

## 総 説

## 細菌細胞壁成分による炎症

## 類上皮細胞肉芽腫を中心に(前編)

田 中 渥

島根医科大学・生化学

受付 昭和 57 年 7 月 7 日

EPITHELIOID GRANULOMA FORMATION BY A  
BACTERIAL CELL WALL CONSTITUENT (PART 1)

Atsushi TANAKA\*

(Received for publication July 7, 1982)

Muramyl dipeptide (MDP) of bacterial cell walls, a minimal structure responsible for their adjuvant activity, was found to induce massive epithelioid granulomas indistinguishable from those induced by tubercle bacilli in rats, guinea pigs and rabbits, when injected incorporated in a water-in-oil emulsion. MDP was stronger than tubercle bacilli in granulomagenicity. Conjugates of MDP with branched chain fatty acids, but not with a linear chain fatty acid, were capable of evoking granulomas. Peptidoglycan fragments of *S. epidermidis* incorporated into the water-in-oil emulsion became granulomagenic. On the basis of these findings I propose that an essential structure in tubercle bacilli responsible for epithelioid granuloma formation is probably the conjugated form of branched chain fatty acids (mycolic acid) and MDP, a structure found uniquely in wax D or cell walls of tubercle bacilli. The formation of MDP-induced epithelioid granuloma was found not to require allergic reactions but require macrophage activation. These findings may contribute to our understanding of epithelioid granuloma in general.

## はじめに

細菌は哺乳動物の組織に炎症を起こすが、細菌のなかでも結核菌、癩菌などは特異性炎症の原因となり、しばしば類上皮細胞肉芽腫をひき起こす。類上皮細胞肉芽腫を特徴とする疾患は多くみられ、そのなかには原因が不明の疾患(サルコイドーシス、クローン氏病など)もいくつかある。類上皮細胞肉芽腫のなかで、結核結節が最もよく研究されてきた。その原因菌はすでにちょうど100年前に発見され、病理像は、先人の努力により、知りつくされた感さえする。しかし、結核結節を形成する菌体成分、あるいはその形成の機序は依然として謎にまつまされたままである<sup>1)~3)</sup>。これらを明らかにすることは、

一般に類上皮細胞肉芽腫の理解に役立つとともに、原因不明の肉芽腫疾患の究明を助けるであろう。

著者らは最近モルモット、ウサギ、ラット等に油中水型鉱油エマルジョン(フロイント不完全アジュバント)を注射すると、小さな異肉肉芽腫あるいは数個のマクロファージの集積がひき起こされるが、このエマルジョンに細菌細胞壁由来のムラミル・ジペプチド(muramyl dipeptide, MDP)を加えると、肉芽腫は著しく増大し、結核菌がつくる類上皮細胞肉芽腫と全く区別できない肉芽腫に変化することを見出した<sup>4)5)</sup>。

このMDPにより誘起される類上皮細胞肉芽腫には、類上皮細胞肉芽腫形成研究のモデルとして、以下のよう

に、いくつかの利点がある。

\* From the Department of Biochemistry, Shimane Medical University, 89-1, Shioji-cho, Izumo-shi, Shimane 693 Japan.

(a) 分子量 493 の MDP は、抗原性をもたないので、肉芽腫形成と免疫反応の関係をj知るために有利である。

(b) MDP は細菌細胞壁に特有な種々の生物活性の発現に必要な最小有効構造であり、かつ合成可能で、種々の類似体、誘導体を使用できる。したがって、肉芽腫形成と形成因子 (MDP) の化学構造および他の生物活性との関係を調べるために極めて好都合である。

(c) 水溶性であるので *in vitro* の実験が可能である。

以下、類上皮細胞肉芽腫の形成のために、(1) どのような化学構造が必要であるか、(2) どのような生物活性が必要であるか、(3) 免疫反応は必要であるか、等の点について私達の最近5年間の仕事を紹介する。更に MDP は、類上皮細胞肉芽腫形成と違つた機序により、特徴的な関節炎と壊死性炎を起こすことが最近分かつたので、それについても最後にごく簡単にふれる。

## 第1章 類上皮細胞肉芽腫を誘導する化学構造— 結核菌体中の結節形成因子の追究

### 1. MDP とは

ほとんどすべての細菌の細胞壁は図1に示されるように、共通構造と特殊構造から成つている。共通構造はグルコサミンとムラミン酸が反復して連なる鎖、グリカン鎖、とこれを架橋するペプチド鎖から成る (図2)。両鎖が交わる場所に、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン構造、つまりムラミル・ジペプチド (MDP) 構造がある。

1974, 1975年に MDP は細菌細胞壁あるいは結核菌ロウDの免疫アジュバント活性の最小有効構造であることが、Leuderer, 小谷らにより発見された<sup>6)</sup>。その後 MDP はエンドトキシンに似て種々の生物活性をもっていることが分かつてきた<sup>6)</sup>。

Structure of bacterial cell walls

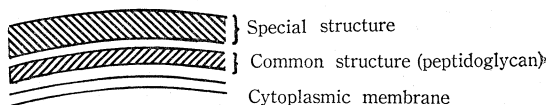
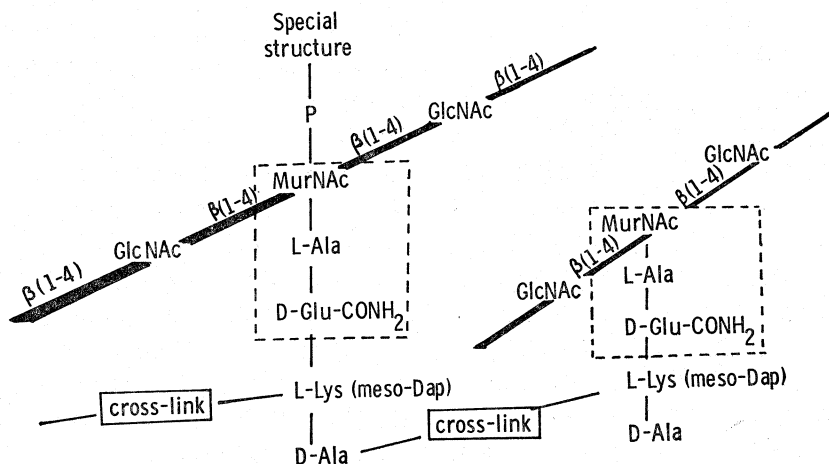


図1 細菌細胞壁の構造

### 2. MDP による類上皮細胞肉芽腫の形成

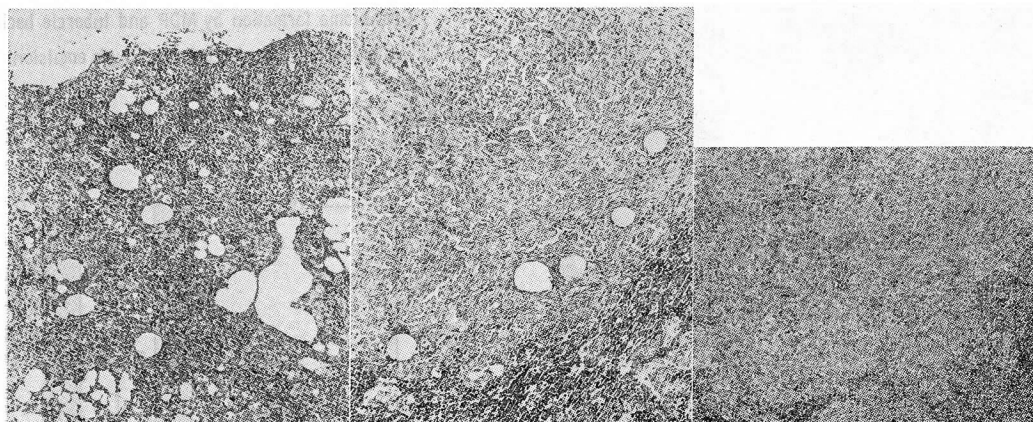
著者らは最初にラットにおける合成 MDP のアジュバント活性を調べるため、卵白アルブミンと合成 MDP をフロイント型油中水型エマルジオンの形でラットの足うらに注射し、3週後卵白アルブミンに対する遅延型皮膚反応が強く陽性になることを観察した。遅延型アレルギーが成立したから、類上皮細胞肉芽腫が形成されているだろうと推定し、調べたところ、推定どおり注射局所、局所リンパ節に広範に類上皮細胞肉芽腫の形成がみられた。ところが、全く予期に反し、対照の MDP 単独注射群においても、同様の同程度の類上皮細胞肉芽腫形成がみられた。最初は用いた鉱物油あるいは水の中に、細菌あるいは蛋白質の混入があり、そのために感作が成立したのではないかと疑い、鉱物油を数時間 100,000×G で遠心し、再蒸留水を使用し、ミリポールフィルターを通し、注意深く精製した材料を用いて調べたが、結果は毎回同じであつた。したがって、著者らは MDP そのものが類上皮細胞肉芽腫を形成すると考えを変えるに至つた。

モルモット、ウサギにおいても MDP は広範に典型的な類上皮細胞肉芽腫を形成した<sup>4)</sup>。3図に示されるように MDP による類上皮細胞肉芽腫は結核菌による類上皮細胞肉芽腫と形態的に全く区別がつかなくなつた。



□部分 は MDP を示す。

図2 ペプチドグリカン構造



A

B

C

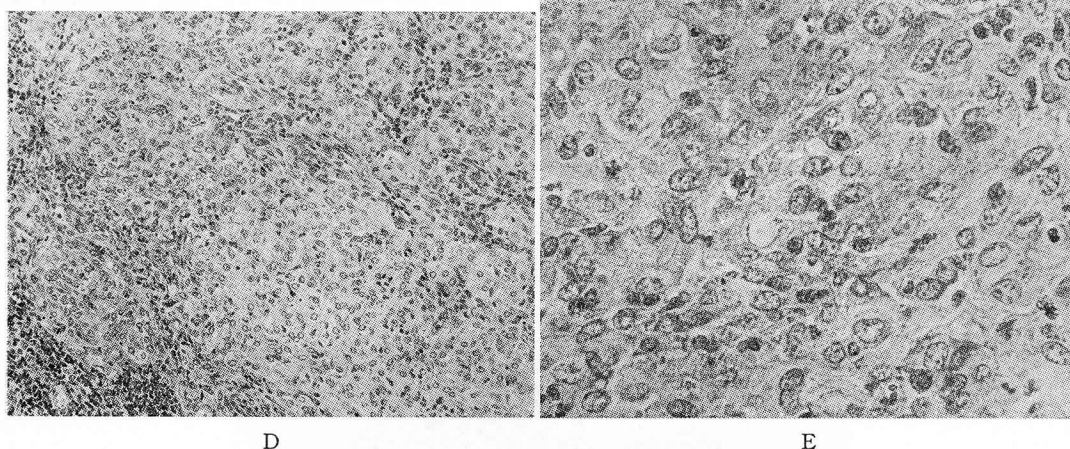
モルモット足うらに

A: 油中水型エマルジョン (FIA)

B: 結核菌 100 $\mu$ g + エマルジョン

C: MDP 100 $\mu$ g + エマルジョン

を注射し、3週後の局所リンパ節の組織像を示す。HE 染色 $\times$ 100



D

E

MDP (100 $\mu$ g) をエマルジョンの形でモルモット足うらに注射、2週後の局所リンパ節の組織像。広範な典型的類上皮細胞肉芽腫の形成がみられる。D:  $\times$ 200 E:  $\times$ 400

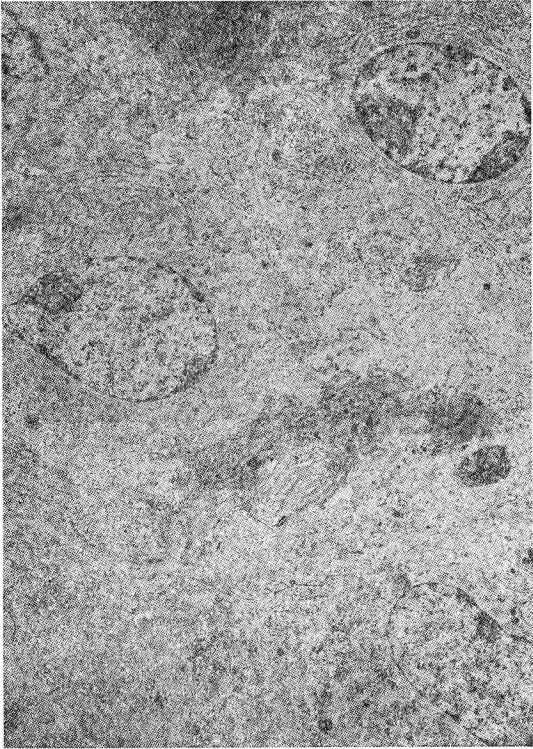
図3 MDP による類上皮細胞肉芽腫形成

MDP による類上皮細胞はマクロファージより大きく、辺縁がはつきりせず、胞体は好酸性を示し、核は円もしくは楕円形で大きく、明るく、しばしば核小体が見られた。時に Langhans 型巨細胞もみられた。そして、しばしばこれら類上皮細胞は、ある点を中心としてコンパクトに配列し、しばしばその中心には MDP を含んだエマルジョンがあつたことを示す空胞がみられた。

電顕的にも(図4)、しばしば細胞膜の interdigitation の像がみられ、胞体内にはよく発達したミトコンドリア、リソゾーム、粗面小胞体、リボゾームが、時にゴルジ体とともにみられた。核膜は極めて薄く、オイクロマチンがよく発達し、ヘテロロマチンは極少量が主に核膜に

接して存在し、よく発達した核小体が見られた。これらは通常記載されている類上皮細胞の微細構造によく一致するものである<sup>11-37</sup>。MDP が類上皮細胞肉芽腫を形成することは、岡部らによつても追試確認された<sup>8)</sup>。以下、主にモルモットを使つて更に詳しく調べた。

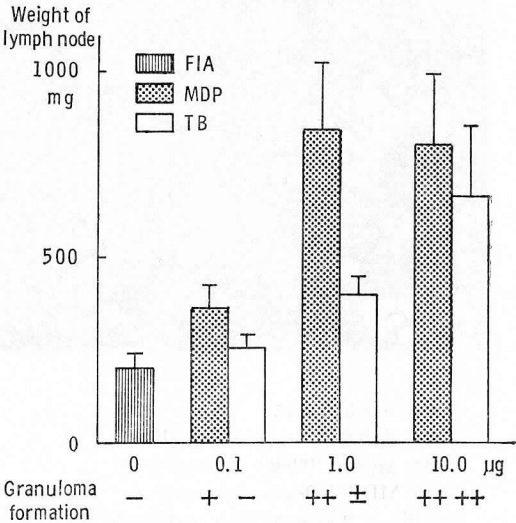
MDP の肉芽腫形成能は極めて強く、図5に示されるように、0.1 マイクログラムの少量で局所リンパ節は有意に腫大し、リンパ節内に広範な肉芽腫が形成された。岡部も同じことを観察した<sup>8)</sup>。その肉芽腫形成能は、結核菌のそれを上回つた(図6)<sup>5)</sup>。リンパ節の重さはリンパ節内の肉芽腫形成の程度と平行した。2~3週後にリンパ節の腫大は極大に達し、その後急速に減少した<sup>5)</sup>。



MDP 100 $\mu$ g をエマルジョンの形でモルモットの足うらに注射 3 週後の局所リンパ節の電顕像。×4,400. 類上皮細胞に特徴的な小器官の発達, 核の形態および interdigitation が見られる。

図 4 MDP により形成された類上皮細胞肉芽腫の電顕像

Granuloma formation by MDP and tubercle bacilli  
(Guinea pig; Samples injected in w/o emulsion)



種々の量の MDP および結核菌 (死菌) を油中水型エマルジョンの形でモルモット足うらに注射し, 2 週後にリンパ節を摘出した。図にはリンパ節重量と肉芽腫形成の有無を示す。

FIA: フロイント不完全アジュバント  
TB: フロイント完全アジュバント

図 6 MDP および結核菌の投与量と肉芽腫形成との関係



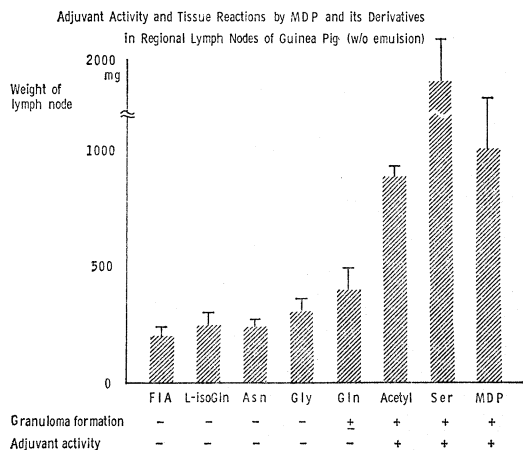
MDP 0.1 $\mu$ g をエマルジョンの形でモルモット足うらに注射 2 週後の局所リンパ節の組織像。×10

図 5 MDP (0.1 $\mu$ g) による類上皮細胞肉芽腫形成



表1 MDP とその類似体の構造と生物学的活性の間の相関性  
Relationship Among Biological Activities of MDP and Its Analogs

|                          | Adjuvant activity | Mφ stimulation |                 | Granuloma formation |
|--------------------------|-------------------|----------------|-----------------|---------------------|
|                          |                   | <i>in vivo</i> | <i>in vitro</i> |                     |
| Acetyl-MDP               | +                 | +              | +               | +                   |
| Mur-L-Ala-D-isoGln (MDP) | +                 | +              | +               | +                   |
| Mur-L-Ser-D-isoGln       | +                 | +              | +               | +                   |
| Mur-L-Ala-D-Glu          | +                 | +              | +               | +                   |
| Mur-L-Ala-D-Gln          | ±                 | ±              | ±               | ±                   |
| Mur-L-Ala-L-isoGln       | —                 | —              | —               | —                   |
| Mur-L-Ala-D-isoAsn       | —                 | —              | —               | —                   |



MDP および種々の類似体を油中水型エマルジョンの形でモルモット足うらに注射し、2週間後にリンパ節を摘出し、肉芽腫の有無を調べた。図はリンパ節の重量と肉芽腫形成能とアジュバント活性の有無を示す。類似体の中、置換されたアミノ酸だけを示した。

図7 MDP とその類似体の構造と肉芽腫形成能との関係

結核菌による腫大はかなり長く続く傾向を示し、この点では両者にやや違いがみられた。

種々のMDP類似体について調べたところ、アジュバント活性を有するMDP類似体のみが肉芽腫形成能を示した<sup>9)</sup>(図7, 表1)。たとえば、MDPの中のD-イソグルタミンがL-イソグルタミンに変わったもの、あるいは炭素数が一つだけ少ないD-イソアスパラギンに変わったものは全く肉芽腫形成能を示さなかった。D-イソグルタミンがD-グルタミンに変わったもの(弱いアジュバント活性を示す)は弱い活性を示したが、L-アラニンがL-セリンに変わったもの(MDPより強いアジュバント活性を示す)はもとのMDPよりも強い活性を示した。このようにMDPの肉芽腫形成能はアジュバント活

性を発現するその特異的立体構造、アジュバント活性構造に強く依存して発揮されることが分かった。

このような結果から、細菌細胞壁中のMDP構造は類上皮細胞肉芽腫をひき起こす構造であると考えられた。しかし、ここで疑問がおこった。すべての細菌はその共通構造、ペプチドグリカン中にMDP構造をもっているのに、何故結核菌のような特定の細菌のみが類上皮細胞肉芽腫を形成するのであろうか。この疑問に対する答を得るために以下のような実験を行なった。

### 3. アシル-MDP による肉芽腫形成

すでに述べたように、MDPは油中水型エマルジョンの形で注射されると類上皮細胞を形成するが、水溶液の形で注射されても全く肉芽腫形成能を示さない。MDPは水溶液の形で急速に尿中に排泄されるので、このことと関係があると思われた。それでMDPのムラミン酸の6位炭素に、種々の脂肪酸を結合させて水に溶けにくくしたアシルMDPが大阪大学芝研究室で合成されたので<sup>10)</sup>、それらの恵与を受け、肉芽腫形成能を調べた(図8)。その結果、興味あることに、炭素数30個のα位で分岐する分枝脂肪酸(B30)とMDPとの結合物(B30-MDP)は、水浮遊物の形で(無機油エマルジョンを使用しなくても)、強い肉芽腫形成能を示したが、分枝脂肪酸とMDPの単なる混合物(B30+MDP)、あるいは炭素30個の直鎖脂肪酸との結合物(L30-MDP)は全く肉芽腫

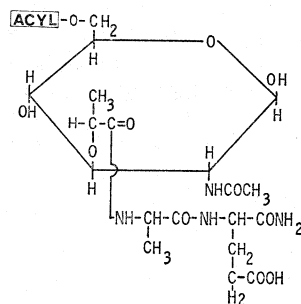
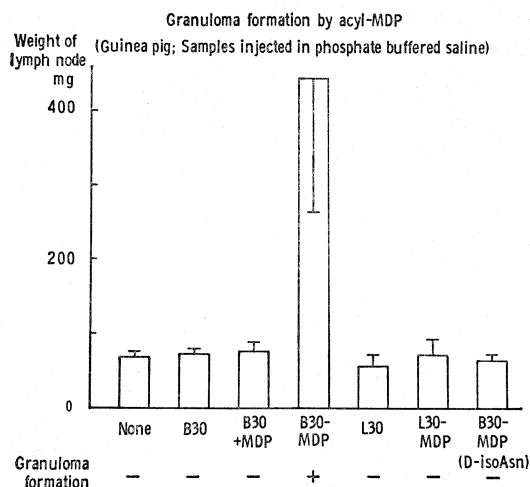
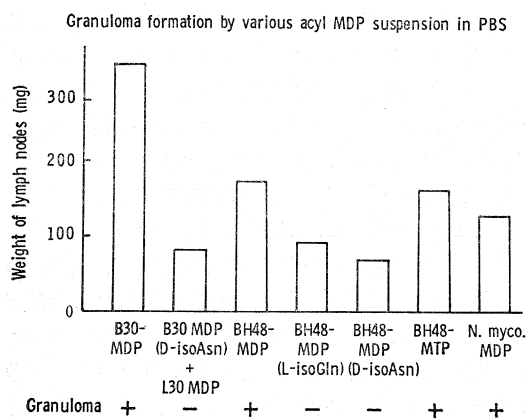


図8 アシルMDPの構造



A



B

図に示す物質を1% Tween 80 添加のリン酸緩衝生食水(PBS)に100 µg/ml になるように浮遊し、モルモット足うらに注射し、2週間後にリンパ節を摘出し肉芽腫の有無を調べた。図はリンパ節の重量と肉芽腫の有無を示す。

B30: 炭素数 30 個の分枝脂肪酸

L30: 炭素数 30 個の直鎖脂肪酸

B30+MDP: B30 と MDP の混合物

B30-MDP: B30 と MDP の結合物

L30-MDP: L30 と MDP の結合物

B30-MDP (D-isoAsn): B30 と MDP の D-iso Asn 類似体との結合物

BH48-MDP: 炭素数 48 個の水酸基をもつ分枝脂肪酸と MDP との結合物

BH48-MTP: BH48 とムラミル・テトラペプチドとの結合物

N. mycoMDP: ノカルド・ミコール酸と MDP との結合物

図 9 A, B アシル MDP と肉芽腫形成能

を作らなかつた<sup>9)</sup>(図 9, 10)。また、分枝脂肪酸と結合していても、MDP の方がアジュバント活性構造でなければ、類上皮細胞肉芽腫は全く形成されなかつた。1 マイクログラムの B30-MDP が強い肉芽腫形成能を示しているのに比べ、100 マイクログラムの L30-MDP あるいは B30-MDP (D-イソアスパラギン) は全く肉芽腫を作らなかつた(図 10 A, B)。

他の分枝脂肪酸についても同様の結果が得られた(図 9 B)。炭素数 46, 48 個の  $\alpha$  位分岐合成分枝脂肪酸、あるいは炭素数約 50 個の天然分枝脂肪酸(ノカルド・ミコール酸)が結合した MDP は、強い肉芽腫形成能を示した。これらの結果は、MDP の肉芽腫形成能の発現には、それと密接に「アソシエート」した鉱物油あるいは分枝脂肪酸の存在が必要であることを示している。このことは、何故 MDP をもっているにもかかわらず、一般細菌が肉芽腫を作らず、結核菌がそれを作るのかという点を説明していると思われるが、この点については「考察」のところで詳しく述べる予定である。

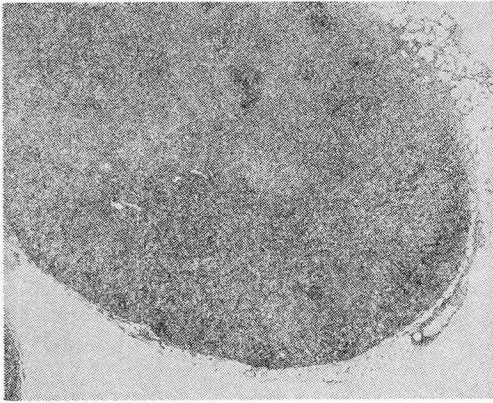
#### 4. 一般細菌細胞壁断片による肉芽腫形成

以上の実験結果から、一般細菌細胞壁も MDP 構造をもっているので、特有のリビドとアソシエートさせると、肉芽腫形成能を発揮するようになると思われた。このことは以下のように証明された。

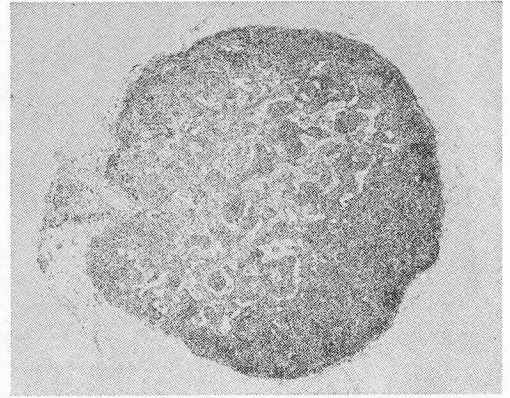
大阪大学小谷教授からいただいた一般細菌(ここでは *S. epidermidis*) の細菌壁、あるいはそのペプチドグリカン、更にそれを土壌菌由来の細胞壁融解酵素で小さな断片にしたもの等を、フロイント型油中水型エマルジョンの形でモルモット足うらに注射したところ、2~3 週後に局所リンパ節は著明に腫大し、類上皮細胞肉芽腫が形成された<sup>9)</sup>(図 11)。ペプチドグリカン断片が小さくなるほど反応は強くなる傾向があるようにみられた。

#### 考 察

MDP は油中水型エマルジョンの形で注射されたとき、モルモット、ラット、ウサギにおいて、結核菌が同じ条件で注射されたときにつくる類上皮細胞肉芽腫と区別できないほどの広範な典型的類上皮細胞肉芽腫を形成した。MDP の類上皮細胞肉芽腫形成能は、結核菌のそれより強い傾向を示し、MDP のアジュバント活性構造に極めて厳格に依存して発揮された。モルモットを使つて更に調べたところ、MDP 単独水溶液は肉芽腫を作らなかつたが、 $\alpha$  位に分枝をもつ高級脂肪酸と MDP との共有結合物は強い肉芽腫形成能を示した。これらのことは、MDP が肉芽腫形成能を発揮するためには、特殊な脂質の共存が必要であることを示している。分枝脂肪酸と MDP との単なる混合物、あるいは直鎖脂肪酸と MDP との結合物はともに全く肉芽腫を作らなかつたので脂肪酸が分枝であること、MDP と共有結合していることが



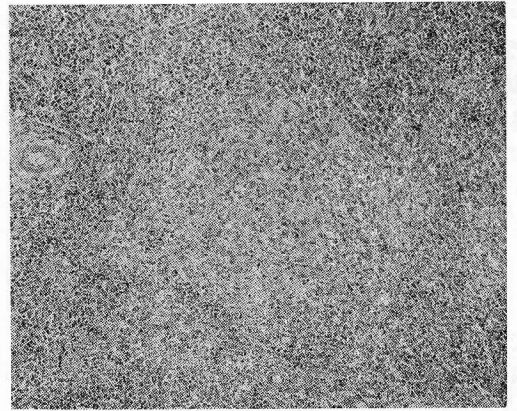
A



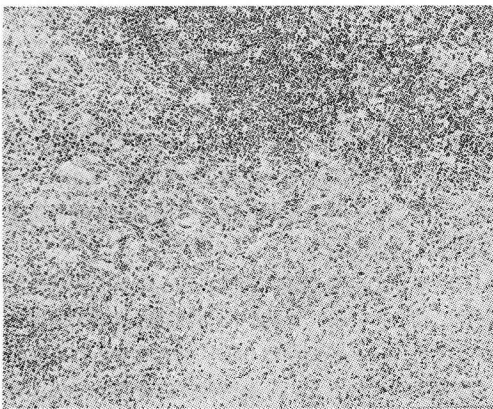
B



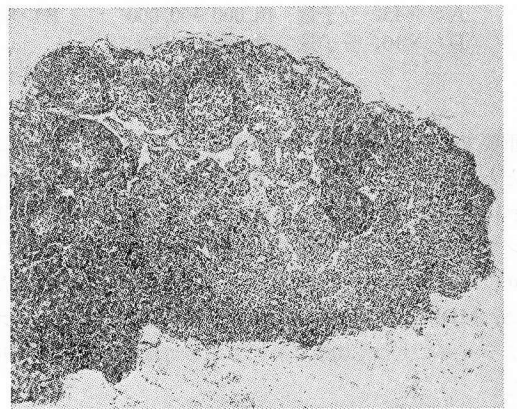
C



D



E



F

投与方法および記号については図9を参照。

A: B30-MDP  $1\mu\text{g}$ ,  $\times 20$

B: L30-MDP  $100\mu\text{g}$ ,  $\times 30$

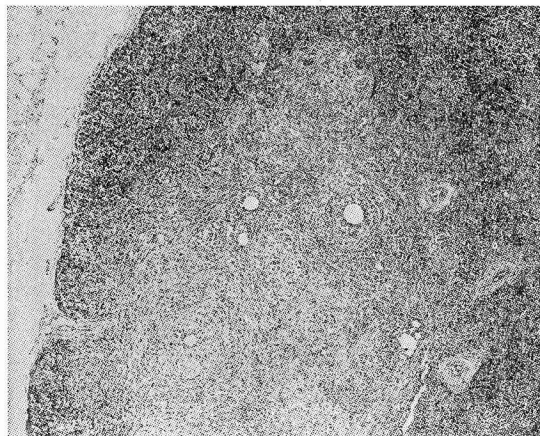
C: B30-MDP  $10\mu\text{g}$ ,  $\times 10$

D: N. myco MDP  $10\mu\text{g}$ ,  $\times 100$

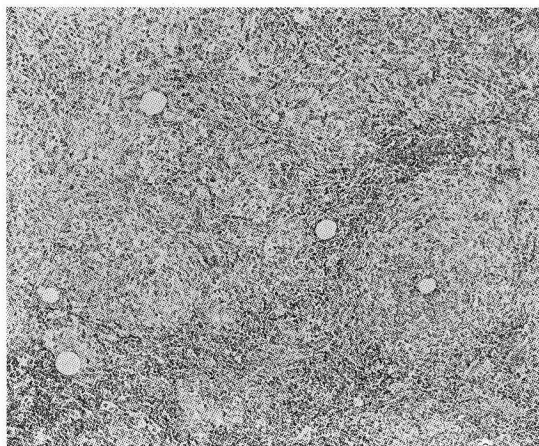
E: BH48-MDP  $10\mu\text{g}$ ,  $\times 100$

F: BH48-MDP (D-isoAsn)  $100\mu\text{g}$ ,  $\times 10$

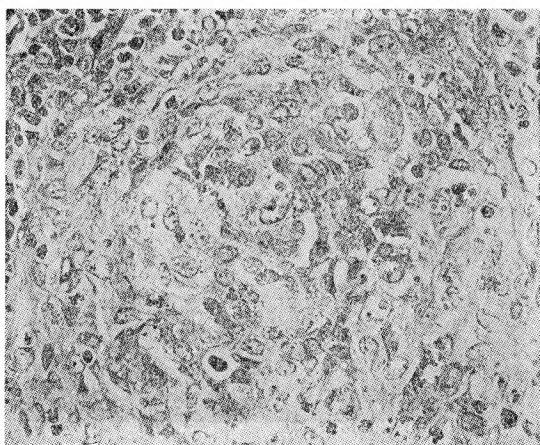
図10 アシル MDP による肉芽腫形成



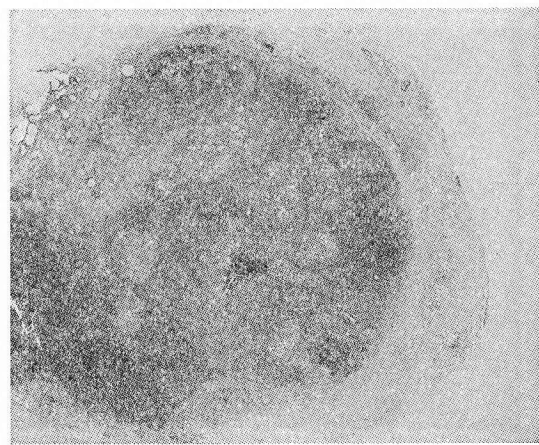
A



B



C



D

いろいろの大きさ(分子量)の水溶性ペプチドグリカン断片(100 $\mu$ g)を油中水型エマルジオンの形にしてモルモット足うらに注射2週後の局所リンパ節の組織像。

A:  $\times 45$ , 分子量 18,000~50,000

B:  $\times 100$ , 分子量 10,000

C:  $\times 400$ , 分子量 10,000

D:  $\times 10$ , 分子量 2,800~5,000

図11 *S. epidermidis* のペプチドグリカン断片による類上皮細胞肉芽腫形成

重要である。脂肪酸が分枝であることと鉱物油であることとの間の共通点は、肉芽腫形成に関して言えば代謝されにくいということだと思われる。この鉱物油はアルカンであるので哺乳動物体内では代謝されない。また、 $\alpha$ 位に分枝をもつ脂肪酸は、おそらく立体障害のため、MDP と脂肪酸の間のエステル結合が組織中のエステラーゼによつて切断されにくいのではないかと思われる。

鉱物油の場合には MDP との間に共有結合は起こりやうがないので、脂質と MDP との結合は必ずしも化学的な共有結合でなくてもよいが、両者の間の密接な結合あるいはアソシエーションが必要であることは明らかである。MDP 単独では水に溶けやすく、極めて迅速に尿中に排泄されてしまうので、脂質との結合によつて、MDP

を組織の一部にひきとめておくことが肉芽腫形成に要求されるのであろう。あるいは脂質と一緒にマクロファージ中にとりこまれることが、類上皮細胞の形成に必要なものかもしれない。

MDP 単独では肉芽腫は形成されないが、分枝脂肪酸—MDP 結合体の形では強い肉芽腫形成能が発揮されるということは、一般細菌は MDP を含有するにもかかわらず肉芽腫を形成しないが結核菌は肉芽腫を形成することを説明し、分枝脂肪酸—MDP 結合体が結核菌体中の主要な肉芽腫形成構造であることを強く示唆する。なぜなら、結核菌は乾燥菌体に含まれる総脂質の量が多いだけでなく(一般細菌: 10~20%; 結核菌: 40~50%), 一般細菌と比較できないくらい多彩、多量の分枝脂肪酸を有しており、特にそのなかでミコール酸は多糖体を介し

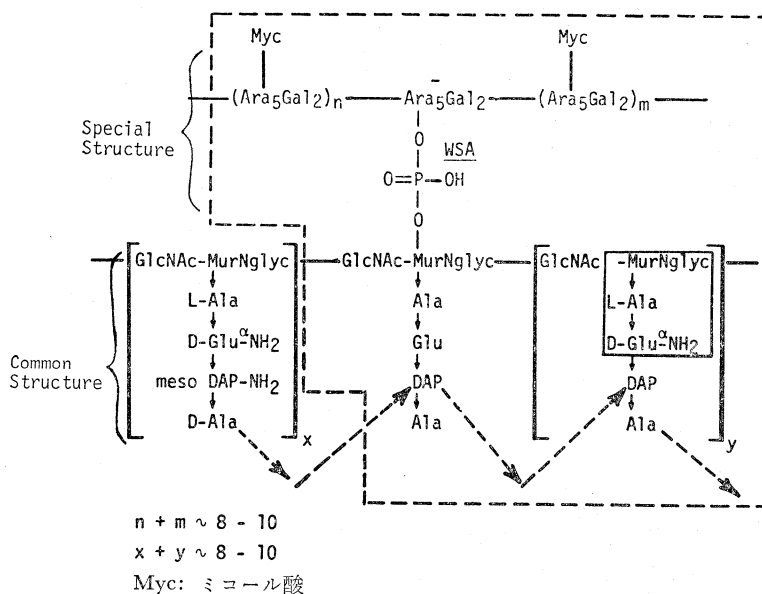


図12 ロウDと結核菌細胞壁の構造

MDP と共有結合し、このミコール酸—多糖体—MDP 構造は結核菌体中に多量に含まれているからである<sup>11)</sup> (図12)。ミコール酸は、*M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. phlei*, *M. smegmatis* 等に特異的に存在し、炭素数 80~90,  $\alpha$  位で分枝し、 $\beta$  位に水酸基をもっている超高級分枝脂肪酸で、動・植物界を通じこれほど大きな脂肪酸は抗酸菌以外にはみつかつていない。ミコール酸は抗酸菌の抗酸性に寄与している<sup>12)</sup>。また武谷らは電顕的観察により、結核菌細胞壁にのみローブ状の二重線維構造がみられ、これはすべての抗酸菌に特有の所見であつて、他の細菌との有力な鑑別点になると報告している<sup>13)</sup>が、ミコール酸がこの線維構造の形成に関係していると考えられている<sup>14)</sup>。このように結核菌脂質中で最も特徴のあるミコール酸は、結核菌体細胞壁中に多量に見出だされ、以下の4つの形で存在している<sup>14)</sup>。

- (1) 遊離型
- (2) 多糖体と結合している形
- (3) 多糖体—ペプチドグリカン複合体と結合しているが、有機溶媒に溶け出す形
- (4) (3)と同じ構造をしているが有機溶媒に溶け出さない形

最後の第4型は結核菌細胞壁そのものであり、図12に示されるようにペプチドグリカン部分は細胞壁(図1)中の共通構造であり、ミコール酸—多糖体部分は特殊構造にあたる。第3型は後述のように人型結核菌のロウD(wax D)の主成分で、第4型と基本的には同じ構造であり、これに関連して著者らは以前結核菌細胞壁(第4型)に第3型が組み込まれていることを報告し、これを

結合ロウDと呼んだ<sup>15)</sup>。ここで強調したいことは、ミコール酸は(1)(2)の形では少量存在し、類上皮細胞肉芽腫をつくらないが、(3)(4)の形では大量に存在し、後述のように類上皮細胞肉芽腫をつくるという点である。この最後の点を含めて、少し脇道にそれるが、ここで結核菌の脂質の研究の歴史を少し振り返って眺めてみよう。

結核菌はよく知られているように大量の脂質を含むため、古くからその脂質は結核菌特有の生物活性との関連において極めて多くの研究者によつて研究されてきた(乾燥細胞壁当たり脂質量: 結核菌 約60%, グラム陽性菌 数%, グラム陰性菌 10~20%)。結核菌脂質の最初の化学的系統的基礎的分析は、1928年から1948年までの間にわたつて、アメリカの Anderson らによつて精力的に進められ、種々の脂質の分画・精製が行なわれた。彼がいたエール大学化学教室の大ホールには、分画・精製された多数の結核菌の脂質が展示されている。次いで、これを受けて、フランスの Lederer らは新しいクロマトグラフィー等の技術を用い、現在に至るまで仕事を発展させてきた。Anderson らと協同して、Sabin らは肉芽腫形成因子を追求し、Lederer らの仕事はアジュバント活性因子の発見へと発展した。

アジュバント活性と肉芽腫形成に関してなされたこの二つの大きな仕事の流れの中で、結核菌に特有な分枝高級脂肪酸が常に顔を出していることは興味あることである。ここでまずアジュバント活性構造の発見に至る流れをごく簡単に追つてみよう。

Anderson-Lederer らは人型結核菌の脂質を有機溶媒で分画し<sup>16)</sup>、ロウD(Wax D) 画分がミコール酸・アラ



ビノガラクトン・ペプチドの複合体を含むことを明らかにし(図12), Raffel らはロウD画分のみがアジュバント活性を示すことを見出した<sup>17)</sup>。White らは人型結核菌由来のロウD画分のみがアミノ酸を含み, かつアジュバント活性を有していること<sup>18)</sup>, 著者らは人型菌由来のロウDを更に分画し, アミノ酸を含む亜分画のみがアジュバント活性を有することを見出し, ペプチドの存在とアジュバント活性との関連性が示唆された<sup>19)20)</sup>。White らはロウDからミコール酸を除くと, アジュバント活性が消失することを観察し, アジュバント活性発現におけるミコール酸の重要性を示唆した<sup>18)</sup>。石橋らはロウD中のグルコサミンあるいは水溶性部分の大きさが, アジュバント活性と関連することを観察し, これらの観察はペプチドグリカンとアジュバント活性の関連性を示唆していた<sup>21)</sup>。

このような探りを入れる仕事によつて得られたロウDの構造とアジュバント活性との関連性についての断片的な知識は, その後多くの研究者によりつなぎ合わされて, 今日ほぼ完全な形にされた。このことについては他に総説が書かれているので詳しくはふれない<sup>6)22)</sup>。東, Lederer らはロウD, 結核菌細胞壁が, 図12のように上記第3型および第4型であることを示した<sup>23)</sup>。一方, Lederr, 小谷, 芝らは, ミコール酸はアジュバント活性に必ずしも必須ではないことを見出し, 更に細菌細胞壁に土壌菌が生産する細胞壁融解酵素を使用して分解してゆく方法に合成的手法を併用して, MDP がアジュバント活性の最小有効構造であることを示した<sup>6)22)</sup>。しかし, MDP はマウスでは水溶性の形でアジュバント活性を示したが, モルモットでは油中水型エマルジョンあるいは脂肪酸を結合させることによつて初めて活性を発揮した<sup>6)</sup>。つまり, 分枝脂肪酸の結合により MDP のアジュバント活性は, 著しく強められる。そしてアジュバント活性構造が, その活性を発現あるいは強化される形(脂質と複合体を作つた形)が, とりもなおさず類上皮細胞肉芽腫を形成することのできる構造であるといえる。このように結核菌のアジュバント活性構造の追究は, 類上皮細胞肉芽腫形成因子を明らかにすることにつながつたと著者は考える。

次に, 結核菌の類上皮細胞肉芽腫形成因子の追究の歴史について簡単にふれることにする。

結核菌が Koch により発見されてちょうど100年経つたが, 結核菌に特有な結節形成因子が何であるかという点について多くの研究者は興味をもち研究した。すでに, 今世紀の初め(1900) Auclair は結核菌からクロロホルムで抽出される脂質画分を15~120 ミリグラム, ウサギ気管内に入れることにより「結核病巣」が形成されることを報告している<sup>24)</sup>。1928年以降, Sabin らは, Anderson らが分画した分画の数10~数100 ミリグラムをウサ

ギの腹腔内に注入し, 燐脂質とロウ画分(Anderson の purified wax, 後に Lederer はこれを更に wax C と wax D に分けた)が類上皮細胞を伴つた結核巣をつくることを見出した<sup>25)</sup>。特に燐脂質を加水分解して得られた脂肪酸は結核結節を作ると報告された。この脂肪酸はフチオン酸(phthioic acid)と命名された。その後, フチオン酸は炭素数23個から31個にわたる少なくとも12個の分枝脂肪酸の混合物であり, その中に1/4量含まれる炭素数27個の不飽和脂肪酸(フチエノイン酸, phthienoic acid)はフチオン酸よりはるかに強い活性を示すと報告された<sup>26)</sup>。

その後, これらの仕事に刺激されて, 1940年代から1950年半ばにかけ, 多数の異なつた分枝脂肪酸が合成され, それらの類上皮肉芽腫形成能が調べられた<sup>27)</sup>。Ungar は合成された分枝脂肪酸の多数のサンプルを調べ, それらのなかには数ミリグラムで結核様病巣を作るものもみつかった。しかし, 結局, 彼はそれらを総括して, 1955年, Ciba Foundation Symposium で, それまでに多くの分枝脂肪酸によつてひき起こされた病巣は異物肉芽腫であると結論した<sup>27)</sup>。Ungar によるこの発表のあと, かの古典的名著「結核の病理発生論」を書き, その中で結核結節形成因子に関しては化学(リビド)説をとつた Rich も結局「We are certainly in the dark about what is responsible for tubercle formation in tuberculosis」と述べた<sup>27)</sup>。

後に Epstein あるいは Adams らも, 使われた分枝脂肪酸の量が多すぎること, 生じた組織反応が真の類上皮細胞を含んでいるとは思われないことから, フチオン酸あるいはそれに類似の分枝脂肪酸が結核結節形成因子とは考えられないと述べた<sup>1)3)</sup>。このように結核結節形成因子を目指した大きな仕事の流れは, 多くの研究者を巻き込んだまま, Sabin が最初にロウ(wax)ではなく(彼女はそれも結核結節を作ること認めておりながら), 燐脂質の方に的をしぼつたため暗礁に乗り上げてしまつた形となつた。今から考えれば, MDP は0.1 マイクログラムで類上皮細胞肉芽腫を作るので, 彼女が用いた大量の燐脂質中には, 結核菌体あるいは真の結節形成因子が混入していたと考えられる。彼女の情熱に満ちた長大な論文は, その後成分分枝脂肪酸ですら, 「結核結節様」病巣を引き起こすような効果を与えたのではなからうか。

一方, Sabin がとりあげなかつたロウ画分は, フランスの Choucroun によつて初めて取り上げられた。彼女は1940年結核菌体からパラフィン油で抽出される脂質(Pmko)が, パラフィン油に溶かされて, モルモット腹腔に注射されたとき, 結核病巣を作ると報告した<sup>28)</sup>。1947年, Choucroun とあつた Lederer にとつて, この脂質(Pmko)は, “substance, mystérieuse et complexe

(図1)で、以後 Lederer らの現在に及ぶ広範な仕事のきつかけとなった。Pmko はロウDと同様の構造をもつことがやがて明らかになるが、Lederer らはロウDがモルモットで類上皮細胞肉芽腫を作ることを初めて報告した<sup>29)</sup>。White らも 40  $\mu\text{g}$  のロウDがモルモットで類上皮細胞肉芽腫を作ることを報告し<sup>30)</sup>、安平、著者らも兎肺でロウDは類上皮細胞肉芽腫形成作用を示し<sup>31)32)</sup>、電顕的にも類上皮細胞であることを確認し、ロウDは結核菌より類上皮細胞肉芽腫形成作用は強いことを観察した。一方、結核菌細胞壁もまた類上皮細胞肉芽腫を形成することが観察された。これらの仕事はフチオン酸の場合と違い、現在認められるに至っている。

しかし、だからといってロウDあるいは細胞壁がそのまま類上皮細胞肉芽腫形成因子とはいえない。なぜなら、これらの物質はまだ極めて多くの不純物を含んだ粗画分であるからである<sup>33)</sup>。また、ロウD、結核菌細胞壁は、それ自身アジュバント活性と抗原性を有し、それらにはほとんど常にツベルクリン蛋白が混在しているで、後に述べるように、これらの物質は単にアレルギーを発現させることにより類上皮細胞肉芽腫をつくるのであつて、特にそれらの物質の中に、それ自身で類上皮細胞肉芽腫をつくる特殊な構造は含まれていないかもしれないからである。それにもかかわらず、「分枝脂肪酸—MDP 結合体が類上皮細胞肉芽腫形成に必要な最小有効構造である」という我々の仮説は、この構造がロウDあるいは結核菌細胞壁中に、反復単位として大量に存在しているという事実により強く支持されていると考える。

もし、この仮説が正しいなら、適当な脂質を密接に結合して存在させてやりさえすれば、一般細菌の細胞壁も類上皮細胞肉芽腫を形成するはずである。実際、MDP を含んでいるから、*S. epidermidis* のペプチドグリカン断片は、フロイント型油中水型の形でモルモットに注射されると、類上皮細胞肉芽腫を形成した。したがって肉芽腫形成に関する結核菌と一般細菌の違いは、主にペプチドグリカン層に結合する脂質の有無にあるように思われる。

### 第1章の要約

MDP は油中水型エマルジョンの形で、モルモット、ウサギ、ラットに注射されると、広範な類上皮細胞肉芽腫を引き起こした。MDP の類上皮細胞肉芽腫誘起能は結核菌のそれを上まわり、MDP のアジュバント活性構造に依存した。MDP の水溶液は全く肉芽腫形成能を示さなかつたが、分枝脂肪酸との共有結合物は、強い肉芽腫形成能を示した。直鎖脂肪酸との結合物、分枝脂肪酸との混合物は全く肉芽腫を作らなかつた。一般細菌の細胞壁ペプチドグリカンも MDP をもっているが、そのペプチドグリカンの断片を油中水型エマルジョンの中に入れて注射すると類上皮細胞肉芽腫が形成された。これら

の事実は、結核菌の中に分枝脂肪酸が多く、特にミコール酸は多糖体を介してペプチドグリカンと結合している事実とあわせ考えると、分枝脂肪酸(ミコール酸)—MDP 結合体が結核菌の中の類上皮細胞肉芽腫形成のために必要な構造であると思われる。

## 第2章 類上皮細胞肉芽腫形成とアレルギー反応との関係

肉芽腫形成あるいは類上皮細胞肉芽腫形成にアレルギー反応、特に遅延型アレルギーが促進的に働くことは確立している<sup>1)-3)</sup>。特に類上皮細胞肉芽腫形成において、アレルギー反応は大きな役割を果たし、Epstein らは類上皮細胞肉芽腫形成にアレルギー反応は必須な条件であると述べている<sup>3)</sup>。一方、肉芽腫がアレルギー反応なしに形成されるかどうかについても、多くの研究がなされてきた。異物肉芽腫がアレルギー反応なしに形成されることは明らかである。類上皮細胞がアレルギー反応の関与なしに発生することも報告されている<sup>34)-36)</sup>。しかし、アレルギーなしに典型的な類上皮細胞肉芽腫が形成されたという確実な報告はまだ提出されていない。もし、アレルギーの関与がなくても、典型的な類上皮細胞肉芽腫が形成されるならば、そのことをはつきりさせることは類上皮細胞肉芽腫形成の機序を理解するために重要なことである。

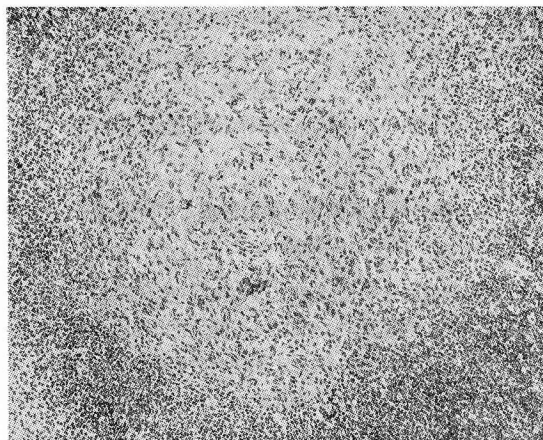
著者らは MDP による類上皮細胞肉芽腫形成は広範かつ典型的に起こるにもかかわらず、その成立にアレルギーは関与していないことを明らかにした。以下、そのことについて述べる。

### 1. MDP の抗原性

第1章2で述べたように、予期に反し、MDP 単独で類上皮細胞肉芽腫が形成されるのが見られたとき、MDP 自身が抗原性をもっているため、MDP に対するアレルギー反応が成立し、そのため類上皮細胞肉芽腫が形成されたのであると思われた。このことは、ペプチドグリカンは抗原性をもっていることが分かっているため、当然予想された。しかし、MDP の抗原性は何回試みても証明されなかつた。たとえば、MDP、結核菌細胞壁、あるいは結核菌それぞれ 100  $\mu\text{g}$  を油中水型エマルジョンの形で、モルモットの足うらに注射し、3週後に 100  $\mu\text{g}$  の MDP により皮内反応を行なつたが、皮内反応は陰性で、また MDP に対する抗体も検出できなかった<sup>4)</sup>。しかし、この過程で最後にふれる特有の壊死性炎の誘起の事実が見出された。

### 2. 胸腺摘出ラットにおける MDP 類上皮細胞肉芽腫形成

上記のように、MDP の抗原性が検出できないことから、著者らは MDP による類上皮細胞肉芽腫形成には、アレルギーは関与しないのではないかと考え始めた。こ



MDP 100 $\mu$ g 足うら注射2週後の局所リンパ節の組織像。×100

図13 新生児胸腺摘出ラットにおける MDP 類上皮細胞肉芽腫形成

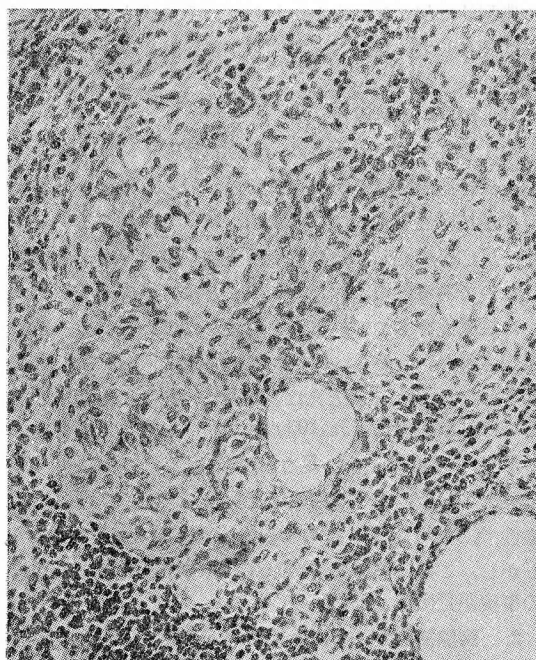
のことを確かめるために新生児胸腺摘出ラットを用いた。詳細はすでに発表した<sup>37)</sup>が、WKA ラットの新生児の胸腺を生後24時間以内に摘出し、生後8週目に、MDP と卵白アルブミンを抗原として、エマルジョンの形で足うらに注射したところ、卵白アルブミンに対する皮内反応はほとんど陰性であつたが、局所リンパ節は腫脹し、コントロールと量的、質的に区別できない広範な類上皮細胞

肉芽腫の形成が認められた(図13)。

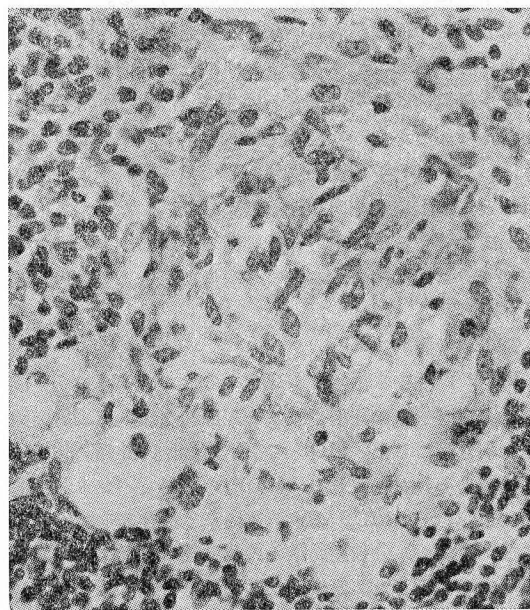
更に上記のように MDP と蛋白抗原を注射された新生児胸腺摘出ラットに、念のため、ウサギであらかじめ作製された抗ラット胸腺細胞抗血清を、正常ラットの皮内反応の発現を十分に抑制する量(1 ml $\times$ 3)注射してしらべた。これら処置により、蛋白抗原に対する皮内反応は完全に抑制されたが、類上皮細胞肉芽腫の形成は全く影響を受けなかつた。同様に、新生児胸腺摘出を受け、抗胸腺細胞抗血清を注射されたラットに MDP を単独注射したところ、同様の類上皮細胞肉芽腫の形成がみられた(図14)。

### 3. 先天性無胸腺ラット(ヌードラット)における類上皮細胞肉芽腫形成

先天性に胸腺が欠損しているヌードマウスは、T細胞機能を欠く免疫不完全動物として、免疫実験によく使われている。著者らは MDP がヌードマウスで類上皮細胞肉芽腫を形成するかどうかを調べた。その結果、油中水型エマルジョンのみを注射された対照群ヌードマウスの局所リンパ節に生じた異物肉芽腫と、MDP 注射群の肉芽腫との間にほとんど差はみられなかつた。つまり、MDP はヌードマウスで典型的な類上皮細胞肉芽腫を形成しなかつた。その後、種々の系統の正常のマウス(C 57 BL, C 3 H, CFI, DDD)において、油中水型エマルジョンの形で注射された結核菌ですら、典型的な類上皮



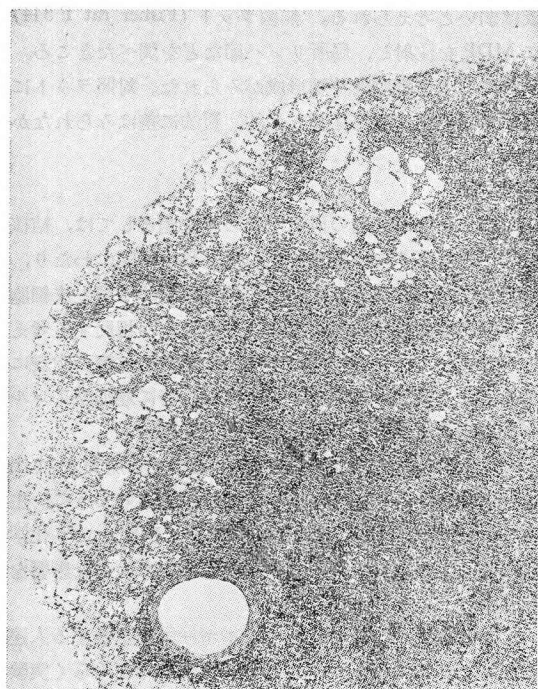
A



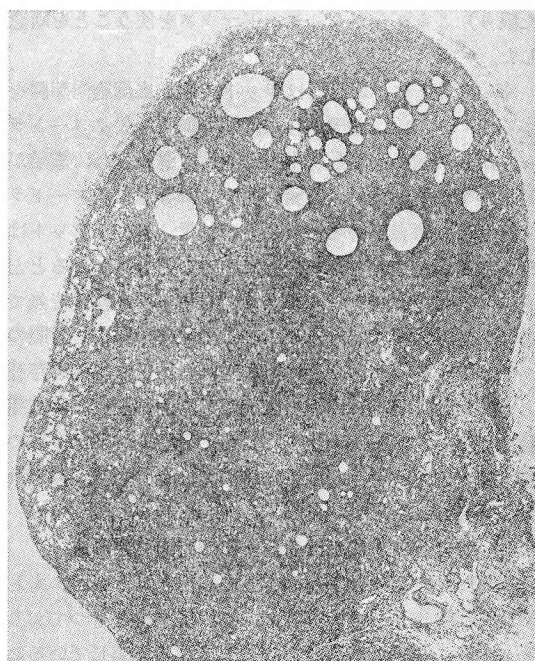
B

新生児胸腺摘出後8週目に抗胸腺細胞抗血清(3 ml)を連続3日間投与し、直後に MDP (100 $\mu$ g) をエマルジョンの形で足うらに注射。2週後の組織像。類上皮細胞肉芽腫の形成がみられる。A,  $\times$ 200; B,  $\times$ 500

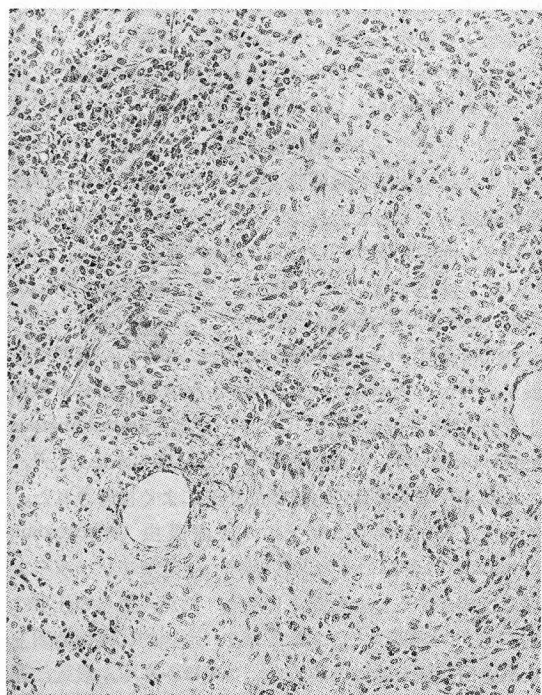
図14 新生児胸腺および抗胸腺細胞抗血清注射ラットにおける MDP 肉芽腫形成



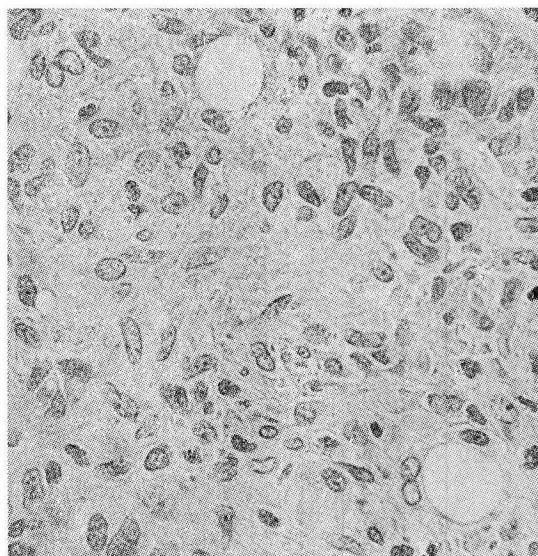
A



B



C



D

注射方法については図13参照。

A: 油中水型エマルジョンのみ,  $\times 70$

B: MDP  $100\mu\text{g}$  + 油中水型エマルジョン,  $\times 20$   
リンパ節のほとんど全体が肉芽腫によつて占められている。

C: MDP  $100\mu\text{g}$  + 油中水型エマルジョン,  $\times 200$

D: MDP  $100\mu\text{g}$  + 油中水型エマルジョン,  $\times 600$   
類上皮細胞肉芽腫であることがわかる。

図15 スードラットにおける MDP 肉芽腫形成



細胞肉芽腫を作りにくい（少なくとも我々が光顕で調べた限り）ことが分かり、ヌードマウスを使うことを断念した。

幸いなことに、MDP はラットで類上皮細胞肉芽腫を作るが、3年前に英国から先天的に胸腺を欠くヌードラットが我が国の実験動物中央研究所に導入され、繁殖が始まつており、野村、斎藤両先生の御好意で、ヌードラットを使う機会が得られた。その結果、ヌードラットは確かにT細胞機能を全く欠いていることを確かめるとともに（フィトヘモアグチニンに対する反応性が皆無であった）、MDP はヌードラット (rnu/rnu) に、対照のヘテロラット (rnu/+) に形成された類上皮細胞肉芽腫と全く質的、量的に同等の広範な典型的類上皮細胞肉芽腫を作ることがわかった<sup>38)</sup>。ただ、局所リンパ節全体の腫大は、対照ヘテロラットにおいて、より著明にみられた（図15、16）。

#### 4. 無菌ラットにおける類上皮細胞肉芽腫形成

MDP の抗原性は上記のように検出されないが、もしMDP が検出されない程度に、弱い抗原性をもっており、それが類上皮細胞肉芽腫形成にある役割を演じているならば、無菌ラットではMDP による類上皮細胞肉芽腫形

成は弱いと考えられる。無菌ラット (Fisher rat F 344) にMDP を注射し、局所リンパ節などを調べたところ、広範に類上皮細胞肉芽腫形成がみられた。対照ラットにおける類上皮細胞肉芽腫と量的、質的に差はみられなかった。

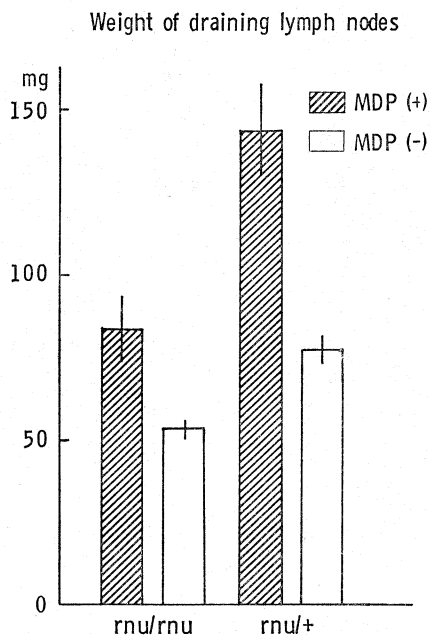
#### 考 察

類上皮細胞肉芽腫の研究のための主題としては、結核結節が最も多く取り扱われた。過去数十年間にわたり、膨大な文献が蓄積されている。結核における類上皮細胞肉芽腫形成の機序に関して、二つの大きな相反する考え方が存在してきた。一つは上記のように結核菌の脂質によるとする説で、他方はアレルギー、特に遅延型アレルギーによるとする説である<sup>1)~3)</sup>。

今世紀初めから、‘結核菌病巣’をつくる脂質が抽出され、1928年から1950年前半までは、上述のように、主に Anderson, Sabin らによるフチオン酸説という化学説が強く主張され、多くの人々の考え方に大きな影響を与えた。

しかし、これに対して、アレルギー説を主張する人達もはじめからあつた。有名な Koch 現象はおそらく実験肉芽腫の最初のものと思われるが、それはアレルギー現象を示唆していた。Krause と Peters は、1920年結核感染モルモットに同じ菌を注射すると、結節形成が早められることを観察した<sup>39)</sup>。Krause は、1925年、ツベルクリン蛋白に対するアレルギーは常に結核結節の成立を通してのみ可能であると述べた<sup>40)</sup>。Dienes と Mallory は、1937年、モルモットに結核菌を感染させた場合、ツベルクリン反応の出現と化膿性炎症から肉芽腫への移行が密接に関連することを認めた<sup>41)</sup>。1950年代から1970年代にかけて、両説は依然として入り乱れて主張された。Rich, Lurie らは化学説（リビド説）をとり、Boyden, Spector, Reid らはアレルギー説をとつた<sup>2)</sup>。

1950年後半から1960年代おわりにかけて、重要な発展があつた。Epstein らはジルコニウムによるヒトの類上皮細胞肉芽腫形成がアレルギー反応 (granulomatous hypersensitivity) を必要とすることを明らかにした<sup>3)</sup>。この類上皮細胞肉芽腫形成は形態的によく検討された。次いで、Warren らはマンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) の卵がつくる肉芽腫が、遅延型アレルギーを通して成立することを確立した<sup>2)</sup>。ただ、彼らの仕事は主にマウスを使つてなされており、形態的に典型的類上皮細胞肉芽腫とはいいいにくい。このほかにも、最近、遅延型アレルギーが類上皮細胞肉芽腫形成を促進するという報告が多数発表された<sup>42)~45)</sup>。したがって、Boros は最近の総説の中で、過去の化学説とアレルギー説の間の論争には決着がついたと述べ、アレルギー説をとつた<sup>2)</sup>。このように、最近の傾向はアレルギー説に強く傾いている。



ヌードラット rnu/rnu と rnu/+ ラットの足うらに油中水型エマルジョンを注射し、2週後にリンパ節を摘出し、その重量を示す。MDP(+) は油中水型エマルジョンにMDP(100 $\mu$ g) 添加群、MDP(-) は油中水型エマルジョンのみの群を示す。

図16 MDP 投与によるヌードラットと rnu/+ ラットのリンパ節の重量変化



しかし、はたして類上皮細胞肉芽腫はアレルギー反応を必ず必要とするのであろうか。従来の報告をみると、厳密にアレルギー反応が成立しえない条件下で、類上皮細胞肉芽腫が形成されたとの報告はない。Spector らはマクロファージが類上皮細胞に変換するのにアレルギー反応は必要でないことを、セロファン膜に付着したマクロファージをX線照射マウスの体内に挿入して観察することにより見出した<sup>46)</sup>。In vitro の系でマクロファージを培養すると、数日中にマクロファージは類上皮細胞へ変化するとの報告もなされた<sup>36)</sup>。しかし、これらは類上皮細胞の発生をみているのであつて、類上皮細胞肉芽腫の形成をみているのではない。胸腺摘出マウス、胸腺摘出ラット、ヌードマウスに肉芽腫を形成したとの報告もなされている<sup>47)49)</sup>。しかし、抗原性をもつた菌体あるいは菌体成分が使われており、できた肉芽腫は類上皮細胞肉芽腫ではない。このように、従来一応アレルギー反応が関与しないと思われる条件下で肉芽腫が形成されたとの報告はあるが、詳細に検討すると、アレルギー反応が成立しえない条件下で類上皮細胞肉芽腫が形成されたとの報告はない。

したがって、アレルギー反応が関与しないでも類上皮細胞肉芽腫が形成されうということを明らかにした点で、本研究は最初の報告であると思われる。MDP の抗原性は何回調べても検出できず、このことは Audibert らによつても報告されている<sup>50)</sup>。0.1 マイクログラムの MDP をエマルジョンの中に入れて注射すると、広範に類上皮細胞肉芽腫ができるが、全く同じ条件で 100  $\mu$ g までの種々の量の MDP を注射してもモルモットは MDP に対し全くアレルギー反応を示さなかつた。結核菌で感作しても MDP に対するアレルギー反応は認められなかつた。この抗原性のない MDP が、胸腺摘出と抗血清処理により後天的に T 細胞機能が除かれたラットおよび先天的に T 細胞機能が欠損しているヌードラットに、それぞれの対照群に形成された類上皮細胞肉芽腫と量的、質的に変わらない類上皮細胞肉芽腫を形成した。これらのことは、MDP による類上皮細胞肉芽腫形成に、アレルギー反応は必要でないことを示している (B 細胞が MDP のマイトジェン作用でリンフォカインを出している可能性は否定できないが、もしそのようなメカニズムが働いていても、それはアレルギーとはいえない。また、後述のように、T, B 細胞の除去は MDP によるマクロファージの活性化に全く影響しなかつた)。このように、アレルギー反応がなくても典型的類上皮細胞肉芽腫は形成されることが示されたことは、類上皮細胞肉芽腫疾患の理解のために重要な知見と思われる。上述のように、最近類上皮細胞肉芽腫形成のアレルギー説を述べた Boros は、ごく最近、著者あての私信で、著者らの仕事にふれ "Recent progress may have shown that it

is the degree of activation of macrophage, rather than the state of the delayed hypersensitivity which is decisive for epithelioid cell formation."と書いて来た。彼はこのように、次章に述べる著者らの考えを含め、著者らの主張をかなり認めたと思われ、そのことを公にも述べている<sup>50a)</sup>。

## 第2章の要約

1. MDP の抗原性は検出されない。
2. MDP は抗胸腺細胞抗血清を注射した新生児胸腺摘出ラットにおいて、コントロールと変わらない広範な類上皮細胞肉芽腫を形成した。
3. MDP はヌードラットにコントロールの正常ラットにおけるものと同様の広範な類上皮細胞肉芽腫を形成した。
4. MDP は無菌ラットに類上皮細胞肉芽腫を形成した。

以上のことは、MDP により誘起される類上皮細胞肉芽腫の形成に、アレルギー反応は関与していないことを示している。

(編集の都合で前・後編の2編に分けたが図・表・文献は全編にわたる通し番号とした)。

## 文 献

- 1) Adams, D. O.: Am J Pathol, 84 : 164, 1976.
- 2) Boros, D. L.: Prog Allergy, 24 : 183, 1978.
- 3) Epstein, W. L.: Prog Allergy, 11 : 36, 1967.
- 4) Emori, K. and Tanaka, A.: Infect Immun, 19 : 613, 1978.
- 5) Tanaka, A. and Emori, K.: Am J Pathol, 93 : 733, 1980.
- 6) Chedid, L. et al.: Prog Allergy, 25 : 63, 1978.
- 7) 岩井和郎: 結核, 51 : 293, 1976.
- 8) 岡部 実他: 結核, 55 : 435, 1980.
- 9) Tanaka, A. et al.: Sarcoidosis ed. Mikami, R., Hosoda, Y., University of Tokyo Press, Tokyo, p. 131, 1980.
- 10) Kusumoto, S. et al.: Tetrahedron letters, 49 : 4899, 1978.
- 11) Asselineau, J.: Les lipides bactériens, Herman, Paris, 1962.
- 12) Goren, M. B. and Brennan, P. J.: Tuberculosis ed. Youmans, G. P., W. B. Saunders Co., Philadelphia, p. 72, 1979.
- 13) Takeya, K. et al.: Biochim Biophys Acta 30 : 197, 1958.
- 14) Goren, M. B. and Brennan, P. J.: Tuberculosis ed. Youmans, G. P., W. B. Saunders Co., Philadelphia, p. 70, 1979.
- 15) Kotani, S. et al.: Biken J, 6 : 181, 1963.
- 16) 田中 渥: 結核, 50 : 25, 1975.
- 17) Raffel, S.: Experientia, 6 : 410, 1950.
- 18) White, R. G. et al.: Immunol, 7 : 158, 1964.
- 19) Tanaka, A. and Kitagawa, M.: Biochim Biophys

- Acta 98 : 182, 1965.
- 20) Tanaka, A. et al.: *Int Arch Allergy*, 28 : 340, 1965.
  - 21) 石橋凡雄: 九大胸研紀要, 10 : 1, 1965.
  - 22) 小谷尚三: 生化学, 48 : 1081, 1976.
  - 23) 東 市郎: 最新医学, 30 : 14, 1975.
  - 24) Auclair, J.: *Arch Méd Exp*, 12 : 198, 1900.
  - 25) Sabin, F.R.: *Phys Rev* 12 : 141, 1932.
  - 26) Hussein, H. and Elberg, S.: *Am Rev Tuberc*, 65 : 655, 1952.
  - 27) Ungar, J.: *Experimental Tuberculosis* ed. Wolstenholme GEW, J & A Churchill Ltd, London p. 69, 1955.
  - 28) Choucroun, N.: *Compt Rend Acad Sci*, 210 : 511, 1940.
  - 29) Delaunay, A. et al.: *Compt Rend Soc Biol*, 145 : 650, 1951.
  - 30) White, R. G. et al.: *Immunol*, 1 : 54, 1958.
  - 31) 安平公夫: 結核, 44 : 273, 1969.
  - 32) 田中 渥: 結核, 47 : 279, 1972.
  - 33) Tanaka, A.: *Biochim Biophys Acta*, 70 : 483, 1963.
  - 34) Mokhtar, N. and Spector, W. G.: *J Pathol*, 128 : 117, 1979.
  - 35) Papadimitriou, J. M. and Spector, W. G.: *J Pathol*, 105 : 187, 1971.
  - 36) Satton, J. S. and Weiss, L.: *J Cell Biol*, 28 : 303, 1966.
  - 37) Nagao, S. et al.: *Infect Immun*, 34 : 993, 1982.
  - 38) Tanaka, A. et al.: *Am J Pathol*, 106 : 165, 1982.
  - 39) Krause, A. K. and Peters, D.: *Am Rev Tuberc*, 4 : 551, 1920.
  - 40) Krause, A. K.: *Am Rev Tuberc*, 11 : 343, 1925.
  - 41) Diens, L. and Mallory, T. B.: *Am J Pathol*, 13 : 897, 1937.
  - 42) Byram, J. E. et al.: *Am J Pathol*, 94 : 201, 1979.
  - 43) Kasdon, E. J. and Schlossman, S. F.: *Am J Pathol*, 71 : 365, 1973.
  - 44) McGee, M. P. et al.: *J Reticuloendothel Soc*, 24 : 253, 1978.
  - 45) Unanue, E. R. and Benacerraf, B.: *Am J Pathol*, 71 : 349, 1973.
  - 46) Spector, W. K.: *Pathol Annu*, 4 : 33, 1974.
  - 47) Amsden, D. F. et al.: *Infect Immun*, 27 : 75, 1980.
  - 48) Heymer, B. et al.: *Beitr Pathol*, 156 : 128, 1975.
  - 49) Rothwell, T. L. and Spector, W. G.: *J Pathol*, 108 : 15, 1972.
  - 50) Audibert, F. et al.: *J Immunol*, 121 : 1219, 1978.
  - 50a) Boros, D. L.: *Basic and Clinical Aspects of granulomatous diseases*, Eds. D. L. Boros and T. Yoshida, Elsevier/North-Holland, p. 1~p. 17, 1980.