原 著

マウス実験的 *Mycobacterium avium* 感染症に対する
ベンゾキサジノリファミン KRM-1648, クラリスロマイシン
およびレボフロキサシンの *in vivo* 治療効果: 非ステロイド抗炎症剤
ジクロフェナク Na 投与の影響

赤木 竜也** · 佐藤 勝昌
清水 利朗 · 富岡 治明

島根医科大学微生物・免疫学
同 皮膚科**

河 原 伸

国立療養所南岡山病院内科

受付 平成9年3月17日

受理 平成9年5月29日

IN VIVO ACTIVITIES OF BENZOXAZINORIFAMYCIN KRM-1648,
CLARITHROMYCIN, AND LEVOFLOXACIN, OR COMBINATION OF KRM-1648
WITH DICLOFENAC SODIUM AGAINST *MYCOBACTERIUM AVIUM*
INFECTION INDUCED IN MICE

Tatsuya AKAKI, Katsumasa SATO, Toshiaki SHIMIZU, Haruaki TOMIOKA*,
and Shin KAWAHARA

(Received 17 March 1997/Accepted 29 May 1997)

We evaluated the *in vivo* therapeutic activities of benzoxazinorifamycin KRM-1648, clarithromycin (CAM) and levofloxacin (LVFX) against *Mycobacterium avium* infection induced in mice. Mice infected intravenously with *M. avium* (1.4×10^7) were given KRM-1648 (20mg/kg), CAM (10mg/kg), or LVFX (5 mg/kg) alone, or combination of KRM-1648 with diclofenac sodium (1.25mg/kg) by gavage, once daily, five times per week, from day 1 for up to 8 weeks. The bacterial loads in the lungs and spleens were determined by counting colony forming units of the organisms in the tissue homogenates of the visceral organs using 7H11 agar plates. Both KRM-1648 and CAM caused significant levels of bacteriological response in mice treated with these drugs, while LVFX exerted no appreciable therapeutic effect. The therapeutic efficacies of test antimicrobials were in the order, KRM-1648 > CAM >> LVFX. The combined use of diclofenac sodium with KRM-

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumino, Shimane 693 Japan.

1648 did not affect the expression of therapeutic activity of KRM-1648. This excludes the possibility that cyclooxygenase-dependent inflammatory reactions may be involved in the establishment of persistent bacterial growth of *M. avium* organisms at the sites of infection in mice. Furthermore, the present study showed that the parameters of *in vitro* antimicrobial activities of drugs such as MIC and MBC values are not useful in predicting their therapeutic outcome in *M. avium*-infected mice.

Key words : *Mycobacterium avium*, KRM-1648, clarithromycin, levofloxacin, diclofenac Na

キーワーズ : *Mycobacterium avium*, KRM-1648, クラリスロマイシン, レボフロキサシン, ジクロフェナク Na

はじめに

抗酸菌特に *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染マウスの化学療法経過中には、たとえ感染初期には有効性が認められ、同菌が一過性に減少したとしても、感染2~4週以降になると、単剤投与のみならず多剤併用投与においても菌の再増殖が認められることが多い^{1) 2)}。

先にわれわれは、*Mycobacterium intracellulare* 感染マウスの化学療法経過中にみられる菌の再増殖について、免疫学的観点、特に IL-10 や transforming growth factor- β (TGF- β) などの Th2 タイプの炎症性サイトカイン^{3)~6)} とのかかわりの面から検討した^{7) 8)}。

その結果、(1) MAC 感染マウスの肺ならびに脾内での IL-10 および TGF- β レベルは、マクロファージ (M ϕ) 活性化サイトカインである TNF- α や IFN- γ の組織内レベルの上昇と並行するか、やや遅れて一過性に上昇するが、これらの抑制性サイトカイン、特に TGF- β の組織内レベルの上昇と感染菌の再増殖の時期とがよく一致していること、また、(2) TGF- β および IL-10 はいずれもヒト単球の抗 MAC 抗菌活性を down-regulate する作用を有することが分かった。以上の成績は、TGF- β や IL-10 をはじめとする炎症性サイトカインが、感染部位での M ϕ や Th1 細胞からの TNF- α あるいは IFN- γ などの M ϕ 活性化サイトカインの産生を down-regulate することによって、組織内での MAC 感染菌の再増殖を誘導している可能性を示唆している。

またわれわれは、別途行った検討により、ジクロフェナク Na やロキソプロフェンなどの非ステロイド抗炎症剤 (NSAID)、あるいはデキサメサゾン、リン酸パラメタゾン、リン酸ヒドロコルチゾンやコハク酸ヒドロコルチゾンなどのステロイド抗炎症剤が、MAC 菌体で刺激された培養 M ϕ からの TGF- β 産生を抑制すること

を見だしている (論文投稿中)。

そこで今回は、実験的マウス *M. avium* 感染モデル系を用いて、ベンゾキサジノリファマイシン KRM-1648、クラリスロマイシン (CAM) およびレボフロキサシン (LVFX) の *in vivo* 治療効果について検討するとともに、特に KRM-1648 の治療効果発現に及ぼす抗炎症剤ジクロフェナク Na^{9) 10)} 投与の影響についても若干の検討を加えた。

材料と方法

1) 供試菌 : *M. avium* N-444 株 (血清型 8) を主に用いた。なお、本菌株は MAC 患者よりの臨床分離株であり、われわれがこれまでに調べた血清型 8 および 9 の *M. avium* 計 7 株中ではマウスに対して最も強いビルレンスを示している¹¹⁾。また一部の実験には、*M. intracellulare* N-260 株 (血清型 16) を用いた。

2) 供試薬剤 : KRM-1648 (鐘淵化学工業), CAM (大正製薬), LVFX (第一製薬) およびジクロフェナク Na (ポルタレン : 日本チバガイギー) を 2.5% アラビアゴム加 0.2% Tween 80 水 (0.1ml) に懸濁させたものを後の実験に用いた。

3) 供試薬剤の *in vitro* 抗 MAC 抗菌活性 : 既報の方法¹²⁾ により、Middlebrook 7H11 寒天培地を用いた寒天希釈法で MIC 値を求めるとともに、7HSF 液体培地 (7H11 寒天とほぼ同じ組成) 中で MBC 値を測定した。

4) マウス腹腔 M ϕ 内食 MAC 菌に対する抗菌作用 : 既報の方法¹³⁾ に準じて測定した。すなわち、5% peptone-5% starch 溶液 2ml を BALB/c 系雌マウス (8~12 週齢) の腹腔内へ投与し、4 日後に 2% 牛胎児血清 (FBS) (Bio Whittaker 社, 米国) を加えた Hanks 氏液 (HBSS) で腹腔浸出細胞を採取した。同緩衝液で遠心洗浄後、得られた細胞を 5% FBS-RPMI 1640 培地 (5% FBS-RPMI) (日本製薬) に 2×10^6 細胞/ml になるように浮遊させ、その 0.5ml を 16mm 径の培養ウェル (24-Well : Falcon Glass Works 社, 米国)

にまき、5% CO₂下37℃で2時間培養後、2% FBS-HBSSでの洗浄により非付着性細胞を除去して得られたプラスチック付着性細胞画分をMφとして用いた。

このMφ細胞に*M. intracellulare* N-260株 (MIC: KRM=0.05 μg/ml, CAM=6.25 μg/ml, LVFX=25 μg/ml; MBC: KRM=1.0 μg/ml, CAM=16 μg/ml, LVFX=32 μg/ml) の5% FBS-RPMIによる菌浮遊液 (4×10⁶ CFU/ml) の0.5mlを加え、5% CO₂下37℃で2時間培養後、非貪食菌を2% FBS-HBSSで洗浄し除去した。これに0.05~1.0 μg/mlのKRM, CAMあるいはLVFXを含む5% FBS-RPMI培地1mlを加え、さらに5日間の培養を行った。

所定時間後に培養液を除去し2% FBS-HBSSで洗浄した後、これに0.25% SDS (4容)・7H9培地 (11容)の混合液0.6mlを加え10分間静置してMφを溶解させた。これをあらかじめ0.2mlの20%牛血清アルブミン加リン酸緩衝食水を入れた試験管へ移しSDSを中和した後、得られたMφ cell lysate中の生菌単位を7H11寒天平板上での37℃、6日間の培養後に計測した。

5) マウス実験的MAC感染: BALB/c系雌マウス (5週齢)に*M. avium* (SmT集落株)の1.4×10⁷を静脈内感染させ、翌日より臨床投与量相当のKRM-1648 (20mg/kg), CAM (10mg/kg), LVFX (5mg/kg)およびジクロフェナク Na (1.25mg/kg)をゾンデを用いて1日1回、週5回宛て、8週間にわたって経口投与した。所定日にマウスを屠殺・剖検し、肺ならびに脾を摘出し生理食塩水中でホモジナイズし、その還元生菌単位

(CFU)を7H11寒天平板上で計測するとともに、実験によってはこれらホモジナイズ遠心上清中の各種サイトカイン (TNF-α, IFN-γ, IL-10, TGF-β) レベルを、各サイトカインに対する捕捉抗体およびビオチン標識キャッピング抗体を用いて逆ELISA法で測定した^{7) 8)}。

結 果

1. 各種薬剤の*in vitro*抗菌活性

まず、KRM-1648, CAMおよびLVFXの*M. avium* N-444株に対する*in vitro*抗菌活性についてみたが、KRM-1648は他の2剤に比べて著しく低いMIC値 (0.025 μg/ml) およびMBC値 (1.0 μg/ml) を有していた。次いで、CAMが中等度のMIC値 (6.25 μg/ml) を示したが、そのMBC値 (32 μg/ml) はKRM-1648と比較して著しく高く、LVFXのそれと同等であった。またLVFXのMIC値は25 μg/mlと高く、供試菌株はLVFXに対して中等度耐性であると考えられた。なお詳しい成績は省くが、別途行った実験でKRM-1648, CAMおよびLVFXを0.1 μg/mlで培地中に添加した場合のMφ内貪食MAC菌 (*M. intracellulare*) に対する各薬剤の抗菌活性についてみたところ、KRM-1648とCAMでは各々98および86%増殖阻害がみられるのに対して、LVFXでは有意な抗菌活性は認められないことが分かった。

2. *M. avium* 感染マウス肺内生菌数の推移に及ぼす各種薬剤の影響

Table 1は、*M. avium* N-444株感染に対する各種

Table 1 Changes in the bacterial loads in the lungs of *M. avium*-infected mice given or not given KRM-1648, CAM, LVFX or diclofenac sodium alone, or combination of KRM-1648 with diclofenac sodium

Drug	Dose (mg/kg)	Log CFU/lungs (mean ± SEM; n=4) ^{a)}		
		2W	4W	8W
None	—	3.97 ± 0.14	4.85 ± 0.16	5.82 ± 0.05
KRM-1648	20	3.79 ± 0.07	2.88 ± 0.33 ^{b)}	4.41 ± 0.18 ^{b)}
CAM	10	4.12 ± 0.16	4.60 ± 0.19	4.72 ± 0.31 ^{b)}
LVFX	5	3.99 ± 0.07	4.94 ± 0.08	5.95 ± 0.05
Diclofenac Na	1.25	4.38 ± 0.03	4.20 ± 0.09 ^{b)}	5.76 ± 0.03
KRM-1648 + Diclofenac Na	20/1.25	3.68 ± 0.13	3.75 ± 0.37 ^{b)}	4.22 ± 0.04 ^{b)}

a) The Log CFU value for day 1 was 4.32 ± 0.04.

b) Significantly different from the value of untreated control mice ($P < 0.05$; Student's *t* test).

抗菌剤の治療効果, ならびに KRM-1648 の *in vivo* 抗菌活性発現に及ぼすジクロフェナク Na の効果を, 感染マウスの肺内生菌数の推移を指標としてみたものである。先の報告⁷⁾と同様に, この実験でも, 感染 2 週目に菌の一過性の減少がみられ, 以後は増殖が認められた。供試抗菌剤のなかでは, KRM-1648 が最も優れた治療効果を示しており, 例えば本剤投与群マウスの 8 週後の肺内生菌数では非投与対照群のそれに比べて約 1.4 log unit の減少を認めた。次いで CAM の治療効果がやや優れており, 約 1.1 log unit の肺内生菌数の減少が認められている。しかしながら, いずれの薬剤の投与によっても菌の増殖は完全には阻止されず, 4~8 週では感染菌数の有意な増加傾向が認められた。なお LVFX には, いずれの時期においても有意な *in vivo* 抗菌活性の発現は認められなかった。

またジクロフェナク Na は, KRM-1648 と併用した場合でも, KRM-1648 の *in vivo* 抗菌活性に有意な影響を及ぼしてはならず, NSAID の投与による抗炎症作用は KRM-1648 の治療効果の発現を特に修飾するものではないことが分かった。なお, ジクロフェナク Na はその単独投与では, 感染 2 週目では肺内生菌数の若干の増加を, また 4 週目では逆に減少を来したが, 感染 8 週までの推移はおおむね非投与対照群のそれとほぼ同様であり, 本剤は感染菌の肺内増殖には特に有意な影響に及ぼさないものと考えられた。

3. *M. avium* 感染マウスの脾内生菌数の推移に及ぼす各種薬剤の影響

Table 2 は, *M. avium* N-444 株感染マウスに対する供試抗菌剤の治療効果, ならびに KRM-1648 の活性発現に及ぼすジクロフェナク Na 併用投与の影響について, 感染マウスの脾内生菌数の推移を指標としてみたものである。各薬剤の治療効果は肺内生菌数を指標とした場合 (Table 1) に比べてやや劣る傾向が認められた。なお, この傾向は特に感染 4 週後の成績で顕著であった。

先の肺内生菌数を指標とした場合の成績と同様に, 供試抗菌剤のなかでは KRM-1648 が最も優れた治療効果を有しており, 本剤投与群マウスの 8 週後の脾内生菌数には非投与対照群のそれに比べて約 1.2 log unit の減少がみられた。次いで, CAM がやや優れた治療効果を示し, 約 1.1 log unit の生菌数の減少が認められている。なお, LVFX にはいずれの時期においても有意な *in vivo* 抗菌活性の発現は認められなかった。また, KRM-1648 とジクロフェナク Na とを併用投与したマウスでは KRM-1648 単独投与群に比べて, 感染 2 および 4 週での脾内生菌数の若干程度の減少が認められたものの, 総じてジクロフェナク Na は KRM-1648 の *in vivo* 抗菌活性の発現に有意な影響を与えなかった。なお, ジクロフェナク Na 単独投与群マウスでの脾内生菌数の推移は非投与対照群のそれと変わるところはなかった。

なお, *M. avium* N-444 株感染マウスの肺および脾での IFN- γ , IL-10 および TGF- β の組織レベルの変動についてみたところ, TGF- β については感染 6 週以降に脾での上昇傾向が認められたものの (感染 8 週で $1.38 \pm 0.14 \text{ nM}$; 正常マウスの約 1.6 倍), 肺内 TGF- β

Table 2 Changes in the bacterial loads in the spleens of *M. avium*-infected mice given or not given KRM-1648, CAM, LVFX or diclofenac sodium alone, or combination of KRM-1648 with diclofenac sodium

Drug	Dose (mg/kg)	Log CFU/spleen (mean $\pm$ SEM; n=4) ^{a)}		
		2W	4W	8W
None	—	6.97 $\pm$ 0.27	7.28 $\pm$ 0.09	7.94 $\pm$ 0.06
KRM-1648	20	6.40 $\pm$ 0.07	6.40 $\pm$ 0.04 ^{b)}	6.73 $\pm$ 0.05 ^{b)}
CAM	10	6.84 $\pm$ 0.17	6.80 $\pm$ 0.09 ^{b)}	6.85 $\pm$ 0.16 ^{b)}
LVFX	5	6.94 $\pm$ 0.07	7.24 $\pm$ 0.16	8.12 $\pm$ 0.26
Diclofenac Na	1.25	7.02 $\pm$ 0.03	7.25 $\pm$ 0.03	7.81 $\pm$ 0.09
KRM-1648 + Diclofenac Na	20/1.25	6.25 $\pm$ 0.17	5.91 $\pm$ 0.28 ^{b)}	6.65 $\pm$ 0.07 ^{b)}

a) The Log CFU value for day 1 was 6.03 ± 0.12 .

b) Significantly different from the value of untreated control mice ($P < 0.05$; Student's *t* test).

レベルあるいは肺・脾内 IFN- γ ・IL-10 レベルについては特に有意な変動はみられなかった。また *M. avium* 感染 8 週目でみられた脾内 TGF- β レベルの増加は CAM や KRM の投与により各々 75% および 92% 阻害を受けることが分かった。さらに、ジクロフェナク Na 投与によっても軽度の抑制 (45% 阻害) が認められた。

考 察

今回は、*M. avium* 感染マウスに対する KRM-1648, CAM および LVFX 投与の治療効果を宿主マウスの感染臓器での bacterial load の推移を指標として検討した。これらの薬剤の *in vivo* 活性は KRM-1648 > CAM >> LVFX の順であり、この成績をそれらの MIC 値 (7H11 培地での寒天希釈法) と比較してみると、CAM (MIC=6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) や LVFX (MIC=32 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ではその治療効果との間におおむね相関がみられるのに対して、KRM-1648 では著しく低い MIC 値 (0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$) にもかかわらず、期待されるほどの *in vivo* 治療効果は得られていない。このことは MBC 値についても当てはまるので、MIC や MBC などの *in vitro* 抗菌力のパラメーターは現時点では供試薬剤の *in vivo* 治療効果の推定には不十分であると言える。

他方、マウス腹腔 M ϕ 内に貪食された MAC 菌に対するこれらの薬剤の *in vitro* 抗菌活性について比較したところ、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (=0.02MIC) の CAM は、同じ 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (=2MIC) の KRM-1648 とほぼ同等の抗菌力を示すことが分かった。このことは、CAM は MIC の濃度換算では KRM-1648 の 1/100 という低濃度でも M ϕ 貪食 MAC 菌に対して KRM-1648 に匹敵するほどの抗菌活性を発揮し得ることを示している。この成績は、あるいは M ϕ 内の特に phagosome や phagolysosome など MAC 菌が局在する部位への CAM と KRM-1648 との移行性の差異に起因するものかも知れない。したがって、供試薬剤の *in vivo* 治療効果の推定に適したパラメーターを得るには、供試薬剤の薬物動態、特に血中濃度および感染臓器への移行性、あるいは M ϕ への取り込みとその細胞内局在といった要素を考慮に入れての M ϕ 内貪食 MAC 菌に対する抗菌活性の測定が必要になるものと考えられる。

難治性感染症としての抗酸菌症の特異な病像を規定するものは、おおむね MAC を含む抗酸菌の持つ極めて強い M ϕ 内殺菌抵抗性と免疫原性の 2 つであり、その結果、誘導される Th2 タイプの抑制性サイトカインカスケードの活性化が抗酸菌感染症の難治化に重要な役割を演じているものと考えられる^{14)~18)}。TGF- β や IL-10 などの抑制性サイトカインは M ϕ の過剰な活性化に連動して産生される性質のものであるので^{19)~21)}、感

染部位における特に遅延型過敏症反応に起因した炎症を何らかの方法で軽減することができれば、このような抑制性サイトカインカスケードのいたずらな活性化をある程度は制御することが可能になるものとも考えられる。このような観点に立ち、今回は KRM-1648 による *M. avium* 感染マウスの治療に、強力な NSAID の一つであるジクロフェナク Na^{9) 10)} を併用投与する試みを行ったが、Table 1 および 2 に示したように、KRM-1648 の治療効果は、ジクロフェナク Na 投与によっては特に影響を受けなかった。しかし、別の実験では、ジクロフェナク Na には感染 8 週目でみられる脾内 TGF- β レベルの上昇に対する抑制作用が認められている。こうした成績を勘案すると、必ずしも感染部位における組織内 TGF- β レベルのみが、*M. avium* に対する宿主抵抗性発現を制御している訳ではないものと考えられる。

すでにわれわれは、*M. intracellulare* N-260 株感染マウスでは、TGF- β のみならず IL-10 や TNF- α などのサイトカインの臓器内レベルが増加することを報告しているが^{7) 8)}、今回の成績はこれとは若干異なっている。マウスに対するビルレンスについては、*M. avium* (血清型 1~3) > *M. intracellulare* (血清型 7, 12~20) > *M. avium* (4~6, 8~11, 21) である¹¹⁾ ことを考慮すると、この相違はあるいは両菌種間のビルレンスの違いを反映したものと考えられるが、この点については現在さらに詳細な検討を進めつつある。

ま と め

マウス実験的 *M. avium* 感染症に対する KRM-1648, CAM および LVFX の *in vivo* 治療効果について検討した。臨床投与量相当の薬剤を 1 日 1 回、週 5 回ずつ、感染マウスに経口投与したところ、供試薬剤の中では KRM-1648 が最も優れた治療効果を有し、CAM がそれに次ぐ活性を示すことが分かった。しかしながら、これらいずれの薬剤の投与によっても、感染 2~4 週以後にみられる菌の増殖を阻止するには至らなかった。また KRM-1648 の治療効果が、NSAID であるジクロフェナク Na の併用投与によって特に影響を受けるような傾向は認められなかった。

なお、上記供試薬剤の MIC および MBC 値とそれらの *in vivo* 治療効果の間には密な相関は認められなかったが、各薬剤の M ϕ 内貪食 MAC 菌に対する抗菌活性についてみたところ、それらの薬剤の *in vivo* 活性をより明確に反映していることをうかがわせるような成績が得られた。

謝 辞

KRM-1648, CAM, LVFX およびジクロフェナク

Naを分与頂いた鐘淵化学工業、大正製薬、第一製薬および日本チバガイギー株式会社に深謝します。またこの研究で供試した *M. avium* N-444株および *M. intracellulare* N-260株は前任教授齋藤肇先生のご指導の下に分離されたものであり、ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Tomioka H, Saito H, Sato K, et al.: Chemotherapeutic efficacy of a newly synthesized benzoxazinorifamycin, KRM-1648, against *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36: 387-393.
- 2) Saito H, Tomioka H, Sato K: Therapeutic effect of KRM-1648 with various antimicrobials against *Mycobacterium avium* complex infection in mice. *Tuberc Lung Dis.* 1995; 76: 51-58.
- 3) Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C: Macrophage deactivation by interleukin 10. *J Exp Med.* 1991; 174: 1549-1555.
- 4) De Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo M-G, et al.: Interleukin-10. *Curr Opin Immunol.* 1992; 4: 314-320.
- 5) Wahl SM: Transforming growth factor Beta (TGF- β) in inflammation: a cause and a care. *J Clin Immunol.* 1992; 12: 61-73.
- 6) Hausmann ES, Hao S, Pace J, et al.: Transforming growth factor β 1 and gamma interferon provide opposing signals to lipopolysaccharide-activated mouse macrophages. *Infect Immun.* 1994; 62: 3625-3632.
- 7) 佐藤勝昌, 富岡治明, Win Win Maw, 他: 実験的 *Mycobacterium avium* complex 感染マウスの化学療法経過中にみられる菌の再増殖のメカニズムに関する研究 (第1報). *結核.* 1995; 70: 673-678.
- 8) Tomioka H, Sato K, Shimizu T, et al.: Effects of benzoxazinorifamycin KRM-1648 on cytokine production at sites of *Mycobacterium avium* complex infection induced in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41: 357-362.
- 9) Dinarello CA, Bishai I, Rosenwasser LJ, et al.: Fenoclofenac and diclofenac in the treatment of rheumatoid arthritis. *Br J Rheumat.* 1984; 23: 214-219.
- 10) Ku EC, Lee W, Kothari HV, et al.: The effects of diclofenac sodium on arachidonic acid metabolism. *Sem Arthritis Rheum.* 1985; 15 (Suppl. 1): 36-41.
- 11) Tomioka H, Saito H, Sato K, et al.: Comparison of the virulence for mice of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* identified by DNA probe test. *Microbiol Immunol.* 1993; 37: 259-264.
- 12) Hirata T, Saito H, Tomioka H, et al.: In vitro and in vivo activities of the benzoxazinorifamycin KRM-1648 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 2295-2303.
- 13) Saito H, Tomioka H, Sato K, et al.: In vitro antimycobacterial activities of newly synthesized benzoxazinorifamycins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35: 542-547.
- 14) Bermudez LE, Champs J: Infection with *Mycobacterium avium* induces production of interleukin-10 (IL-10), and administration of anti-IL-10 antibody is associated with enhanced resistance to infection in mice. *Infect Immun.* 1993; 61: 3093-3097.
- 15) Denis M, Ghadrian EJ: IL-10 neutralization augments mouse resistance to systemic *Mycobacterium avium* infections. *J Immunol.* 1993; 151: 5425-5430.
- 16) Bermudez LE: Production of transforming growth factor- β by *Mycobacterium avium*-infected human macrophages is associated with unresponsiveness to IFN- γ . *J Immunol.* 1993; 150: 1828-1845.
- 17) 富岡治明: 抗酸菌感染症が難治性である理由を探る. *日本細菌学雑誌.* 1995; 50: 687-701.
- 18) 富岡治明: 抗酸菌症と免疫. *臨床と微生物.* 1997; 24: 45-52.
- 19) Sieling PA, Abrams JS, Yamamura M, et al.: Immunosuppressive roles for IL-10 and IL-4 in human infection. In vitro modulation of T cell responses in leprosy. *J Immunol.* 1993; 150: 5501-5510.
- 20) Tossi Z, Young T-G, Averill LE, et al.: Induction of transforming growth factor β -1 by purified protein derivative of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995; 63: 224-228.

21) Dahl K, Shiratsuchi H, Hamilton BD, et al.:
Selective induction of transforming growth
factor β in human monocytes by lipoara-

binomannan of *Mycobacterium tuberculosis*.
Infect Immun. 1996; 64: 399-405.