

## 総 説

## 結核感染における宿主脂質

## II. コレステロール

近藤瑩子・金井興美

国立予防衛生研究所結核部・細菌第1部

受付 昭和 55 年 9 月 17 日

## HOST LIPIDS IN TUBERCULOUS INFECTION

## II. Cholesterol

Eiko KONDO\* and Koomi KANAI

(Received for publication September 17, 1980)

The literatures dealing with cholesterol, which are directly or indirectly related to tuberculous infection and immunity, are reviewed and discussed. The main problem is the cholesterol turnover in macrophages, especially esterification of free cholesterol with long-chain fatty acids and hydrolysis of the esters. Since the plasma membrane and the phagosomal membrane are the sites of these biochemical events, phagocytosis and intracellular parasitism in tuberculous infection have ample opportunities to interact with cholesterol and the esters. In relation to this problem, the role of mycobacterial surface lipids and of a nonionic surface active agent Triton WR-1339 in tuberculous infection was discussed.

ステロールは多くの生体膜の主要成分で、哺乳動物の膜ではその大部分はコレステロールとして存在する<sup>1)</sup>。赤血球やミエリン膜のみならず、マクロファージの表面膜そしてライソゾーム膜においても、コレステロールはリン脂質に対して1に近いモル比で存在するので<sup>2)</sup>、この脂質は結核感染においても重要な意味をもちうるであろう。

また一方、コレステロールとそのエステル型は血清リポ蛋白に包含され、赤血球膜中のコレステロールとは相互交換のあることが以前より知られていたが<sup>3)</sup>、最近ではこの現象がマクロファージやリンパ球の膜についても示されている<sup>4)5)</sup>。医学におけるコレステロール代謝の研究は、動脈硬化、アテローム変性を中心課題として発展してきたが、本総説第2部では、結核感染における宿主寄生体関係を細胞レベルでみた場合のコレステロールの意義について概観する。

ちなみにコレステロール投与の結核感染への影響といった仕事は、歴史的なものではあるが、1928年のShopeの報告<sup>6)</sup>、1962年のCostelloらの報告<sup>7)</sup>にその実験例をみることができる。臨床的には患者への鮫肝油の投与経験から出発して、それより分離した油状の不飽和炭化水素 squalene (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>) が注目されたが、これはコレステロールの前駆体にほかならない。実際にはこのものの異性体で生体組織に対する還元力の強い squalin が結核治療予防に試みられたと報告されている<sup>8)</sup>。現在、アジュバント関節炎等の発症実験にあたって、squalane がアジュバントの vehicle としてしばしば用いられる<sup>9)</sup>が、これも関連物質であるので付記しておく。

## 1) マクロファージにおけるコレステロールの動態

マクロファージは遊離コレステロールに富み、蛋白 mg 当り 12 $\mu$ g の割合で存在し、*in vitro* で1~72時間

\* From Department of Tuberculosis, National Institute of Health, 10-35, 2-chome, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

培養してもその比率は維持される。総コレステロールの95%は細胞膜に分布し、特に80~100Åの厚さをもつ表面膜や食胞膜にはコレステロール含量が高い。一方、40~70Åのうすい膜をもつ endoplasmic reticulum, ミトコンドリア, 核膜などにはコレステロール量は低い<sup>4)</sup>10)。

マクロファージにおいてはコレステロールエステラーゼ活性が強く、血清リポ蛋白とともに食胞中に取り込んだエステル型を直ちに分解して遊離型とし、これを自己の膜の中に組み込むので、一般にはエステル型は殆んど検出されない<sup>4)</sup>。血清リポ蛋白に含まれているコレステロールのマクロファージ膜への移行については、細胞内に2つの区画がある。その1つは細胞質膜内にあり、交換は速やかに、そしてもう1つはライソゾーム膜でこちらはゆつくりと行なわれる<sup>11)</sup>。

マウス腹腔マクロファージにおけるコレステロールエステラーゼ活性の至適 pH は、基質によつて多少異なるが、4.0 あるいは 5.5 であつて、ライソゾームに存在する。分解にあつては基質の脂肪酸組成が影響し、リノレートの方がパルミテートに比べてより速やかである<sup>12)</sup>。正常マクロファージと異なり、カゼイン等で刺激誘発したマクロファージはエステル型をかなり含んでいる<sup>13)</sup>。これはマクロファージ自体におけるエステル化酵素の存在を示唆しており、実際、Tume と Day によつて、家兎の腹腔由来あるいは肺由来のマクロファージにおいて、コレステロールをエステル化する酵素活性が報告されている<sup>14)</sup>15)。この酵素活性発現には、ATP あるいは

CoASH を必要とせず、遊離の脂肪酸が直接にアシル化されるという。至適 pH は肺由来のマクロファージで 4.5、腹腔由来のもので 6.3 であつた。

## 2) 結核菌感染マクロファージにおけるコレステロールの動態 (図1)

上述のように、食胞においてコレステロールとそのエステル型との間の転換を行なっているマクロファージが、同じく食胞を場として細胞内に寄生する結核菌の感染を受けたときには、何らかの相互干渉がありうるように推定される。

私たちは感染マウス肺ホモジネイトから機械的操作で集めたいわゆる“*in vivo*”菌について脂質分析を試み、宿主細胞由来のエステル型コレステロールが高濃度に存在することを見出した<sup>16)</sup>17)。このエステル型コレステロールには多価不飽和脂肪酸が多量に含まれており、菌周辺の組織環境あるいは細胞内環境において、コレステロールエステルの増量されることが推定された<sup>17)</sup>18)。事実、感染マウス肺では細胞が集積し、病巣がすすむにつれて一般にすべての脂質量が増加するが、主成分であるリン脂質、コレステロール、トリグリセライド、コレステロールエステル等の総脂質中の百分率をみると、エステル型コレステロールのみが特異的に増加することが実験的に確認された<sup>19)</sup>。しかも、そうした肉芽病巣肺から硝子親和性細胞を集めて分析することにより、エステル型増量の場合、菌を取り込んだ肺胞マクロファージである可

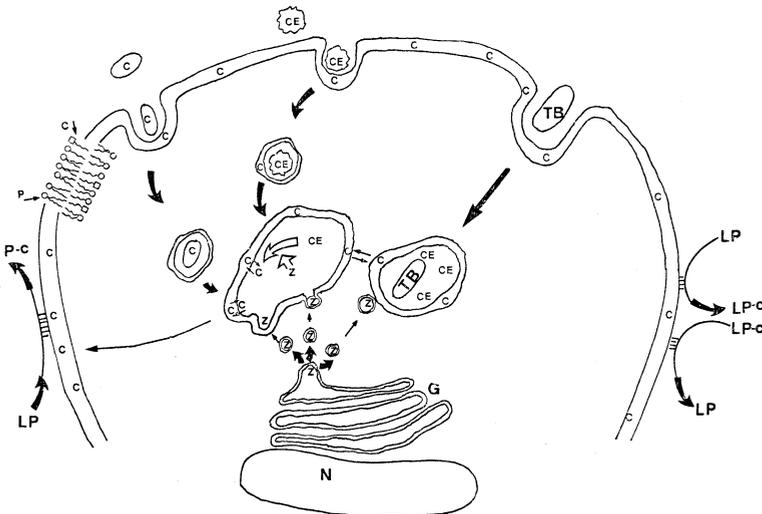


図1 マクロファージにおけるコレステロールとそのエステルの動態、結核菌感染との関係 (Werb と Cohn<sup>12)</sup> の原図の修飾)

C: コレステロール, CE: コレステロールエステル, P: リン脂質, Z: コレステロールエステラーゼ, LP: 血清リポ蛋白, TB: 結核菌, N: 核, G: ゴルジ器官  
血清リポ蛋白中のコレステロールと膜脂質二重層のそれとの相互交換による調節作用を示す。エステル型は食胞中においてライソゾーム由来のエステラーゼによつて分解されたのち食胞膜に組み込まれる。結核菌の内在する食胞においてはライソゾームの融合が阻害され、エステル型の蓄積される可能性を示す。

能性が強く示唆された。更に感染組織のコレステロールエステル中の脂肪酸組成は、感染の進展に伴って不飽和脂肪酸の増加が認められ、その現象は化学療法によつておさえられた<sup>21)</sup>。エステル型は膜に取り込まれず、エステラーゼ活性の阻害のあるような条件では、食胞内にとどまつて蓄積されるといふ報告は、結核感染マクロファージの場合の説明として興味深い。エステル型の食胞内所在を示唆する論文はいくつかある<sup>22)23)</sup>。著者らもマウスのカゼイン誘出腹腔マクロファージを細胞分画し、それぞれの分画の脂質分析から、コレステロールエステルのみが他の脂質と異なる細胞内分布を示すことをみている<sup>20)24)</sup>。

以上のような感染マクロファージにおけるエステル型増量を *in vitro* のモデルで確認するため、著者らはマウス腹腔マクロファージと結核菌とを混合インキュベイトすることによつて、コレステロールエステルの生成を示すことができた<sup>20)24)</sup>。その機構については明らかではないが、いくつかの条件での成績からみて、生菌の存在下におけるコレステロールのエステル化の促進と、その分解の抑制の双方が関与し、更に菌自体の酵素活性によるエステル化<sup>25)</sup>が付加されるものと説明される。

よく知られているように、コレステロールエステルの増量は、大動脈のアテローム変性においてもみられ、その内膜の脂肪斑に特に多いことが実験的に証明されている<sup>26)</sup>。また、そこに存在するマクロファージ由来の“foam cell” (泡沫細胞) との関係が指摘される<sup>26)27)</sup>。この種の細胞は特定の結核病巣や癩病巣<sup>28)29)</sup>でもみられることがあり、やはり脂質蓄積細胞と考えられている。大動脈壁のマクロファージがアテローム変性組織中のコレステロールの大きな結晶を取り込み<sup>30)</sup>、あるいはこれを融点の低い液状のエステルとして処理し、同時に細胞融合して巨細胞化するなどの観察<sup>31)</sup>も、結核感染と関連して示唆に富んでいる。

Brecher ら<sup>32)</sup> は家兎にコレステロールを多量に与えると、大動脈において、ふつうに飼育した対照と比べてコレステロール量が増し、同時にコレステロールエステラーゼ活性も高くはなるが、他のライソゾーム酵素の上昇率よりかなり低いことを指摘している。

また、上述の脂肪斑にはカルシウムの沈着が起り、その量は周辺組織の10倍にも及ぶことが報告されている<sup>26)</sup>が、このことも結核病巣の石灰化と対応して興味深い。コレステロールのエステル化にあずかるような遊離脂肪酸の動きが、こうした病巣では活発に起り、過剰の脂肪酸によつて体液中のカルシウムが沈殿してくると説明される。

### 3) 抗酸菌のコレステロールに対する親和性ならびに生化学的活性

一般には細菌類にはステロール合成能がないが、細胞壁を欠除しているマイコプラズマの多くはコレステロール要求性をもち、発育環境から大量のコレステロールをその細胞膜中に取り込むことは広く知られている。この場合、コレステロールを人工膜(リポソム)に組み込んだ形で菌に与えても同様である<sup>33)</sup>。要求性のないマイコプラズマの膜はコレステロール吸着性が弱く、また細胞壁をもつ *Micrococcus lysodeikticus*, *Bacillus megaterium*, *Proteus mirabilis* なども、非要求性マイコプラズマと同程度には、与えられたコレステロールをその細胞膜に結合することが報告されている<sup>34)</sup>。

多量の脂質を合成し、疎水性の菌体表層をもつた抗酸菌は、細胞壁においてすらコレステロールと非極性の結

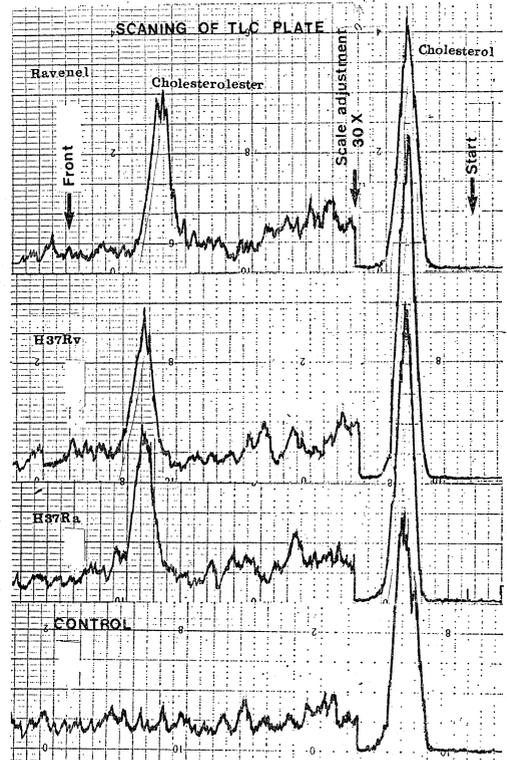


図2 結核菌によるコレステロールのエステル化

反応混液：菌の水浮遊液 (50mg/ml) 0.1ml; 基質ミセル(卵黄レシチン 8mg,  $[7n^1-H]$  コレステロール 50 $\mu$ Ci, pH7.0-0.1M trisバッファ 2ml) 0.1ml; オレイン酸 100 $\mu$ g (50% BSA-ハンクス液 0.1ml); pH 7.2-0.1M-クエン酸-リン酸バッファ 0.1ml。反応時間：37°C, 20時間。脂質分析：クロロホルム-メタノール (2:1) 抽出, 薄層クロマトグラフィー (ヘプタン-エーテル-酢酸 90:10:1)。

反応混液中の結核菌の存在により、基質ミセル中のコレステロールは脂肪酸エステルとなる。強毒菌、弱毒菌いずれにもエステル化酵素が存在する。菌の添加なしの対照ではコレステロールエステルのピークはみられない。

合を示しうると考えられ、事実、Youngner ら<sup>35)</sup>、そして著者ら<sup>16)17)</sup>は感染マウス肺の乳剤から機械的操作で収獲精製した結核菌が、コレステロールとそのエステルを多量に保持することを認めた。特にエステル型と遊離型のモル比は菌の精製度がすすむにつれて高まり<sup>17)</sup>、しかも他の宿主脂質の大部分が有機溶媒によつて除かれたのちも菌体に残る<sup>16)</sup>。このことはエステル型コレステロールが特に菌体と親和性が強く、時には菌体内に取り込まれている可能性すら示唆している。電顕的にこの *in vivo* 生育菌と、菌を取り込んでいる食細胞内には大きな脂肪滴がみられ<sup>36)</sup>、これとエステル型コレステロールとの関連があるのかもしれない。これを裏付ける仕事として、人工膜にエステル型コレステロールを組み込ませて、R型のネズミチフス菌と接触せしめると、エステル型は菌体外膜から内膜にまで到達することが報告されている<sup>37)</sup>。

結核感染においては、コレステロールの脂肪酸エステルが宿主自体で生合成されたのち、菌体に吸着し取り込まれるか、あるいは菌体に吸着したコレステロールが菌によつてエステル化されるかの2つの可能性があらう。実験的にはコレステロールを脂肪酸でエステル化する活性は、BCG や *M. phlei* で証明されている<sup>38)</sup>。私達もレシチンとコレステロールで調製した人工膜と結核菌とを混合インキュベイトし、コレステロールがエステル化されることをみている<sup>25)</sup>。強毒、弱毒いずれの結核菌にもこの活性がみられる(図2)。なお、*M. rubrum*<sup>39)</sup>がコレステロールを分解することが報告されているが、結核菌については不明である。

#### 4) 菌体表層脂質と宿主細胞膜脂質との相互作用

一般に抗酸菌の最外層は糖脂質であることが、電顕所見と菌体分析の両面からの検討で推定されている(Barksdale and Kim, 1977<sup>40)</sup>、Imaeda et al., 1968<sup>41)</sup>)。 *in vivo* においても、食胞内に取り込まれた菌体と、食胞限界膜との間の電子線透過帯が、菌体由来の線維状糖脂質の集合体であることが報告され、そらい菌の場合には型特異糖脂質(マイコサイド)であることが示された<sup>42)</sup>。マイコサイドは集落形態にも関与し<sup>43)</sup>、フェージンセプターと推察されているので<sup>44)45)</sup>、おそらく細胞表層脂質としては最有力候補であらう。人型あるいは牛型結核菌の場合は、フチオセロールジマイコセロセイトが糖を含有していないが、マイコサイドに対応する脂質とみられ、Goren ら<sup>46)</sup>によつて毒力との関係も示唆されている。また、私達は *in vivo* の発育菌にもこの脂質がかなり存在することを見出したので<sup>47)</sup>、感染において何らかの役割を演ずることも否定できないと考えた。このような菌体表層脂質が、宿主食細胞の膜脂質と疎水性の相互作用をもちうるとするならば、それは感染にどのような意

味があるのか? 別項において紹介したように、*in vivo* で増殖した病原抗酸菌には、宿主由来のエステル型コレステロールが極めて密接な状態で存在する。このような所見から私達は *in vitro* で培養した弱毒結核菌 H<sub>37</sub>Ra の菌体を、有毒菌由来のフチオセロールジマイコセロセイトとコレステロールエステルとの混合物でコートして感染に用いた。その結果、処理をうけない菌に比して、*in vivo* での生残力および増殖性の高まることを証明した<sup>48)</sup>。これは1つのモデル実験にすぎないが、こうした意味で脂質を介しての宿主寄生体関係も考えられる。同じく菌体表層脂質の可能性をもち、毒力との関係も示唆されている酸性脂質スルフォリピドも、食胞膜への作用を介してライソゾームの融合阻止に働くことが報告されている<sup>49)</sup>。実験技術上の制約の多い研究分野であるが、結核感染における重要な一局面とみなされている。

#### 5) 非イオン性表面活性剤 Triton WR-1339 (polyoxyethylene ethers) 投与におけるコレステロール代謝と結核感染抵抗性

1951年の Cornforth らの報告<sup>50)</sup>以来、非イオン性表面活性剤 Triton WR-1339 が結核感染に対して抵抗性を与えることが知られている<sup>51)52)</sup>。この現象にからんで Triton 注射後における宿主脂質代謝の変調が注目され、マウス、モルモット、家兎において、リン脂質、中性脂肪、全脂肪酸量、特にコレステロールの血清値の顕著な上昇が報告された<sup>51)53)54)</sup>。しかし、その高脂質血清自体にも、Triton WR-1339 にも *in vitro* での抗結核菌力はなく<sup>51)</sup>、また、感染防御効果と血清脂質量との間に平行関係はなかつた。感染防御効果の発現のためには、過脂質血症を起こすに要する量よりもはるかに低い量の Triton WR-1339 で足りる。

この表面活性剤による脂質合成の促進<sup>55)</sup>、リポ蛋白質リパーゼに対する活性阻害<sup>56)57)</sup>、あるいは肝から血中へのコレステロールの放出促進<sup>55)58)</sup>、交換障害などが作用機序として報告されているが、感染防御機構との関係はなお不明である。

しかし、私達にとつて興味深いのは、むしろ Triton WR-1339 がライソゾーム内に蓄積される事実で<sup>59)</sup>、その表面活性がライソゾーム膜や食胞膜に対して働く可能性が推定される。この表面活性剤は Triton X-100 と異なつて、生体膜を溶解せしめることはないが、膜中のコレステロールと強く作用し、レシチンをある程度溶出せしめることが知られている<sup>60)</sup>。また、ライソゾームの水分解酵素としてのリパーゼやホスホリパーゼの活性を阻害することが、マクロファージ、肝細胞でそれぞれ観察されている<sup>61)62)</sup>。

Triton WR-1339 による感染防御は同じく細胞内感染症である *Leishmania donovani* 感染動物でもみられてお

り<sup>63)</sup>、おそらく正常マクロファージの機能を本質的に替えることなしに、細胞内寄生関係を修飾するものと考えられる。この修飾が宿主マクロファージにおける phagolysosome の膜構造と、そこに取り込まれた結核菌体表面層との接触、ならびに相互作用に関するものである可能性は極めて高い。Triton WR-1339 のアナログの1つで、 $\beta$ -tertoctylphenol-formaldehyde cyclictetramer の polyethyleneglycol ethers の構造をもつ表面活性剤があり、HOC- $x$  と略称されているが、HOC はフェノール核を示し、 $x$ はこのフェノール群あたりの ethylene oxide 単位の平均数を示す。 $x$ 値はこの物質の疎水性、親水性のバランスを支配し、 $x$ 値が小のときは抗結核性を帯び、大であればむしろ感染を増悪せしめることが、*in vivo* で、そして細胞培養レベルで示された<sup>60)61)</sup>。更に Triton WR-1339 の注射をうけたマウス肝のライソゾームの抽出液が、*in vitro* で抗結核菌力を示したという報告もあり、いまだ体系だつた説明が得られないまでも、こうした表面活性剤がコレステロールを含めた膜の脂質構築に作用することによつて、感染を修飾する可能性が高い。著者らは Triton WR-1339 が食胞膜とそこに取り込まれた菌との間に介在して、両者の接着による食胞膜の破壊を防止するものと考えている。

#### 6) リンパ球におけるコレステロール代謝

リンパ球におけるコレステロール代謝の報告は極めて乏しい。ブタの腸間膜リンパ腺と胸腺とから分離したリンパ球の細胞質膜のコレステロールは、蛋白 mg 当り 231 $\mu$ g であり、リン脂質に対するモル比は 1.01 を示した (Allan and Crumpton, 1970)。ヒトリンパ球におけるコレステロール合成の調節には、この細胞表面にあるリセプターと血漿低密度リポ蛋白 (low density lipoprotein) との相互作用が働いているという仮説を支持する成績が Ho<sup>5)</sup> らによつて得られている。正常ヒトリンパ球では蛋白 mg 当りの遊離型コレステロールが 33 $\mu$ g、エステル型が 0.64 $\mu$ g であつた<sup>5)</sup>。同じく正常ヒトリンパ球は慢性白血病患者リンパ球と比較して、細胞当りの総脂質量が多く、リン脂質に対するコレステロールの ratio が高い<sup>66)</sup>。また *in vitro* の PHA 刺激によつて [<sup>14</sup>C] アセテートのステロールとリン脂質への取り込みが対照より増加した。対照では総脂質中リン脂質へ多く取り込まれるが、PHA 刺激した場合にはコレステロールへの取り込みが増す<sup>67)</sup>。

Wolman's 病、コレステロールエステル storage 病などは酸リパーゼの欠損によつて起こるとされ、この酵素の研究が行なわれている。Patsch ら<sup>68)</sup> は正常ヒトリンパ球ホモジネートのライソゾーム膜中に存在するコレステロールエステラーゼを証明し、表面活性剤に対する溶解度から、トリグリセリドリパーゼとは別の蛋白であ

ると報告した。なお Coates ら<sup>69)</sup> はリンパ球は多形核白血球の10~15倍の酸リパーゼ活性のあること、また血小板ではこの活性の特に低いことを報告した。

#### 7) 結核菌感染による血清リポ蛋白-脂質の変化

牛型結核菌感染をうけた家兎の血清において、very low density lipoprotein が増加し、それに伴つてコレステロール、トリグリセリド、リン脂質量が増加するが、ストレプトマイシンの投与によつてこれらの現象はおさえられた (Thoen et al., 1973<sup>70)</sup>)。

#### 8) 多形核白血球におけるコレステロール

生体内でまず最初に結核菌と交渉をもつと考えられる多形核白血球では、相互作用はかなり激しいものと予想される。この食細胞の抗菌活性によつて死滅する細菌も多いが、結核菌のように生残して、遅れて到達したマクロファージに取り込まれるものもある。そこでいつたん多形核白血球に食菌されたものは食胞膜を菌表面層に付着させており、これが必然的に感染への影響を与えているものと私たちは考えている。

脂質量はカゼイン誘出マウス腹腔多形核白血球で10<sup>8</sup>個当り 1.6 mg、そのうち遊離コレステロールは12%、エステル型は4.4%であつた。特徴としてはマクロファージと比較して総脂質中のトリグリセリド量が大きく<sup>71)24)</sup>、感染肺において初期にこの脂質が増量することは、多形核白血球の動員の盛んなことが示唆される<sup>19)</sup>。

著者らはモルモット多形核白血球の膜分画にはコレステロールエステラーゼ活性があり、その至適 pH は4.5付近であつて、結核菌の存在により活性の低下することを認めている。

#### 文 献

- 1) Demel, R. A. and DeKruyff, B.: The function of sterols in membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, 457: 109, 1976.
- 2) Cohn, Z. A.: The structure and function of monocytes and macrophages, *Advan. Immunol.*, 9: 163, 1968.
- 3) Hagerman, T. S. and Gould, R. S.: The *in vitro* interchange of cholesterol between plasma and red cells, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 78: 329, 1951.
- 4) Werb, Z. and Cohn, Z. A.: Cholesterol metabolism in the macrophage. I. The regulation of cholesterol exchange, *J. Exptl. Med.*, 134: 1545, 1971.
- 5) Ho, Y. K. et al.: Regulation of cholesterol synthesis by low density lipoprotein in isolated human lymphocytes, *J. Exptl. Med.*, 145: 1531, 1977.
- 6) Shope, R. H.: The influence of cholesterol on experimental tuberculosis, *J. Exptl. Med.*, 48: 321, 1928.
- 7) Costello, R. L. et al.: Alteration of resistance of the rat to tuberculosis when maintained on an atherogenic diet, *J. Exptl. Med.*, 116: 835, 1962.

- 8) 鴻上慶治郎他: 鮫肝油中ニ存スル高度不飽和炭化水素 Squalene ヲ生化学的ニ活性化セル Squalin ニ関スル医学的研究(第三報)(主トシテ Squalene ノ生化学的研究), 結核, 15: 435, 1937.
- 9) 小橋 修他: アジュバント関節炎発症に及ぼす腸内細菌叢の影響 (Gnotobiotic rats を用いて), 結核, 55: 169, 1980.
- 10) Yamamoto, T.: On the thickness of the unit membrane, J. Cell Biol., 17: 413, 1963.
- 11) Werb, Z. and Cohn, Z. A.: Cholesterol metabolism in the macrophages. II. Alteration of subcellular exchangeable cholesterol compartments and exchange in other cell types, J. Exptl. Med., 134: 1570, 1971.
- 12) Werb, Z. and Cohn, Z. A.: Cholesterol metabolism in the macrophages. III. Ingestion and intracellular fate of cholesterol and cholesterol esters, J. Exptl. Med., 135: 21, 1972.
- 13) Kondo, E. and Kanai, K.: A comparative observation on cholesterol ester contents of uninduced and induced mouse peritoneal cells, Japan. J. Med. Sci. Biol., 27: 67, 1974.
- 14) Day, A. J. and Tume, R. K.: Cholesterol esterifying activity of cell-free preparations of rabbit peritoneal macrophages, Biochim. Biophys. Acta, 176: 367, 1969.
- 15) Tume, R. K. and Day, A. J.: Cholesterol esterifying activity of rabbit alveolar macrophages, J. Reticuloendothel. Soc., 7: 338, 1970.
- 16) Kondo, E. et al.: Analysis of host-originated lipid associated with "in vivo grown tubercle bacilli", Japan. J. Med. Sci. Biol., 23: 315, 1970.
- 17) Kondo, E. and Kanai, K.: Demonstration of cholesterol esterified with polyunsaturated fatty acids in mycobacteria grown in vivo, Japan. J. Med. Sci. Biol., 30: 165, 1977.
- 18) Kanai, K. and Kondo, E.: Review: Chemistry and Biology of mycobacteria grown in vivo, Japan. J. Med. Sci. Biol., 27: 135, 1974.
- 19) 近藤瑩子・金井興美: 実験的結核感染組織における脂質変化. 1. マウス肺組織ならびにマクロファージにおける観察, 結核, 50: 225, 1975.
- 20) Kondo, E. and Kanai, K.: Accumulation of cholesterol esters in macrophages incubated with mycobacteria in vitro, Japan. J. Med. Sci. Biol., 29: 123, 1976.
- 21) Kondo, E. and Kanai, K.: Further studies on the increase in cholesterol ester content of the lungs of tuberculous mice, Japan. J. Med. Sci. Biol., 27: 59, 1974.
- 22) Rothblat, G. H.: Lipid metabolism in tissue culture cells, Advan. Lipid Res., 7: 135, 1969.
- 23) Rothblat, G.H. et al.: In "Lipid metabolism in tissue culture cells" (G. H. Rothblat and D. Kritchevsky, eds.), Wistar Symp. Monograph No. 6, p. 129, Wistar Inst. Press, Philadelphia, Pennsylvania, 1967.
- 24) 近藤瑩子・金井興美: 実験的結核感染組織における脂質変化. 2. マウス腹腔渗出細胞を用いた実験モデルによる解析, 結核, 50: 271, 1975.
- 25) Kondo, E. and Kanai, K.: An attempt to acultivate mycobacteria in simple synthetic liquid medium containing lecithin-cholesterol liposomes, Japan. J. Med. Sci. Biol., 29: 109, 1976.
- 26) St. Clair, R. W. et al.: Chemical composition of atherosclerotic lesions of aortas from pigeons with naturally occurring or cholesterol-aggravated atherosclerosis, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 146: 1, 1974.
- 27) Day, A. J.: Lipid metabolism by macrophages and its relation to atherosclerosis, Advan. Lipid Res., 5: 185, 1976.
- 28) Collins, F. M. and Morison, N. E.: Reconstitution of T-cell depleted mice treated with calf thymosin, Proc. 10th Conference on tuberculosis, The U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program: Tokyo, 1975.
- 29) Skinsnes, O.K.: Comparative pathogenesis of mycobacteria, Ann. N.Y. Acad. Sci., 154: Art. 1, 19, 1968.
- 30) Warren, B.A. and Vales, O.: The ultrastructure of the reaction of arterial walls to cholesterol crystals in atheroembolism, Brit. J. Exptl. Pathol., 57: 67, 1976.
- 31) Bayliss, O. B.: The giant cell in cholesterol resorption, Brit. J. Exptl. Pathol., 57: 610, 1976.
- 32) Brecher, P. et al.: Effect of atherosclerosis on lysosomal cholesterol esterase activity in rabbit aorta, J. Lipid Res., 18: 154, 1977.
- 33) Kahane, I. and Razin, S.: Cholesterol-phosphatidylcholine dispersions as donors of cholesterol to *Mycoplasma* membranes, Biochim. Biophys. Acta, 471: 32, 1977.
- 34) Razin, S.: Cholesterol incorporation into bacterial membranes, J. Bacteriol., 124: 570, 1975.
- 35) Youngner, J. S. and Noll, H.: Virus-lipid interaction. I. Concentration and purification of viruses by adsorption to a cholesterol column and studies of the biological properties of lipid-adsorbed virus, Virology, 6: 157, 1958.
- 36) Kanai, K. et al.: Ultrastructural study of mycobacteria in experimentally produced lung lesions of mice, Japan. J. Med. Sci. Biol., 32: 327, 1979.
- 37) Jones, N. C. and Osborn, M. J.: Translocation of phospholipids between the outer and inner membranes of *Salmonella typhimurium*, J. Biol. Chem., 252: 7405, 1977.
- 38) Schubert, K. et al.: Veresterung von Sterinen mit Fettsäure und mit Bernsteinsäure in Mykobakterien, Biochim. Biophys. Acta, 176: 163, 1969.
- 39) Imshenetskii, A. A. et al.: Decomposition of cholesterol by mycobacteria, Microbiologiya, 37: 31, 1966.
- 40) Barksdale, L. and Kim, K. S.: Mycobacterium, Bacteriol. Rev., 41: 217, 1977.
- 41) Imaeda, T. et al.: Ultrastructure of cell walls of genus *Mycobacterium*, J. Ultrastruct. Res., 25: 46, 1968.
- 42) Draper, P. and Rees, R. J. W.: The nature of electrontransparent zone that surrounds *Mycobacterium lepraemurium* inside host cells, J. Gen. Microbiol.,

- 77: 79, 1973.
- 43) Smith, D.W. et al.: Mycosides: a new class of type-specific glycolipids of mycobacteria, *Nature*, 186: 887, 1960.
  - 44) Furuchi, A. and Tokunaga, T.: Nature of the receptor substance of *Mycobacterium smegmatis* for D<sub>4</sub> bacteriophage adsorption, *J. Bacteriol.*, 111: 404, 1972.
  - 45) Goren, M. B. et al.: Mycosides C: behaviour as receptor site substance for mycobacteriophage D<sub>4</sub>, *J. Virol.*, 9: 999, 1972.
  - 46) Goren, M. B. et al.: Lipids of putative relevance to virulence in *Mycobacterium tuberculosis*: phthiocerol dimycocerosate and the attenuation indicator lipid, *Infect. Immun.*, 9: 150, 1974.
  - 47) Kondo, E. and Kanai, K.: Further demonstration of bacterial lipids in *Mycobacterium bovis* harvested from infected mouse lungs, *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 25: 105, 1972.
  - 48) Kondo, E. and Kanai, K.: A suggested role of a host-parasite lipid complex in mycobacterial infection, *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 29: 199, 1976.
  - 49) Goren, M. B.: Phagocyte lysosomes: Interactions with infectious agents, phagosomes, and experimental perturbations in function, *Ann. Rev. Microbiol.*, 31: 507, 1977.
  - 50) Cornforth, J. W. et al.: Antituberculous effect of certain surface-active polyoxyethylene ethers in mice, *Nature*, 168: 150, 1951.
  - 51) Mackaness, G. B.: Artificial cellular immunity against tubercle bacilli, *Amer. Rev. Tuberc.*, 69: 690, 1954.
  - 52) 柳沢 謙他: 抗結核性表面活性剤 Triton WR-1339 (polyoxyethylene ethers) についての研究, *最新医学*, 11: 2519, 1956.
  - 53) Hirsch, R. L. and Keller, A.: The pathogenesis of hyperlipemia induced by means of surface-active agents, *J. Exptl. Med.*, 104: 1, 1956.
  - 54) Patnode, R. A. et al.: Studies on the effect of Triton WR-1339 on guinea pig tissues. I. Lipide chemistry of lung, liver, spleen, adrenals and blood, *J. Exptl. Med.*, 107: 33, 1958.
  - 55) Kuroda, M. et al.: Mechanism for elevation of hepatic cholesterol synthesis and serum cholesterol levels in Triton WR-1339-induced hyperlipidemia, *Biochim. Biophys. Acta*, 489: 119, 1977.
  - 56) Schotz, M. C. et al.: Effect of Triton on lipoprotein lipase of rat plasma, *Amer. J. Physiol.*, 188: 399, 1957.
  - 57) Janicki, B. W. and Aron, S. A.: Effect of Triton WR-1339 on lipoproteins and lipoprotein lipase of guinea pig plasma, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 109: 507, 1962.
  - 58) Hirsch, R. L. and Keller, A.: The pathogenesis of hyperlipemia induced by means of surface-active agents. II. Failure of exchange of cholesterol between the plasma and the liver in rabbit given Triton WR-1339, *J. Exptl. Med.*, 104: 14, 1956.
  - 59) Wattiaux, R. et al.: Influence of the injection of Triton WR-1339 on the properties of rat liver lysosomes. *Ciba Foundation Symposium Lysosomes*. Edited by A. V. S. de Reuck and M.P. Cameron. Little, Brown and Company, Boston, Massachusetts, p. 176, 1963.
  - 60) Hart, P. D.: *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages: Effect of certain surfactants and other membrane-active compounds, *Science*, 162: 686, 1968.
  - 61) Hart, P. D. and Payne, S. N.: Effects of nonionic surfactants that modify experimental tuberculosis on lipase activity of macrophages, *Brit. J. Pharmacol.*, 43: 190, 1971.
  - 62) Stoffel, W. and Trabert, U.: Studies on the occurrence and properties of lysosomal phospholipases A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> and the degradation of phosphatidic acid in rat liver lysosomes. *Hoppe-Zeyler's Z., Physiol. Chem.*, 350: 836, 1969.
  - 63) Fulton, J. D.: Treatment of *Leishmania donovani* infectious with surface-active agents, *Nature, Lond.* 187: 1129, 1960.
  - 64) Hart, P. D. et al.: Suggested role of lysosomal lipid in the contrasting effects of "Triton WR-1339" and dextran on tuberculous infection, *Nature*, 223: 672, 1969.
  - 65) Allan, D. and Crumpton, M. J.: Preparation and characterization of the plasma membrane of pig lymphocytes, *Biochem. J.*, 120: 133, 1970.
  - 66) Gotteried, E. L.: Lipids of human leukocytes: relation to cell type, *J. Lipid Res.*, 8: 321, 1967.
  - 67) Liljeqvist, L. et al.: Sterol and phospholipid biosynthesis in phytohemagglutinin stimulated human lymphocytes, *Acta Chim. Scandinav.*, 27: 197, 1973.
  - 68) Patseh, W. et al.: Acid cholesterol ester and glycerol ester hydrolase activities. Evidence for the individuality of these enzymes in human mononuclear leukocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, 618: 337, 1980.
  - 69) Coates, P. M. et al.: Acid lipase activity of human lymphocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, 572: 225, 1979.
  - 70) Thoen, C. O. et al.: Effect of streptomycin therapy on serum lipid-lipoprotein profiles of rabbits infected with *Mycobacterium bovis*, *J. Infect. Dis.*, 127: 408, 1973.
  - 71) Elsbach, P.: Composition and synthesis of lipids in resting and phagocitizing leukocytes, *J. Exptl. Med.*, 110: 969, 1959.