

第75回総会会長講演

ヒトの結核感染における「謎」

露口 泉夫

大阪府立羽曳野病院

The 75th Annual Meeting President Lecture

RIDDLES IN HUMAN TUBERCULOUS INFECTION

*Izuo TSUYUGUCHI

*Osaka Prefectural Habikino Hospital

Tuberculosis is indeed an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. However, only a small percentage of individuals infected develops overt disease, tuberculosis whereas the infected bacilli persist alive years long within the vast majority of persons infected but remained healthy.

There are several riddles or enigmas in the natural history of *M. tuberculosis* infection in humans. Some of them are as follows:

1. What is the virulence of *M. tuberculosis*?
2. How does *M. tuberculosis* persist dormant within the host?
3. What determines the development of disease from remaining healthy after infection with *M. tuberculosis*?
4. What is the mechanism of "endogenous reactivation" of dormant *M. tuberculosis* within the host?
5. Can we expect more potent anti-TB vaccine than BCG in near future?

Most of these issues cited above remain unsolved. What is urgently needed today to answer correctly to these questions is the production of appropriate animal model of tuberculosis infection which mimics human tuberculosis. Murine TB does not reflect human TB at all.

What characterizes the mycobacterial organism is its armour-plated unique cell wall structure which is rich in lipid and carbohydrate. Cord factor or trehalose dimycolate (TDM), the main component of cell wall, has once been regarded as the virulence factor of mycobacteria. Cord factor is responsible for the pathogenesis of TB and cachexia or even death of the patients infected. However, cord factor in itself is not toxic but exerts its detrimental effect to the host through the excessive stimulation of the host's immune system to produce abundant varied cytokines including TNF- α .

*〒583-8588 大阪府羽曳野市はびきの3-7-1

*3-7-1, Habikino, Habikino-shi, Osaka 583-8588
Japan.
(Received 12 Jul. 2000)

How to evade this embarrassing effect of mycobacterial cell wall component on the host immune system seems very important for the future development of better TB vaccine than the currently used BCG.

Key words : Human TB, Natural history of TB infection, Endogenous reactivation

キーワード : ヒトの結核, 結核感染の自然史, 内因性再燃

1. はじめに

結核は *Mycobacterium tuberculosis* を起炎菌とする慢性の感染症であるが、感染から発病に至るのはせいぜい10%である。残りの90%では感染した結核菌は dormant の状態で宿主体内に留まると言われている。また、自然感染が普通、防御免疫を賦与するワクチン効果をもたらさずであるが、結核ではかえって発病の危険性を高めることになる。

このように基本的には感染症であるヒトの結核症には、まだ解明がなされていない「謎 riddle」の部分がある。それらの謎を列挙し、何が不明のまま残されているのか、それを明らかにするにはどのような手段が必要か。それが明らかにできれば結核症の病態の理解や治療・予防にどう益するところがあるかを、私なりに考えてみたいと思う。通常、感染症の記述は宿主（ヒト）側に立ってなされるものであるが、時には結核菌側に視点をおいて現象を眺める方が理解しやすい場合がある。結核菌が何を企んでそういう行動に出たのかを考えることによって、病態の理解が進み、そのことが最終的な結核の根絶に向けてのワクチン開発にも結びつくのではないかと考える。

2. 結核菌の virulence とは何か

ジフテリアや破傷風には毒素があり、それが宿主を倒すことに大きく関与している。結核菌にあってはかかる「毒素」は存在するだろうか。それがあるとして、菌体から分離して宿主に投与することにより結核症と同じような病態をつくり、宿主を死に追いやるような「毒素」を結核菌は持っているだろうか。もしそのような物質が分離精製されれば、それがワクチン開発の最もよいターゲットとなり得るはずだが。

一方、Lederberg がいみじくも記述しているように、結核の病態は宿主側のアクシデントにすぎないと¹⁾²⁾。菌体（細胞壁、脂質）の刺激に強く反応して Th1（細胞性免疫—遅延型アレルギー—関与）サイトカインを出し、過剰な反応をして空洞を作ったのであって、それは結核菌の与り知らぬことであると。従って、この遅延型アレルギーとして理解される結核病態を眺めてみれば、

宿主をそのように過敏に反応するように仕向けた菌体成分が「毒素」にあたるのかもしれない。しかし、宿主の免疫系を駆動させての「受身の毒素」である。これは結核菌の「病原性」の説明にはよいのかもしれない。

古くより結核菌の細胞壁成分 cord factor (TDM, trehalose 6, 6' dimycolate) が結核の毒性、病原性に関係すると言われてきた³⁾。最近 Glickman らは Koch が記載した蛇のような紐形成 (serpentine cord)⁴⁾ が virulence と宿主内での長期生存 (persistence) に関係していること、それはミコール酸合成に必要な1個の酵素 cyclopropane synthetase の遺伝子 (*pcaA*) の有無に拠ることを明らかにした⁵⁾。その成績によると、cording するかどうかは TDM の有無によるのではなく、この酵素により合成される cyclopropane が TDM に含まれているかどうかによると報告している。この遺伝子を有する抗酸菌の感染は恐らく宿主のサイトカインレベルを変え、炎症細胞の組成を変化させているのであろう。しかし、結核菌の増殖速度はこの遺伝子の存在には関係なかった。ここからもやはり、virulence は宿主側の免疫能が菌体成分の刺激に強く反応する場合に、最も病原性を発揮するのであろうか。HIV 感染宿主では従って、同じ菌株であってもこの意味あいでの virulence は低いかもしれない。いわゆるヒトへの絶対的な毒性物質を結核菌は保有しないであろう。

さて、菌側から眺めた場合、宿主への免疫反応刺激性が高いということは、自らの生存にいかなる意味あいがあるのだろうか。菌側はなぜ宿主の Th1 反応を亢進させるような刺激物質をその表面に備えているのであろうか。Th1 系の細胞性免疫を亢進させれば宿主の殺菌機構が働いて自らの存在を危うくするであろう。ただし、ここで問題は、菌体の細胞壁成分の刺激により、サイトカイン・ネットワークによる調節機構を超えて際限なくサイトカインが産生・分泌されることである。菌体蛋白特異的反応が強く起こり、その結果がマクロファージを主体とした細胞の分化による→類上皮細胞→巨細胞→結核結節→空洞の形成であり、結核症の成立である。マウスの場合、TNF- α 等のサイトカインが過剰に分泌され死に至ることがある。この過剰な細胞性免疫反応は

遅延型アレルギーと呼ばれる。ここまで宿主細胞を分化誘導すればそれは結核菌にとっては非常によい環境を作ったことになる。開放性空洞内で分裂増殖し、痰を介して新しい宿主に感染伝搬し得るからである。

もし結核菌に強固なかかる細胞壁がなかったら、Th1 サイトカインの無制限な産生がなく、細胞内に貪食されれば簡単に殺菌されるであろう。細胞壁を構成する脂質の生合成を阻止する化学薬がINHである。細胞壁が合成されなければ恐らく菌は死ぬだろうし、死ななくても宿主マクロファージにより簡単に殺菌されるであろう。唯一宿主側が採り得る手段はステロイドホルモンによるサイトカインの産生の抑制である。問題は結核菌細胞壁成分の強力なTh1サイトカイン誘導能をいかにブロックするかが、結核の治療と防御免疫を考えるうえで重要である。このように考えると、強固な細胞壁という「よろい」で防御された結核菌を、免疫学的方法で攻撃し殺菌することは非常に困難である。特に姿かたちを変えて、さらには抗原性をも変えたdormantの結核菌をアタックすることは困難であろう。

さて、通常は感染した宿主のせいぜい10%が発病するとされている。この%を上げる意味あいで「病原性」とは何か。アメリカ南部でのCDC1551株による多数の発病を見た集団感染⁶⁾は伝搬性transmissibilityが強かったがためと説明されている⁷⁾。これは菌体の何に求められるべきであろうか。分子として、遺伝子として単離し得るものであろうか。結核菌にerp (exported repetitive protein) 遺伝子があり、これをノックアウトしたマウスでは細胞内での増殖能が停止したという⁸⁾。しかし蛋白質としては同定されていない。

3. 感染から発病を決める因子は何か

普通一般に考えられているヒトにおける結核感染の自然史を図1に示した。初感染後すぐに発病する一次結核は、通常の感染が健康な個体に起こった場合は、せいぜい5%である。大部分にあつては、dormant冬眠状態で菌は宿主体内にpersisterとして留まると言われる。そして年余ののちに、この冬眠状態のpersisterが目覚めて「内因性再燃」をもたらす発病する二次結核も5%であろう。この合わせて10%の発病と残りの90%を区別するのは何によるのであろうか。

宿主側にその原因を求めるとすれば、一般的な細胞性免疫能の強さであろうか。ヒトは本来、Th2優位の液性免疫(例えばIgE応答)でもって寄生虫感染に対応してきた。そこへ細胞内寄生の結核菌が出現し、Th1系の細胞性免疫能がわるい個体は淘汰を受けたと考えられる。あるいは個々の個体内にあつても、防御免疫系は同様の変移を行っているのであろう。すなわち、環境における微生物の生態の変化に応じて、Th1-Th2系がダイナミックに変化しているのかもしれない。図2に、わが国における過去50年間の結核とアレルギー疾患の推移を示した⁹⁾。1950年代にくらべ結核の感染・発病が激減した今日、Th1系による抑制がとれて、もとのTh2系に変化したヒトの免疫系はIgE産生をおこなってアレルギー疾患の増加を来しているのかもしれない。かかるTh2優位の個体で結核が発生した場合、Th1防御反応(細胞性免疫)が追いつかずに感染・発病が増えるのではないか。それが最近の若年者における集団感染・発病ではないか。

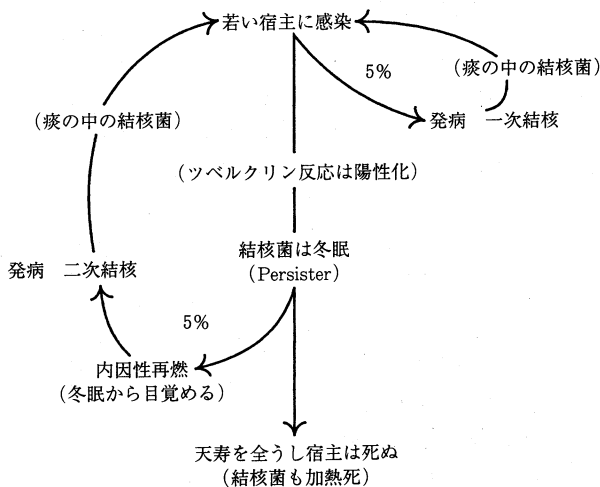


図1 ヒトにおける結核感染の自然史

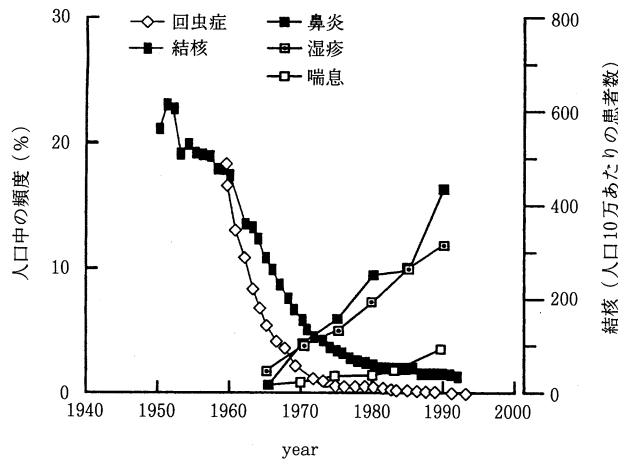


図2 結核とアレルギー疾患の有病率の年次変化
(文献9より)

同じように結核菌に暴露されて感染を受けていながら、発病すると、そのまま健康で経過する人との違いは何か。動物実験等から、細胞性免疫に関係する重要なサイトカインの1つにinterferon- γ (IFN- γ)がある。Th1細胞等から産生・分泌され、マクロファージを活性化する。そして貪食した菌に殺菌的に働くと言われていた。しかし、IFN- γ によるヒトのマクロファージの活性化は、細胞内に感染した結核菌によりブロックされたとの報告がある¹⁰⁾¹¹⁾。他方、ヒトでもIFN- γ 受容体遺伝子を欠く個体では、抗酸菌感染症を起こしやすいとの報告がある¹²⁾¹³⁾。ヒトではIFN- γ はマクロファージ以外の細胞に作用して、抗菌活性を発揮しているのかもしれない。

マウスでは系によって抗酸菌感染に感受性と抵抗性にわかれ、*Nramp1*遺伝子により規定されていること¹⁴⁾、相同生の遺伝子がヒトにも*NRAMP1*として存在することが報告されている¹⁵⁾。結核菌以外にも細胞内寄生微生物の感染・発病を規定しているとされるが、そのコードする物質が何かはまだ明らかにはされていない。昔から結核発病の家族内発生、人種間での違いが言われてきたが、それが遺伝学的には証明されていない。

4. 冬眠状態 dormancy とはどんな状態か

上述のように初感染の後、大部分にあっては発病はしないが、感染の証としてのツベルクリン反応が陽性化し全く健康で推移する。一方、感染した結核菌は細胞内であるいは細胞外で「姿かたち」を変えて(抗酸性をなくし球菌状となったり、細胞壁を失ったりして¹⁶⁾¹⁷⁾、

「生存」し続ける。恐らく分裂能を失って生存し続ける。細胞壁上層部に膜を張り¹⁸⁾、熱ショック蛋白(Heat Shock Protein, HSP)を出す¹⁹⁾²⁰⁾。それらは生体の酸素欠乏等の悪環境に適応するための手段であろう。

一般に結核菌はその分裂発育能が弱く、生存のためには宿主を必要とする。また、種の保存のためには、できるだけ長命でかつ健康な宿主を必要とする。この意味あいにおいて結核菌が終の棲家をヒトに求めたことは非常に賢明であった。Lederbergのいうところのsuccessful parasiteなのである²⁾。

では一体、結核菌は宿主の細胞内あるいは細胞外のどちらで「冬眠」しているのでしょうか。ヒト型結核菌ではないが、子供の頃接種されたBCGが30数年の後、宿主がエイズに罹患した結果、リンパ節で「再燃」した症例が報告されている²¹⁾。それまでは接種部位の局在リンパ節内で分裂増殖することなく、しかし「生存」してきたのである。この症例ではリンパ節内での菌の存在を示唆している。分裂と殺菌とのバランスをとっていたのであろうか。あるいは嫌気性の細胞内で分裂を止め、HSPを出し宿主の殺菌能に抗しながら生存してきたのであろうか。あるいは細胞外で形を変えて存在しているのかもしれない。結核の既往歴はなくても死後病理解剖し、肺の石灰化巣を培養すると結核菌が検出されたとの報告がある。石灰化巣という空気と遮断された環境でも生き延びているのである。

最近、細菌の生存形態の1つにVNC(Viable but nonculturable)という概念がある²²⁾。生きてはいるが分裂し得ない状態の細菌をいう。そして何らかの内外

からの刺激が加われば「蘇生, resuscitate」し得る生存形態である。石灰化巣内では結核菌はこのVNCの状態が存在しているのかもしれない。外界と通じていない閉鎖空洞内には塗抹検査では無数の菌が検出されるが、通常の4~8週間培養では肉眼的にコロニーは形成されない。しかしさらに培養を8カ月~1年継続するとその半数以上にコロニーが形成されてきたという²³⁾。結核菌は急に酸素欠乏の状態にすると死滅するが、徐々に嫌気性の環境に移行すると、分裂能は失うが条件が整えば再び分裂し得るdormantの状態にできる。恐らくこのdormantな状態で結核菌は宿主の細胞外で存在しているのであろう。一部は細胞内での存在のかもしれない。そしてある条件が整えば再び分裂増殖を始めるのであろう。

5. 内因性再燃の起こり方

上述のように、二次結核は一般に、宿主の免疫能の低下に際してdormancyが破れて起こるとされている。日和見感染症の範疇に入れてもよいかもしれない。宿主がHIVに感染すると発病の危険率が10倍高まるといわれる。マウスではステロイドホルモン投与で、いったん治癒した個体から再発がみられる^{24) 25)}。

一方、dormantの菌は普通、宿主の免疫機構から隔離された部位に存在していると考えられる。とすると、宿主の免疫能の低下が菌のdormancyが破れることにどうつながっているだろうか。分裂能を恐らくなくした(停止させた)dormantの結核菌を刺激して、回復させるその機構は何だろうか。一般に免疫能の低下は易感染性となり、一般的な感染症を来しやすい。この場合、他の一般の菌の感染が結核菌の再燃に何らかの役割を演じているのではないだろうか。

ここで蘇生促進因子 Resuscitation Promoting Factor (RPF) に触れてみたい。この物質はもともと *Micrococcus luteus* の対数分裂期の培養上清から分離され、*in vitro* で徐々に酸素欠乏にしてdormantの状態になった *Micrococcus* に作用して、再び分裂発育を誘導させ得る活性をもった蛋白質である²⁶⁾。実際に *in vitro* で培養抗酸菌にも作用して分裂増殖を促進する作用を持っている。この因子は既に遺伝子レベルで構造が解明されており、相同性の遺伝子が *M. tuberculosis* にも存在する。RPFは恐らくその他のグラム陽性菌からも分泌されているのかもしれない。

そこで宿主の免疫能が低下した場合、結核菌以外の一般感染菌から分泌されるRPFあるいは類似の可溶性因子により、あるいはこれら菌体との接触により結核菌が目覚めさせられ、分裂を開始、増殖し発病するのではないかと考えられる。内因性再燃である(図1)。空洞を形成し、その中の結核菌が患者の痰を介して、別の若い健康な宿主に

感染していくのではないかと考えられる。

結核菌側から考えた場合、本来は健康で若いヒトを宿主に選んで感染するのであろう。感染後すぐに増殖しての一次結核の発病はむしろ例外ではないかと考えられる。普通は長期間のdormancyののち、数パーセントの宿主において「内因性再燃」を起こす。推計学的にせいぜい数パーセントにおいて発病させるだけで、菌自らの子孫の維持を図るのに充分であろう。結核菌はこのようにヒトとの共存共栄により種の保存を図る「賢い寄生菌 successful parasite」²⁾である。アフリカ等での現在の結核の増加はあるいは結核菌の望むところではなく、むしろHIV感染による受動的な結果かもしれない。天然痘ウイルスのように感染が100%発病を意味するような病原体に対しては、ヒトの側も強力なワクチンにより、完璧な免疫防御を獲得し、徹底的にその感染を防ぐ機構を持っている。一方、結核に関しては、われわれの環境にある範囲内で結核菌を残すこと、重症かつ広範な発病をさせないという条件の下、ヒトへの感染を許しておく方が、Th1優位にし、Th2系に抑制をかけアレルギー疾患の著増をもたらさないという点で、あるいは望ましいことかもしれない。感染は許す、しかし何らかの方策で感染から発病をブロックすることにより、罹患率を人口10万対数人以内で、お互いに共存共栄を図るということである。Shirakawaらは、乳児期のBCG接種がアレルギー疾患の発症に予防的に働いていることを示唆するデータを報告している²⁷⁾。たとえばよくないが、感染結核菌にアレルギー発病に対しての用心棒の役割を託すということである。

6. BCGに優る結核ワクチンの開発は期待できるか

BCGはどこに効くのであろうか。一般に初感染に引き続く一次結核には効果ありとされるが、成人型の二次結核に対する防御効果は疑問視されている。BCG生菌を接種することにより、自らはdormantとなるが個体には免疫を賦与し、次の結核菌感染(BCG接種を初感染とすれば再感染)には一部殺菌効果を表すとともに、booster効果で免疫は賦活される。感染した結核菌はついでdormantとなる。その後は結核菌による外来性の再感染があるたびにboosterががかり抗結核免疫能は維持されるのであろう。BCGでなく結核菌による獲得免疫の成立は、その後の再感染をブロックするのであろう。高齢者にあつて明らかにrecentの外来性再感染によると考えられる発病は、本質的な免疫能の低下があつたことによるのであろう。

普通、一般的には微生物が有する病原性物質あるいは分泌される「毒素」が、防御免疫誘導におけるワクチン候補となり得る。結核菌の場合、それ自体で宿主の生理

の機能を攪乱する毒性物質は存在しないと考えられる。cord factor に代表される細胞壁成分が結核菌の「毒性」に関係ありと言われてきた。Glickman らの報告にも見られるように、この脂質成分は宿主の免疫応答系の過敏反応を誘導し、その結果、時に修復の不可能な病巣を形成する。もし結核菌がこの強固な細胞壁で保護されていなかったら、恐らく菌体蛋白質抗原に向けられた通常の免疫応答が起こり、菌は速やかに排除されるであろう。いわば脂質成分は、正常な調節機能を越えた「過敏」な反応を宿主にもたらすことにより、「病原性」を發揮していると考えられる。

このことから考えると、ヒトの免疫機能でもって殺菌防御を行うことはかなり困難と考えられる。細胞壁を突き抜けて菌体に cytotoxicity をもたらす免疫系ははたして存在するだろうか。より結核菌蛋白に向けられた Th 1 細胞のみを大量に用意すれば、結核菌に出会った場合、それだけ過敏反応が強まり病態が拡大する恐れがある。Koch's dilemma をいかに除くかが、ワクチン開発に際して重要課題である。HIV 感染では本来の防御免疫に関与する細胞もないために、過敏反応も起こらず、ツ反は陰性で空洞形成も見られない。

7. おわりに

以上、ヒトにおける結核感染・発病における「謎」を幾つか挙げ、私なりに考察を試みた。しかしながら、当然のことながら、「謎」はやはり「謎」のままである。結核菌の感染に始まり、発病、病気の成立、病原性 (virulence)、これらのいずれにおいても宿主側の関与が大きい。

結核菌は、他の一般の病原菌のような毒性物質 toxin は恐らく保有していないだろう。結核菌は、脂質に富む細胞壁で自らを保護し、環境の悪化に際して HSP を素早く産生・分泌し dormant となる。この菌体成分に遭遇して宿主ヒトは免疫応答し、その反応の大きさにより、菌の「病原性」が議論される。結核の病態は Lederberg がいみじくも述べているように、菌に遭遇した宿主のアクシデントの結果なのかもしれない。

ワクチンによる結核発病の予防を考えた場合、細胞壁成分の影響を考慮せざるを得ない。この合成をストップする手だてを導入しながら、一方、蛋白質成分に対する強力な Th 1 細胞性免疫の成立を考えるべきであろう。細胞壁が存在し続ける限り、細胞性免疫が遅延型アレルギーに転換する可能性がつきまとう。

謝 辞

大阪府立羽曳野病院に就職以来約 30 年近く、結核について勉強をさせて頂いた。その間、多くの方々のご指

導とご協力を得た。ここに厚くお礼を申し上げたい。特に、故山本和男、故山村雄一、故岩崎龍郎の諸先生や、日米結核専門部会を通じては、染谷四郎、島尾忠男、徳永 徹、斎藤 肇、山田 毅、J.J. Ellner、野本亀久雄、阿部千代治、光山正雄の諸先生方、また、研究の遂行においては大阪市大の矢野郁也先生、羽曳野病院の藤原寛、白土裕江、平野俊夫、高嶋哲也、鳥羽宏和、上田千里、川澄浩美の方々のご協力である。

また、講演の座長の労をお取り頂いた北海道大学名誉教授の東 市郎先生には阪大第 3 内科時代から日米結核にかけて研究の手ほどきを受けた。改めてお礼を申し上げたい。

文 献

- 1) Lederberg J: Parasites face a perpetual dilemma. ASM News. 1999; 65: 77-80.
- 2) Lederberg J: Paradoxes of the host-parasite relationship. ASM News. 1999; 65: 811-816.
- 3) Kato M: Effect of anti-cord factor antibody on experimental tuberculosis in mice. Inf Immun. 1973; 7: 14-21.
- 4) Koch R: The aetiology of tuberculosis. Dr. and Mrs. Max Pinner, ed. 1882.
- 5) Glickman MS, Cox JS, Jacobs WR: A novel mycolic acid cyclopropane synthetase is required for cording, persistence and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. Mol Cell. 2000; 5: 717-727.
- 6) Valway SE, Sanchez MPC, Shinnick TF, et al.: An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis*. N Engl J Med. 1998; 338: 633-639.
- 7) Bishai WR, Dannenberg AM, Parrish N, et al.: Virulence of *Mycobacterium tuberculosis* CDC 1551 and H37Rv in rabbits evaluated by Lurie's pulmonary tubercle count method. Inf Immun. 1999; 67: 4931-4934.
- 8) Berthet FX, Lagranderie M, Gounon P, et al.: Attenuation of virulence by disruption of the *Mycobacterium tuberculosis* *erp* gene. Science 1998; 282: 759-762.
- 9) 榎本雅夫, 白川太郎, 嶽 良博, 他: 細菌菌体成分によるアトピー性疾患の治療. 臨床免疫. 1999; 32: 454-459.
- 10) Ting LM, Kim AC, Cattamanchi A, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* inhibits IFN- γ

- transcriptional responses without inhibiting activation of STAT1. *J Immunol.* 1999; 163: 3898-3906.
- 11) Flynn JA: Why is IFN- γ insufficient to control tuberculosis? *Trends Microbiol.* 1999; 7: 477-478.
 - 12) Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, et al.: Interferon- γ -receptor deficiency in an infant with fatal Bacille Calmette-Guerin infection. *New Engl J Med.* 1996; 335: 1956-1961.
 - 13) Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al.: A mutation in the interferon- γ -receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *New Engl J Med.* 1996; 335: 1941-1949.
 - 14) Vidal SM, Pinner E, Lepage P, et al.: Natural resistance to intracellular infections. *Nrampl* encodes a membrane phosphoglycoprotein absent in macrophages from susceptible (*Nrampl*^{D169}) mouse strains. *J Immunol.* 1996; 157: 3559-3568.
 - 15) Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, et al.: Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in west Africans. *N Engl J Med.* 1998; 338: 640-644.
 - 16) Grange JM: The mystery of the mycobacterial 'persister'. *Tub Lung Dis.* 1992; 73: 249-251.
 - 17) Chatterjee BR: A non-acid-fast coccoid precursor-possible cultivable phase of *Mycobacterium leprae*. *Lepr India.* 1976; 48: 398-405.
 - 18) Daffe M, Etienne G: The capsule of *Mycobacterium tuberculosis* and its implications for pathogenicity. *Tub Lung Dis.* 1999; 79: 153-169.
 - 19) Cunningham AF, Spreadbury CL: Mycobacterial stationary phase induced by low oxygen tension: Cell wall thickening and localization of the 16-kilodalton α -crystallin homolog. *J Bact.* 1998; 180: 801-808.
 - 20) Yuan Y, Crane DD, Barry III CE: Stationary phase-associated protein expression in *Mycobacterium tuberculosis*: Function of the mycobacterial α -crystallin homolog. *J Bact.* 1996; 178: 4481-4492.
 - 21) Reynes J, Perez C, Lamaury I, et al.: Bacille Calmette-Guerin adenitis 30 years after immunization in a patient with AIDS. *J Inf Dis.* 1989; 160: 727.
 - 22) 木暮一啓: 病原細菌の Viable but Nonculturable (VBNC) state について. *Microbes and Environments.* 1997; 12: 135-145.
 - 23) Vandiviere HM, Loring WE, Melvin I, et al.: The treated pulmonary lesion and its tubercle bacillus. II. The death and resurrection. *Am J Med Sci.* 1956; 232: 30-37.
 - 24) McCune RM, Tompsett R: Fate of mycobacterium tuberculosis in mouse tissues as determined by the microbial enumeration technique. I. The persistence of drug-susceptible tubercle bacilli in the tissues despite prolonged antimicrobial therapy. *J Exptl Med.* 1956; 104: 737-762.
 - 25) Scanga CA, Mohan VP, Joseph H, et al.: Reactivation of latent tuberculosis: Variations on the Cornell murine model. *Inf Immun.* 1999; 67: 4531-4538.
 - 26) Mukamolova GV, Kaprelyants AS, Young DI, et al.: A bacterial cytokine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95: 8916-8921.
 - 27) Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S-I, et al.: The inverse association between tubercular responses and atopic disorder. *Science.* 1997; 275: 77-79.