

## 総 説

## 抗 酸 菌 の L 相 を め ぐ つ て

## 1. 抗酸菌の細胞壁欠損型

高 橋 昭 三

結核予防会結核研究所

受付 昭和 53 年 10 月 23 日

## L PHASE GROWTH OF MYCOBACTERIA

## 1. Cell Wall Deficient Form of Mycobacteria

Shozo TAKAHASHI\*

(Received for publication October 23, 1978)

Peculiarity of tuberculosis is a fact that a huge amount of living but invisible tubercle bacilli are contained in caseous lesions. Such a survival form of tubercle bacillus had been suggested by pathologists through their past studies. This survival mode of tubercle bacillus is comparable with the L form of other microbial species. The author intends to review studies on Cell Wall Deficient Forms, including L form, of tubercle bacillus *in vitro*.

In the present paper, it is proposed to classify Cell Wall Deficient Form into two groups, multiplying and non-multiplying, the former being L form and the latter spheroplast or protoplast. Spheroplast and protoplast were produced by application of lysozyme or bacteriophage on the classical form of Mycobacteria. A strain of *M. smegmatis* converted nearly completely into its spheroplast in the modified Trypto-Soy broth containing suitable inducers, and its metabolizing activity was confirmed.

Various kinds of media had been employed for producing the L form of tubercle bacillus. The author observed the appearance of L form of Mycobacteria from several species employing modified Trypto-Soy Agar medium: 3A and 3B type colonies of *M. smegmatis*, 3A type colonies of *M. tuberculosis* and 3A type colonies of *M. avium* were isolated from the classical form of each species. The 3A colony of the L form consisted of spherules sized from 100 nm to 30  $\mu$ m without any special structure of Mycobacteria under electron microscope, while the 3B type colonies consisted of spherules containing the inside structures resembling to those of classical form of Mycobacteria.

The above described findings suggested an easy reappearance of classical form of Mycobacteria from 3B colonies and rather retard reversion of Mycobacteria from 3A colonies. The L form seems to be a form for the survival of Mycobacteria *in vivo* to continue endless multiplication with minimal metabolizing activity, thus avoiding from the immunological activities of the host.

\* From the Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3-1 Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 180-04 Japan.

病原細菌の細胞壁欠損型 Cell Wall Deficient Form (CWDF と略) と、それによる感染症の問題が論じられてきたのはこの15年ほどである。しかし、結核菌については、古くから非抗酸性、非桿菌型の生存様式があるといわれており、特に病理学者がその存在を主張してきた。例えば、Hauduroy ら<sup>1)</sup>は結核菌の濾過型について論じているし、いわゆる Much 顆粒の生物学的意義の考察<sup>2)3)</sup>もあり、隈部<sup>4)</sup>は乾酪巣内の生存様式にグラム陰性顆粒型があることを述べている。しかし、そのような形で増殖するとか代謝するといったことではなく、保存型と考えられていたようである。一方、ツベルクリン反応の陽転に、生きて代謝する菌が必要であることは、経験的に知られていた。病理組織学的にみられる乾酪巣内の顆粒が、いわゆる Much の顆粒に近縁のものであらうと考えられてきたのは、形態が似ていることによるが、結核菌の CWDF であらうという推定は、乾酪巣の中で、結核菌が増殖している必然性があると考えられることに基づいている。第1に、乾酪巣の融解時に出現する結核菌の量は、そこにほそぼそと生き残っている菌から増殖したものとはとても考えられない量であるし、ツベルクリン反応性の持続から考えても、乾酪巣で結核菌の代謝がなければならぬと考えられる。乾酪巣内の結核菌は、高蛋白質濃度下で嫌氣的に増殖しているであらうし、親株とは全く違った性状を示しており、抗酸性のない顆粒形となつていると考えられる。これは、他の菌の CWDF に相当する世代である。抗酸菌に限らず、細菌は細胞壁をもつており、それによつて、各菌種に固有の

形態を示している。細胞壁は更に、環境の影響から菌細胞の生存をまもり、病原性を維持している。細胞分裂による増殖も、細胞壁に依存している。同時に、細菌感染において産生される抗体は、主として細胞壁成分に対してつくられるので、細胞壁のない CWDF は、免疫された宿主の中で、比較的障害をうけないで生存しうる<sup>5)</sup>。なかでも L 型は、親株とは薬剤感受性が異なることが多く<sup>6)</sup>、極めて小さいので代謝速度も遅く、変異を起こさない最小生存単位として増殖している<sup>5)</sup>。CWDF は、正常な菌の増殖に不適当な環境における生命維持の手段であると考えられる。結核菌の CWDF は、結核菌の、まだ明らかにされていないもう一つの生存様式であり、これを解明することは、乾酪巣内の結核菌の生態を明らかにするために不可欠であると考えられる。

### 1. L相の定義<sup>5)7)</sup>

CWDF 生存様式に、種々の名称が用いられてきており、これが CWDF の討論、研究に混乱を来す大きな原因の一つになつている。CWDF に相当する表現として、L相または L 型、プロトプラスト、スフェロプラストといった言葉が用いられているが、多くの論文では、その著者がその言葉を定義してから、記述をすすめている。

本来、親株 Classical Form は細胞壁を有し、分裂で増殖する。この菌を、ある種の発育阻害要因を含む環境におくと、細胞壁を失つた状態が生ずる。この要因となる物質を誘導剤 Inducer といい、生じた CWDF は、通常安定剤 Stabilizer で滲透圧を高めた培地におかない

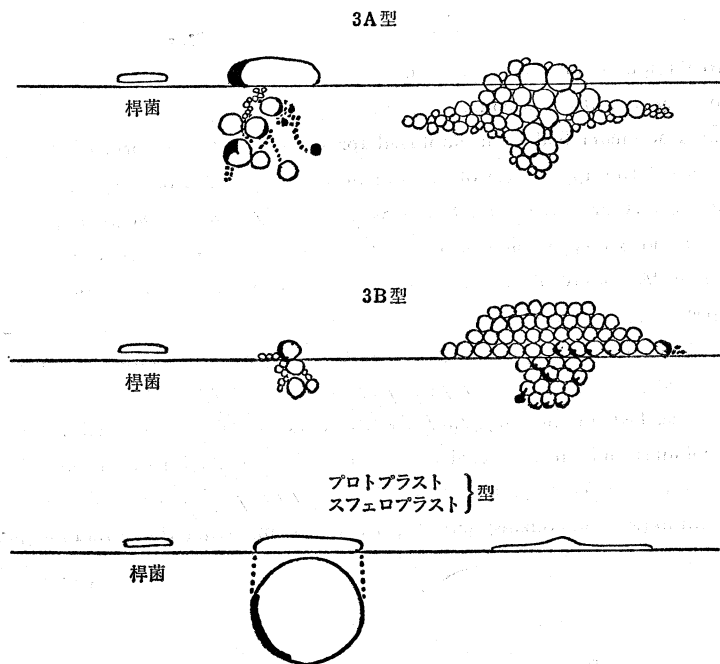


図1 抗酸菌のCWDF

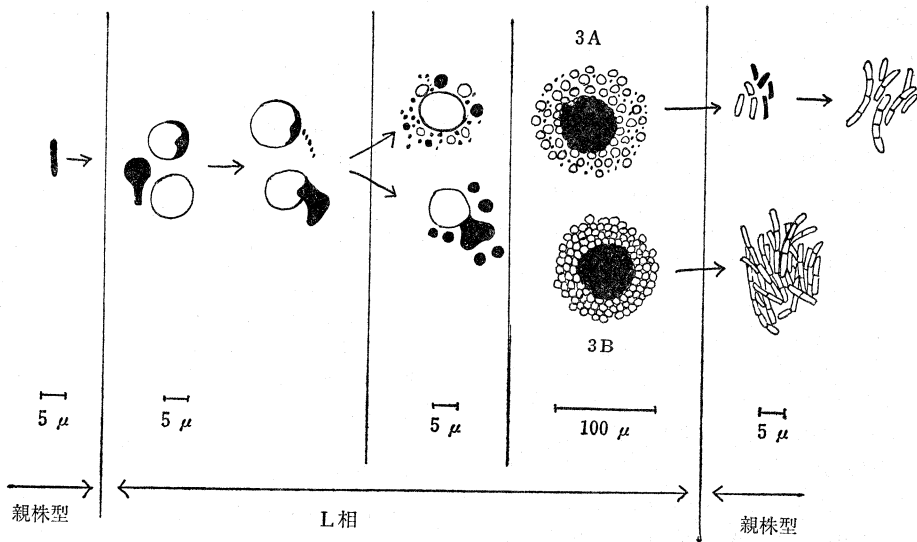


図2 L相を含む抗酸菌の生活環

と、破裂し、溶菌する。細胞壁がないため、形は球形ないし不整形油滴状であり、大きさは親株にかかわらず、 $5\sim 30\mu$  に及ぶ。

その中で、プロトプラスト<sup>8)</sup>はファージ、酵素等により、細胞壁構成成分が完全に除かれたものであり、ファージレセプターのなくなつたものである。もとの菌の増殖時期と関係のないことは、細胞壁の成分が溶解されることによつて生ずることを考え合わせれば明らかである。リゾチームと EDTA、プロテイナーゼ、抗菌抗体と補体、ファージ等によつて生ずる。このもの自体に増殖の概念はない。しかし適当な培地に移すと L 相の増殖を始めることがある。

一見同じような形態を示すが、スフェロプラストは、増殖初期の大腸菌を、高濃度のペニシリンに接触させ、細胞壁の合成を阻害しながら生育させたときに生じた球状体に対してははじめに与えられた名称であつて、液体培地中で生ずる。細胞壁の一部が残っていることが予想されるもので、高浸透圧下で保存すると、小さい顆粒の放出のみられることもあるが、それが増殖することはない。固形培地に移植すると、不整形油滴状となり、それが適当な培地であれば、L 相の増殖を始めることがある。

L 型<sup>9)</sup>は L 相の増殖をしている菌であり、プロトプラスト、スフェロプラストと同じような大型不整形油滴状ないし球状の細胞よりなり、集落をつくる CWDF である。特徴ある目玉やき状の集落を、菌種にかかわらずつくつて増殖することで定義され、しかも適当な条件下で親株にもどることで、もとの菌種と同定される。L 型は固形の寒天培地に親株の対数増殖期のはじめの菌を接種し、最小発育阻止濃度よりやや低い濃度の抗菌剤(細胞壁合成阻害剤)と接触させたときに生ずるもので、

ある菌種はマグネシウムイオンの特定濃度幅の存在を必要とすることがある。プロトプラスト、スフェロプラストに類似する大型球状体 Large body が生ずるがやや小さく、そこから小さい顆粒が流れ出るのがみられ、寒天ゲルを細胞壁の代わりに保護装置として用いているようにみえる。小顆粒はやがて大型球状体となり、増殖のサイクルが完成し、徐々に増殖して集落をつくる。すなわち、L 型には増殖するという概念があり、生命維持の基本単位となる小顆粒の大きさは、 $100\text{ m}\mu$  以下であり、無限に増殖するので L 相発育とも呼ばれる。親にもどらなくなつたものを、L variant (L 変異株) または安定な L 相<sup>9)</sup>ということもある。

Dienes<sup>9)</sup>は細菌の L 相集落を 2 種に分け、3A、3B と命名した。3B は比較的高濃度のペニシリンの存在下でも生じ、血清のないときも生成するし、集落は比較的大きく、集落を構成する Large body の大きさはほぼ同様であるが、継代できず、親株に容易に復帰する。3A は、最小発育阻止濃度付近のペニシリン化合物等の存在によつて生じ、定型的な目玉やき状の集落をつくるが、発育はやや遅く、継代は可能であるが、親株にゆつくりと復帰する。抗酸菌についても著者は、3A、3B の集落をみているが、両者の差は復帰の速さのみのように思われる。形態学的特徴について図 2 に示した。

## 2. 抗酸菌のスフェロプラストおよびプロトプラスト

Millman<sup>10)</sup>はバクテリオファージを凍結乾燥によつて濃縮し、それを  $H_{37}Rv$  の菌液にかけ、桿菌が次第にふくれて棍棒状、次いで球状となり、溶菌するのをみて、プロトプラストであると述べた。Gandier<sup>11)</sup>は BCG に

ファージを作用させ、スフェロプラスト化をみたが、抗酸性であり、グラム陽性だつたと記載しているのに、不完全なものであつたと思われる。Thacore<sup>12)</sup>らは白糖 0.34M を加えた Tween Albumin 培地に、リゾチームと EDTA を加え、H<sub>37</sub>Ra の若い培養を接種してスフェロプラストの生成をみた。このものは、MgSO<sub>4</sub> にして 1.1μg/ml のマグネシウムイオンのあるとき最も安定で、0.07μg/ml で不安定、1.6μg/ml で生成阻害がみられた。球状のスフェロプラストと、そこから流出する小顆粒が認められたが増殖はみられなかつた。しかし固型培地に接種すると、L相発育を示して集落をつくつたという<sup>13)</sup>。組織培養においてはスフェロプラスト化がみられた<sup>14)</sup>。Sato<sup>15)</sup>は1966年に、BCG 数株を用い、1.5%グリシン、100μg/ml のリゾチームによつて、約20%がスフェロプラスト化したと述べ、基本培地として Dubos 培地に Sutherland-Wilkinson 培地(自然培地と思われる)を等量に加えたものがよかつたと述べている。Sato<sup>16)</sup>は *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607 (M. 607)を用い、同様の手法により、スフェロプラスト生成を観察したが、100%にそれを得ることはできなかつた。この方法で得られたものは、ファージを吸着するので、プロトプラストとは異なるものであろう。藪、高橋<sup>17)</sup>はトリプトソイ液体培地の変法を用い、DL-メチオニン、リゾチームを加えて、M. 607 のスフェロプラストを得て、更にリゾチーム感性株を選択し、この培地を用いて、ほぼ完全にスフェロプラスト化させ、これが代謝していることを証明した。また D-スレオニンによりスフェロプラスト化したものは、安定剤として、滲透圧を高める白糖を要求しなかつた<sup>18)</sup>。いずれの場合も、増殖は桿菌を介して行なわれる以外には認められていない。

### 3. L相発育の条件

L<sub>1</sub> の発見以後、特に Pierce<sup>19)</sup> がペニシリン処理でL相発育を得る方法を得て以来、多くの菌種についてL型集落を観察されてきた。むしろこの過程で、L型集落の発生する条件、性状が、次第に明らかにされてきたともいえる。これらの記載にみられるL型集落の特徴<sup>20)</sup>は、抗酸菌についても当てはまる。

菌種にかかわらず、グラム陰性多形態性で、滲透圧の高い、馬血清または牛血清アルブミン、時に血液を含む寒天培地に接種するとき、主として 5~30μ 径の大きな球状体よりなる集落をつくる。集落は寒天の表面下に発育し、その中心はやや褐色をおび、次第に大きくなり、0.1 mm 内外にも達する。親の菌株よりも、より嫌気的な条件で発育するが、親と異なり、endless に発育を続け、集落周辺にフレイヤーを形成し、レース状にみえることがあるが、肉眼的には集落中心が、親株集落よりも不

Table. TSA-L Agar Medium

Component A.	
Trypton, Difco.	3 g
Phyton, BBL.	1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
NaCl	1 g
Cystine	0.02 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	0.02 g
Aq. dest.	to 100 ml
Charcoal, activated	1 g
Horse Red Cell Pack	6 g

The above mixture is filter cleared after boiled.

Then add:

DL-Methionine 0.2 g

Adjust the pH 7.8. Sterilize by autoclaving.

#### Component B.

Sucrose	50 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.5 g
Agar, purified	2.5 g
Aq. dest.	to 200 ml

Sterilize by autoclaving

#### Component C.

Horse serum, sterilized 35 ml

To make TSA-L Agar medium, the above components are mixed at 45°C to be distributed into Petri Dishes.

透明である。集落の大きさは小さく、通常弱拡大の顕微鏡によらなければ確認できない。L相の菌は細胞壁がないため、寒天ゲルを細胞壁のようにしており、機械的な刺激、例えば白金耳でふれるとか、培地をねじることでこわれる。発育のための条件は、親株よりもやや複雑である。まずL型集落生成の条件について、述べることにする。

#### 〔培地〕

一般に、寒天培地を分離に用いる。適当な培地をつくるのが必須であり、著者ら<sup>21)</sup>は表にかかげたトリプトソイ培地の変法が、最も適当であると考えている。この培地に、分離後間もない肺炎球菌を接種し、10単位のペニシリンディスクをおくと、発育阻止帯付近にL型集落が生ずることが規格である。

その他、ブレインハートインフュージョン寒天に、食塩 5%、馬血清10%を加えたもの、Medil and O'Kane 培地<sup>22)</sup>、キルヒナー寒天<sup>23)</sup>に蔗糖 0.35M~0.5M を加え、寒天培地としたものなどが用いられているが、定型的な集落の発表されているものは殆んどない。また培地によつて、発育に著しい差がみられる。

#### 〔Inducer〕

多くの菌種は、多かれ少なかれペニシリン化合物に対

して感受性を示すので、1~100 MIC (最小発育阻止濃度の1~100倍) またはそれよりも少し低い濃度に培地に加えて inducer とすることが多い。肺炎球菌<sup>24)</sup>のある株は、0.016 単位/ml で親の発育のみ、0.018 単位で L 型、0.02 単位/ml で何も発育しなかつたという。結核菌の場合は、菌体内に  $\beta$ -ラクタマーゼをもっているので<sup>25)</sup>、ペニシリン耐阻害剤をペニシリン G 等と併用する必要がある。抗結核剤の中では、サイクロセリンが inducer として適当であり、100~200  $\mu$ g/ml 程度に加えるとよいといわれている。

リゾチーム<sup>12)16)</sup>も inducer として用いうるが、H<sub>37</sub>Ra および弱毒病原菌株の場合に有用である。著者らは DL-メチオニン<sup>21)</sup>が、補助的な inducer として有用であることを認めている。

#### [培養]

L 型を得ようとする場合、一般に、分離後数代までの菌株の、対数増殖期のはじめの菌を用いることがおすすめられる<sup>7)</sup>。多くの菌種で 2~4 時間培養が適当であるが、抗酸菌は *M. 607* などの rapid grower についても、人型菌についても、48 時間培養<sup>21)</sup>が最も適当であつた。スフェロプラストを得ようとする場合は、*M. 607* について、2~4 時間培養が用いられている場合もあるが<sup>26)</sup>、この場合も、高収率に得ようとする場合は、48 時間培養が至適である<sup>17)</sup>。培養時期は重要で、この時期以外のものを用いて定型的な L 型集落が発表されているものはないようである。

5 日培養になると、BCG 等でスフェロプラストは生ずるが、L 相発育はみられなくなる<sup>15)</sup>といい、14 日以後の培養からは、嫌気的条件下で顆粒の集団のような発育がみられている<sup>22)</sup>のみで、定型的でなくなる。しかも親への復帰は速やかであり、真の L 相かどうかは疑問であり、著者は L 型様発育<sup>21)28)</sup>といっている。

このように、接種菌の培養時期は、最も重要な因子となるようである。この時期の結核菌は、チール・ネルゼン法で青染し、Kinyoun 法で淡赤色でやや大きい桿菌として認められ、5 日以後には抗酸菌が増し、Kinyoun 法では通常の抗酸菌のみとなる。

#### 4. L 相発育の所見

Mattman ら<sup>22)</sup>は培地表面ないし表面直下に顆粒集団ないしスフェロプラスト状の細胞の出現をみ、しかも 2~3 日の培養でみられたとしているが、定型的な集落を得ていないようである。Ratnum<sup>23)</sup>はキルヒナー培地に蔗糖、サイクロセリンを加え、硫酸マグネシウム 1.1 mg/ml とした寒天培地で集落を得たというが、詳細な報告も写真も発表していない。筆者は、前記した表の培地を用いて実験を行なつているので、その結果に基づいて記載することにする。

#### i) 抗酸菌の L 相への移行

リゾチーム、ペニシリン化合物を inducer として、表の培地に *Mycobacterium 607* を接種すると Large body の生成がみられ、それが増殖して集落をつくる。得られた B 集落を inducer のない培地にうつすと、親株に復帰する。この過程を微速度シネで観察すると、桿菌の一端からあるとき急速に球状体となり、復帰のときには 3B の Large body から、抗酸菌の集団が出現する<sup>27)</sup>。人型菌黒野株を用いた実験で、L 型集落の生成を観察すると、他の多くの菌種の場合と同様のパターンで発育するのがみられ、抗酸菌の L 型も、他の菌とそれほどの差はなかつた。

人型菌黒野株、*M. avium* Flamingo 株、*M. 607* を、Tween アルブミン液体培地に接種し、48 時間培養を得て、その 1 滴を TSA-L 培地 (表) 平板にひろげ、サイクロセリン 2.5~5 mg を含むパルプディスクまたは MCI-Pc 10 mg を含むパルプディスクをおき、37°C 2~8 週間培養する。同時に、肺炎球菌分離株の 2 時間培養を、別のペニシリンを含まない TSA-L 培地に接種し、10 単位のペニシリンディスクをおき、L 型集落の出現を指標に、培地のチェックを行なうことがある<sup>21)</sup>。

接種した平板は、3~5%炭酸ガス気中で培養する。48 時間ないし 7 日後に、抗酸菌より 10~30  $\mu$  の大型球形細胞の生成が認められ、はじめ接種菌量の 5%以下であるが、次第に増加して、2~4 週間後には、桿菌は少数認められるのみとなる。4~6 週間までに、発育阻止帯は明らかになるが、*M. 607* で小さく、人型菌黒野株では大きい。L 相集落は、阻止帯の内側に散在して認められる。

プラスチックの小さいシャーレを用い、嫌気的条件下で上記の培養を行なうと、人型菌分離株は、顆粒集団として発育する。これは増殖が認められるので L 型様発育<sup>28)</sup>としたが、Dienes 液によつて染色され、L 相 3B に類似のものと考えられる。この発育型は、空気にさらすと、3 日以内に大量の結核菌に化成し、抗酸菌への復帰が極めて速やかである。

Mattman ら<sup>22)</sup>のみたものは、これであろう。

生じた集落は、多くの場合 3A 型である。馬血清の代わりに牛アルブミン液を用いると、*M. 607* では 3B の集落が得られ、人型菌では発育がみられないことが多い (図 1)。

#### ii) L 型から親株への復帰

3A 型の集落を有する培地部分をきり出し、そのまま小川培地にのせると、S 型集落を経由して、R 型の親株に復帰するのがみられた。3B 型集落の場合は、上記の条件下で急速に、48 時間以内に抗酸菌の出現がみられ、次第に R 型の親株集落に移行する (図 1)。

#### iii) 各菌株の L 型集落

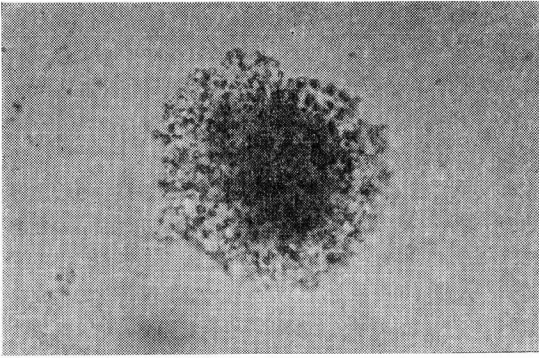


写真1 *M.607* の3A型L相集落。  
TSA-L 培地 4週培養, Dienes 染色後,  
DLL40×対物, 10×接眼で位相差鏡検  
(1,200倍)。

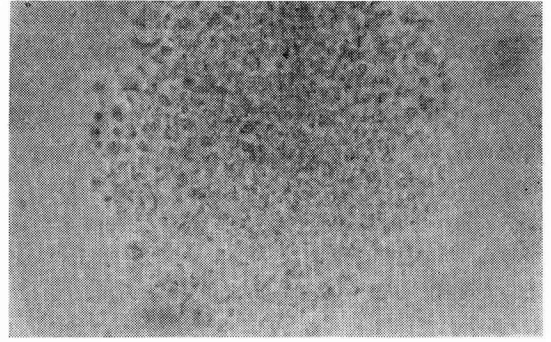


写真2 *M.607* の3B型集落。  
TSA-L 培地 (牛血清アルブミン加) 4週  
培養, DLL40×対物, 10×で位相差鏡検。

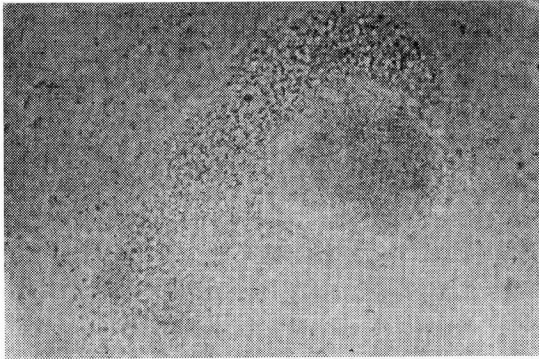


写真3 *M. avium* Flamingo 株の3A型集落。  
DLL10×対物, 10×接眼で位相差鏡検の所見である。  
集落週辺部の一部にフレイヤーを残している。  
他は鏡検時にこわれたものと思われる。

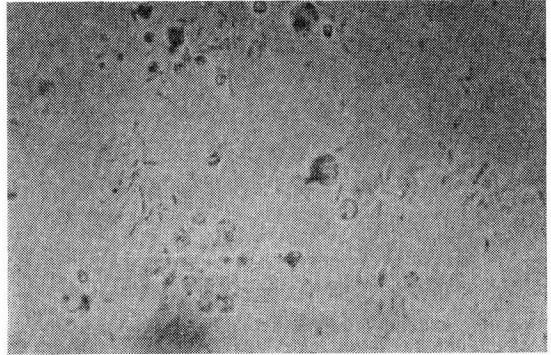


写真4 人型菌黒野株の Large body。  
黒野株48時間培養を TSA-L 培地に接種後5日目の  
培養を Dienes 液で染め, DLL100×油浸を用いて  
位相差鏡検を行なった所見である。  
中央近くの Large body が, 左下方に突出している  
のは, 小顆粒の流出の像である。

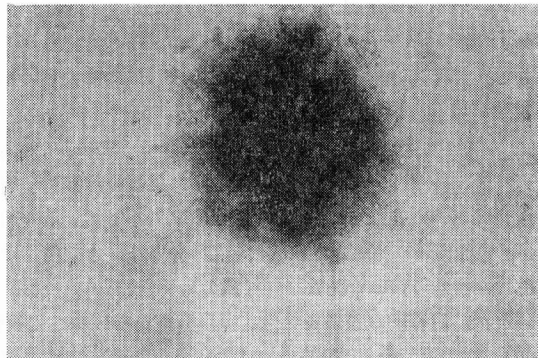
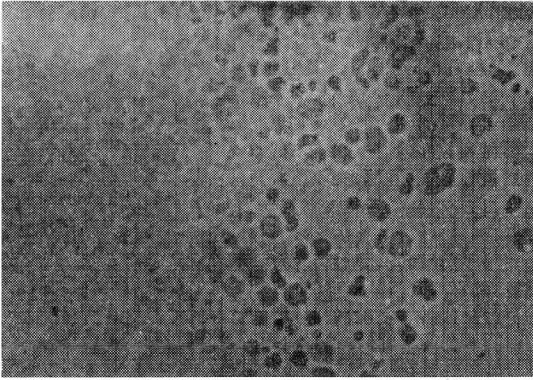
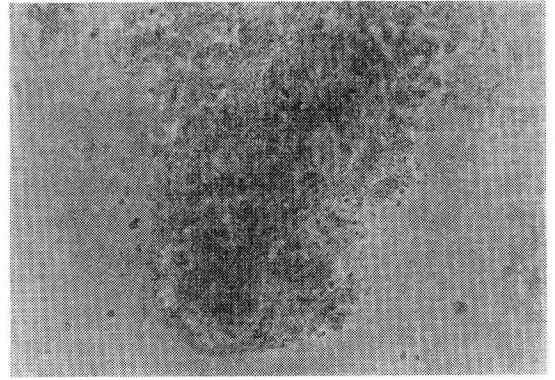


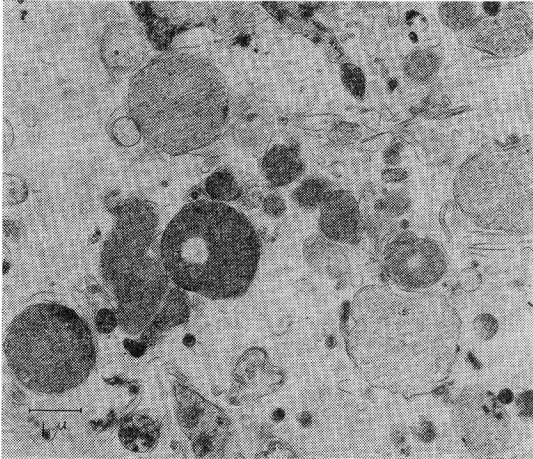
写真5 人型菌黒野株の3A型集落。  
TSA-L 培地 4週培養の集落を, Dienes 液で染め,  
DLL10×, 接眼 10× で観察したものである。周辺  
に分枝するように, 娘集落が生じ *M.607*, *M. avium*  
Flamingo 株とは異なつた集落形を示している。



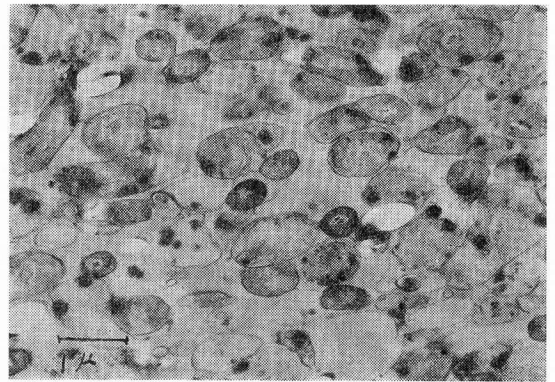
**写真 6** 人型菌黒野株の3A型集落。  
写真5の集落周辺を、DLL100×油浸、接眼10×で観察したものである。左下が集落の中心部に近く、培地表面近くのLarge bodyよりなるフレヤーの部分であり、大小不同、不整形の細胞からなっている。



**写真 7** 人型菌黒野株のL相集落。  
TSA-L培地に接種後、嫌氣的に培養し、約4週後の発育であり、培地表面にピントを合わせたときの所見である。DLL10×、接眼10×で観察。大小さまざまな球状体よりなり、3B集落に近い。集落の形は不整形である。



**写真 8** 人型菌黒野株の3A集落。  
集落の超薄切片をウラン、鉛で染めて電子顕微鏡でみたものである。大小さまざまな、ほぼ均等な密度をもつた顆粒の集合である。(JEM-100Bで撮影)



**写真 9** *M. 607* の3B型集落。  
集落の超薄切片をウラン、鉛で染めて電子顕微鏡で観察したものである。密度は一樣でなく、抗酸菌の内部構造が、種々の程度に認められる。(JEM-100Bで撮影)

*M. 607* の集落は、3A型のとき肺炎球菌のそれによく似ており、フレヤーが短く、3B型集落は、必ずしも円型でない(写真1, 2)。それに対して *M. avium* の集落は、比較的にわれやすいフレヤーを有し、inducerとしてサイクロセリンを必要とした。人型菌では、娘集落が3A型集落周辺に生ずるのがみられた(写真5)。3A型の人型菌L型集落からの復帰は、S型集落を経由する。すなわち *in vitro* での復帰は簡単でない。それに対し、*M. 607* の3Bからの復帰は速やかで、親株に容易にもどる。電顕的に、両者の集落を観察すると、3A型は完全な球型であり、大小さまざまな球状体の集合であった。それに対して *M. 607* の3B型集落は、細胞壁のない菌体の集合である。すなわち3B型集落からの復帰が

速やかなのは、内部の構造が、かなり親の菌に似ているためであり、3A型集落では、親の菌と類似の部分が全くないことによるものであろう。顆粒型は、むしろ大型球状体の小さい3B型に近く、菌は多形態性を示し、桿菌のLarge bodyへの移行像もみられるが、菌体内部構造がかなり残っているのがみられる。これが、顆粒型から抗酸菌が容易に生ずる原因であろう。3A型および顆粒型をみると、小さい顆粒すなわち最小単位は100 m $\mu$ 以下であり、細菌濾過器を通過する大きさである。適当な条件下では、濾過型も存在しうることが推定される。

##### 5. 抗酸菌のL相発育の生物学的意義

抗酸菌のL相は、他の菌種のL相によく似ており、そ

の生存単位はウイルスのように小さく、増殖する。また親株にもどつたとき、抗酸菌として特徴のある形態を示し、菌力も示すであろうが、L相の特性として、L相の時期に抗菌剤に対する耐性の変動はみられない。いうならば、ある種の不適当な環境において生存するための最小単位であろう。このとき、いわゆる抗結核剤、抗体の作用もうけにくく、病原性も示すことはないが、代謝し、その代謝産物によつて、生体（宿主）に影響を与えるのみであろう。

#### 参 考 文 献

- 1) Hauduroy, P. and Vaudremer, A.: C. R. Soc. Biol., 89 : 1276, 1968.
- 2) Kahn, M. C. and Torrey, J. C.: Am. Rev. Tuberc., 18 : 815, 1928.
- 3) Sweany, H. C.: Am. Rev. Tuberc., 18 : 630, 1928.
- 4) 隈部英雄：人体内における結核菌の生態, 1949.
- 5) Dienes, L. and Weinberger, H. J.: Bact. Rev., 15 : 245, 1951.
- 6) Feingold, D. S.: New Engl. J. Med., 281 : 1159, 1969.
- 7) Klieneberger-Nobel, E.: The Bacteria. I., Academic Press, New York, p. 361, 1960.
- 8) McQuillen, K.: Ibid, p. 249, 1960.
- 9) McGee, Z. A. and Wittler, R. G.: The Mycoplasmatales and the L-phase of Bacteria, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, p. 645, 1969.
- 10) Millman, I.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 99 : 216, 1958.
- 11) Gaudier, B., Roos, P. and Ballester, L.: Ann. Inst. Pasteur-Lille, 22 : 75, 1969.
- 12) Thacore, H. and Willett, H. P.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 114 : 43, 1963.
- 13) Willett, H. P. and Thacore, H.: Canad. J. Microbiol., 12 : 11, 1966.
- 14) Thacore, H. and Willett, H. P.: Am. Rev. Tuberc., 93 : 786, 1966.
- 15) Sato, H., Diena, B. B. and Greenberg, L.: Canad. J. Microbiol., 12 : 255, 1966.
- 16) Sato, H., Diena, B. B. and Greenberg, L.: Canad. J. Microbiol., 11 : 807, 1965.
- 17) Yabu, K. and Takahashi, S.: J. Bact., 129 : 1628, 1977.
- 18) Yabu, K. and Takahashi, S.: Microbiol. Immunol., 22 : 103, 1978.
- 19) Pierce, C. H.: J. Bact., 43 : 780, 1942.
- 20) Hijmans, W., Van Boven, C. and Clasener, H.: The Mycoplasmatales and the L-phase of Bacteria, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, p. 67, 1969.
- 21) 高橋昭三：医学と生物学, 58 : 16, 1961.
- 22) Mattman, L. H., Tunstall, L. H., Mathews, W. W. and Gordon, D. L.: Am. Rev. Resp. Dis., 82 : 202, 1960.
- 23) Ratnum, S. and Chandrasekhar, S.: Am. Rev. Resp. Dis., 114 : 549, 1976.
- 24) Madoff, S. and Dienes, L.: J. Bact., 76 : 245, 1958.
- 25) Kasik, J. E.: Antimicrob. Agents & Chemoth., 1964 : 315, 1965.
- 26) 水口康雄・徳永徹：医学と生物学, 76 : 301, 1968.
- 27) 高橋昭三：結核, 51 : 497, 1976.
- 28) 高橋昭三：日細誌, 18 : 302, 1963.