,4,5,10,8,3	f
36	2010	丹後	4,3,3,4,2,3,12,4,5,7,8,5	
37	2010	丹後	3,3,3,6,7,3,7,5,5,7,2,6	
38	2010	丹後	3,3,3,3,5,3,5,2,5,11,7,5	
39	2011	丹後	4,3,3,3,7,3,7,4,5,7,8,5	
40	2011	丹後	4,1,3,2,7,2,7,4,5,7,8,5	g, h'
41	2011	丹後	4,3,3,3,9,3,7,4,5,7,8,3	
42	2011	丹後	4,1,3,2,7,4,7,4,5,7,8,5	h, g'
43	2012	山城	4,2,4,3,6,1,7,4,5,7,8,3	
44	2012	山城	3,3,3,4,7,3,7,5,5,7,2,5	d
45	2012	山城	4,3,3,3,3,3,8,4,6,7,7,4	
46	2012	山城	4,1,3,2,7,5,7,4,5,7,8,5	
47	2012	山城	4,3,4,3,6,3,8,3,5,7,8,3	
48	2012	丹後	4,3,5,3,3,3,7,4,5,3,8,5	
49	2012	山城	4,1,3,2,2,3,1,2,3,7,8,5	
50	2012	山城	3,6,3,4,7,3,7,5,5,7,2,5	
51	2012	山城	4,1,0,2,7,4,7,4,4,1,8,4	
52	2012	山城	4,3,4,3,8,3,7,4,5,7,8,3	e
53	2012	丹後	4,3,3,3,2,3,7,4,5,7,7,4	i
54	2012	丹後	4,3,3,3,2,3,7,4,5,7,7,4	i
55	2012	丹後	4,3,3,3,3,4,6,4,5,7,7,4	
56	2012	丹後	4,1,3,2,7,2,7,4,5,7,8,5	g, h'
57	2012	丹後	2,2,1,3,4,2,5,3,4,12,4,3	c
58	2012	山城	3,6,5,1,2,3,1,2,3,12,8,4	
59	2012	山城	2,3,1,3,4,2,5,4,3,14,4,3	
60	2012	山城	4,1,3,2,7,4,7,4,5,7,8,5	h, g'

* JATA (12)-VNTR 反復数が一致した株を同じアルファベットで分類し、同一のクラスター型とした。また、11 領域で一致したものはアルファベットの右肩にダッシュあるいはダブルダッシュの記載をし、同じアルファベットのクラスター型に準ずる株とした。

表 2. クラスター型別での菌株に該当の個人間での感染経路調査

事例番号	クラスター型	菌株番号	個人情報	実地疫学調査内容	事例動向
1	a	No.1	No.7 と同一人物。	再発。	解明
		No.7	No.1 と同一人物、No.1 と 11 領域で VNTR 型一致。		
2	b	No.2	α 病院受診記録なし。	α 病院関係をはじめ、全ての菌株番号間の接触は確認できず。No.22 血縁関係者には結核発症者が多数見られたが、これらの発症者と No.2、No.8、No.28、No.30 との接触も確認できず。	不明
		No.8	α 病院受診記録なし。		
		No.22	α 病院受診記録なし。		
		No.28	α 病院職員。		
		No.30	α 病院受診記録なし。		
3	c	No.4	F 県在住、2006 年 3 月結核登録、燃料供給関係勤務。	3 人の接触は確認できず。	不明
		No.23	A 町在住、2006 年 10 月結核登録、特定施設の利用者。		
		No.57	I 町在住、2012 年 6 月結核登録、特定施設の職員。		
4	d	No.11	結核既往歴なし。	3 人の接触確認できず。	不明
		No.13	結核既往歴なし。		
		No.44	潰瘍吐血により 2011 年 β 病院へ入院、1 ヶ月後に結核による喀血診断され転院。		
5	e	No.27	燃料供給関係勤務、F 県および京都府行き来、山城管内長期滞在なし。	2 人の接触確認できず。	不明
		No.52	丹後管内長期滞在なし。		
6	f	No.34	No.35 と夫婦であり同一職場勤務。	息子および母親に感染確認、母親は再燃の可能性大。職場での感染者は見られず。	解明
		No.35	No.34 と夫婦であり同一職場勤務。		
7	g	No.40	2004 年父親が結核発症、予防投薬。	No.40 が発症していたと推測される期間に、No.40 と No.56 は遊技場で数時間の接触を確認。また、No.42、No.60 は No.40 あるいは No.56 との接触確認できず。	解明 *1 追跡調査中
		No.42	施設利用なし、家族以外の接触はほとんどない生活。 No.40 および No.56 と 11 領域で VNTR 型が一致。		
		No.56	No.40 の同級生。		
		No.60	No.40 および No.56 と 11 領域で VNTR 型が一致。		
8	h	No.31	γ 団体に所属。No.42 および No.60 と 11 領域で VNTR 型が一致。	No.31 の所属する γ 団体内では結核が蔓延。No.42、No.60 は γ 団体との接触確認できず。3 人の接触確認できず。	不明
		No.42	施設利用なし、家族以外の接触はほとんどない生活。		
		No.60			
9	i	No.53	キ町在住、2012 年 4 月結核登録、小学生のときに結核の既往歴あり。 介護サービスや施設サービスの利用は一切なし。	No.53 は接触者検診等により自己再燃の事例と結論。 キ町とク町は隣接し生活経済圏を一にする地域であり、2 人の結核登録日も接近していたが、詳細な実地疫学調査の結果、互いの接触は見られず。	不明
		No.54	ク町在住、2012 年 5 月結核登録、認知症グループホーム利用者。		

*1 No.42、No.60 は No.40 および No.56 と 11 領域で VNTR 型一致のため、事例 7 は No.40 と No.56 の事例として「解明」と記した。

手不能でVNTRによる検証もできないため、No.40およびNo.56との当時の接触者について調査を行ったところ、卒業前に様々な卒業イベントが開催され生徒同士の頻繁な接触が確認された。No.40とNo.56との接触状況から、感染力が極めて強力な菌株であることも推測されるので、当該保健所はNo.40およびNo.56と別の接触者についての追跡調査と対応を開始した。また、No.42およびNo.60はNo.40およびNo.56と11カ所の領域でVNTR型が一致したが、それぞれの関連性は見いだせなかった。

分子疫学検査の重要な内容の一つに、感染源や感染経路が実地疫学的に予想された事例の解明を目的としてVNTR型別を行う場合があり、保健所から特定の菌株が依頼され、結果に基づいて菌株間の照合を行っている。今回、4事例についてそのような目的でJATA (12)-VNTR型別を行った。疫学調査結果を表3に事例番号、菌株番号、調査内容および事例動向についてそれぞれの事例ごとに示す。事例10および事例11については大阪府立公衆衛生研究所のVNTR型別結果と当所の結果を照合した。その結果、4事例全てについて解明することができた。

事例10についてはNo.44の患者が約1ヶ月間病院内で結核菌を排菌しており、患者と接触機会の少ないと考えられる技術職員2名に感染した恐れのあることから、職員だけでなく、入院期間に接触した入院患者等についての検診等の必要性が議論された。技術職員2名のVNTRは一致したが、No.44とは異なったことから、院内感染の恐れは否定され、対象を技術職員の住所地域に絞った追跡調査が当該保健所により開始された。

事例11については工場内感染であることがわかったため、社内感染の恐れが浮上し、全従業員についての追跡調査を行うこととなった。

事例12については3名のVNTR型はいずれも異なり、院内感染は否定された。

事例13についてもVNTR型は一致せず、別事例と判断した。

考察

事例1～事例9のサーベイランス分析を目的としたJATA (12)-VNTR型別解析では、自己再燃や菌株間の関連が明白な事例では感染経路の特定などが可能となり、追跡調査に繋がることがわかった。VNTR型別解析が行われなかった場合、事例そのものを探知することなく、感染が拡大する恐れもあることから、JATA (12)-VNTR型別解析の有用性が認識された。しかし、詳細な実地疫学調査にもかかわらず、菌株間の関連が不明な事例では、追跡が途切れ、調査を断念せざるを得ず、有効な結核対策に結びつけることができなかった。前述のように、結核の潜伏期間は長く、正確な疫学調査が困難なことが主な原因として挙げられる。十年程度の期間のVNTR型別データおよび実地疫学情報の蓄積が必要と考察した。また、菌株の種類によってはJATA (12)-VNTR型別が菌株の詳細な分類に対応していない可能性も考えられる。結核菌ゲノムの26カ所の領域を、シーケンサーを用いてVNTR型別する26Loci-VNTR型別解析等により、JATA (12)-VNTR型別で対象の12カ所以外の領域（以下「追加領域」という。）における解析方法を検討し、JATA (12)-VNTR型別より詳細な解析を行う必要があると考察した。

一方、事例10～事例13で示したように、感染源や感染経路が実地疫学的に予想される事例においては、JATA (12)-VNTR型別を用い、菌株の異同性を調べることにより、感染源や感染経路は特定され、感染拡大防止などの適正な結核対策に結びつけることができると考察した。院内感染の有無、職場感染の有無などの情報は、以降の疫学調査の方向性を決定するための重要な科学的根拠となる。

以上のことからJATA (12)-VNTR型別解析は菌株間の関連が明白な場合や感染源や感染経路が実地疫学的に予想されている場合には極めて有用であり、これらの結果は結核対策の科学的裏付けや、追跡調査に活用できると

表3. 感染源あるいは感染経路が予想された事例の解明目的で、保健所が特定する菌株のVNTR型別と照合を行った事例

事例番号	菌株番号	調査内容	事例動向
10	No.44	潰瘍による吐血の診断で2011年夏に京都府β病院へ入院。約1ヶ月後に結核による喀血と判明し転院。1ヶ月後にβ病院の技術職員A、2ヶ月後に同僚Bが結核を発病。大阪府立公衆衛生研究所（以下「公衛研」という。）の解析の結果、2名のVNTR型が一致。感染源としてNo.44の可能性が浮上。しかし、No.44のJATA(12)-VNTR型別結果が公衛研で解析した2名のVNTR型と一致せず。また、No.44と濃厚に接触したβ病院関係者にも感染が見られなかったことから院内感染の恐れを否定。	解明 追跡調査中
11	No.43	T県から2011年冬期に京都へ転入し、Y自動車工場に勤務。2011年末頃から咳等の症状を呈し、翌年2月に肺結核感染と診断。同工場で勤務する社員の接触者検診を行ったところ、4名中1名の感染が確認。感染の確認された社員とNo.43とのVNTR型が一致。追跡調査の結果、No.43のT県の家族に感染者は確認できず、No.43の京都での同居者とその家族および工場関係者について現在実地疫学調査中。	解明 追跡調査中
12	No.21、No.28、 No.41	いずれもχ病院に勤務する職員。No.21およびNo.41は同じ病棟で看護関係の業務、No.28は受付業務。3名のVNTR型は異なることから院内感染を否定。	解明
13	No.4、No.27	いずれもF県の燃料供給関係に勤務、同時期に同一職場での勤務が確認されたが、VNTR型が異なることから職場内感染を否定。	解明

結論した。

和田ら⁸⁾は、関東圏や関西圏程度の複数自治体をまたぐ広域的結核分子疫学解析とデータ構築の必要性を提案している。巨大なクラスターについて、伝搬性の高い菌株の可能性を否定できないとしながらも、これらを同一感染源由来と単純に考えることは困難とし、データを積み上げることにより、集団発生の可能性の示唆や新たな実地疫学調査への糸口に繋がり、さらにピンポイント的に追加領域についてのVNTR型別を行うことにより、事例解明は容易になると提唱している。

また、田丸ら⁶⁾も対象地域の結核分子疫学の情報が豊富であれば、菌株異同調査に十分実用可能としている。

今後、詳細な実地疫学情報を含んだ京都府内のVNTRデータ構築を行うとともに、近畿他県のデータと比較・検討し、さらに26Loci-VNTR型別解析等を用いた追加領域を解析することにより、実地疫学的に解明が困難な結核事例に対して、的確な結核対策に結びつく科学的根拠を与えることができると推論した。

謝辞

本研究にあたり貴重な情報を御提供いただいた大阪府立公衆衛生研究所の田丸亜貴氏および実地疫学調査に協力いただいた京都府保健所の職員の皆様に深謝いたします。

引用文献

- 1) 松本智成, 岩本朋忠. 2010. 第84回総会シンポジウムⅡ結核菌分子疫学の展望. 結核, 84, 783-794.
- 2) Supply P., Mazars E., Lesjean S. 2000. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. Mol Microbiol, 36, 762-771.
- 3) Iwamoto T., Yoshida S., Suzuki K., Tomita M., Fujiyama R., Tanaka N., Kawakami Y., Ito M. 2007. Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strain predominated by the Beijing family. FEMS Microbiol Lett, 270, 67-74.
- 4) 前田信司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 菅原勇, 加藤誠也. 2008. 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム. 結核, 83, 673-678.
- 5) 浅井紀夫, 杉浦伸明, 真田正稔, 和田崇之, 長谷篤. 2011. 結核菌の分子疫学解析における Variable Numbers of Tandem Repeats (VNTR) 法の検討. 京都府保健環境研究所年報, 57, 18-21.
- 6) 田丸亜貴, 和田崇之, 岩本朋忠, 長谷篤. 2013. JATA (12)-VNTR 型別による結核集団発生事例の菌株異同調査. 結核, 84, 783-794.
- 7) 中村清康, 鎌田多加子, 中澤美穂子, 永濱治夫, 平竹晋也, 田中稔之, 木下直子, 成瀬昭二. 2005. 自動車教習所. 保健師・看護師の結核展望, 86, 13-18.
- 8) 和田崇之, 田丸亜貴, 岩本朋忠, 有川健太郎, 中西典子, 小向潤, 松本健二, 長谷篤. 2013. 複数自治体をまたぐ広域的結核分子疫学の基礎構築. 結核, 88, 393-398.