

マウス *Mycoplasma pulmonis* 肺炎における抗生剤,
免疫抑制剤および免疫調節剤の治療効果に関する研究

田 中 裕 士

札幌医科大学内科学第3講座 (主任 鈴木 明 教授)

田 村 弘

帝京大学医学部動物実験施設

Studies on the Therapeutic Efficacy of Antibiotics, Immunosuppressants and
an Immunomodulator in *Mycoplasma pulmonis*-Induced Pneumonia of Mice

Hiroshi TANAKA

Department of Internal Medicine (Section 3), Sapporo Medical College
(Chief : Prof. A. Suzuki)

Hiroshi TAMURA

Laboratory Animal Center, Teikyo University School of Medicine

ABSTRACT It is widely known that cell-mediated immunity is activated during mycoplasma infection, and it is considered that cell-mediated immune response might contribute to the formation of lung lesions during mycoplasma infection in man. However, the treatment of mycoplasma pneumonia using antibiotics with immunosuppressants or immunomodulators has not yet been examined in detail. This study was performed as fundamental research to apply immunosuppressants or immunomodulators to mycoplasma pneumonia in man.

A mouse model of mycoplasma pneumonia was first established using *Mycoplasma pulmonis*. Mice were treated with either minocycline (MINO), the immunosuppressants, prednisolone (PSL) or cyclosporin A (CYA), or the immunomodulator, interleukin-2 (IL2), or a combination of MINO, immunosuppressants and immunomodulator. The mice were treated every day from day 3 to day 9 after inoculation. The effects of treatment on lung lesions, the isolation of mycoplasma organisms and host reactions were compared between the experimental groups, and the following results were obtained.

- 1) Treatment with MINO reduced inflammatory cell infiltration in the alveoli (alveolar lesion), but did not reduce peribronchial nor periarterial cuffing with mononuclear cells, i. e., lymphocytes and plasma cells (interstitial lesion). This treatment could not completely eliminate mycoplasma organisms from the lung.
- 2) Treatment with MINO and immunosuppressive agents (PSL or CYA) reduced both alveolar lesion and interstitial lesion, but the number of mycoplasma organisms in the lung remained at the same level as in the mice treated with MINO alone. Both humoral and cellular immune responses were

Abbreviations

CMI : Cell-mediated immunity
CYA : Cyclosporin A
IL2 : Interleukin-2
MINO : Minocycline

M. pn : *Mycoplasma pneumoniae*
M. pul : *Mycoplasma pulmonis*
PSL : Prednisolone
SRBC : Sheep red blood cell

suppressed in the host animals.

- 3) In mice treated with MINO and IL2, slight interstitial lesion was observed. Alveolar lesion was also reduced and many macrophages were found infiltrated in the alveoli 2 weeks after inoculation. The number of mycoplasma organisms in the trachea and lung were the least among the experimental groups. Both specific antibody response and nonspecific cell-mediated immune response were activated in the host animals. The results of this treatment suggested that the immune responsiveness of the host animal played an important role in eliminating mycoplasma organisms.
- 4) Interstitial lesion was reduced by treatment with CYA alone, on the other hand increased by IL2 alone. The results suggested that cell-mediated immune response might contribute to the formation of the interstitial lesion.

These data suggest that there are two methods of therapy with antibiotics for mycoplasma pneumonia: one is the nonspecific suppression of cell-mediated immune responsiveness in the host, while the other is the nonspecific activation of cell-mediated immune responsiveness in the host.

(Received September 14, 1989 and accepted October 4, 1989)

Key Words: Mycoplasma pneumonia, Cell-mediated immunity, Immunosuppressant, Immunomodulator, Mouse

1 緒 言

マイコプラズマによる間質性肺炎の病変形成には、マイコプラズマに特異的な cell-mediated immunity (CMI) 反応が、大きく関与していることが知られている¹⁻³⁾。また、ヒトの *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pn*) 肺炎では、全身的な合併症や呼吸不全を伴い、重症化する例^{4,5)}もある。このような重症例に対して抗生剤とステロイド剤を併用し、著明に改善したという例も報告^{6,7)}されるようになってきた。しかし、抗生剤に免疫抑制剤または免疫調節剤を併用した治療の効果について、これまでに詳細な検討は行われていない。

ヒトの本感染症に、マイコプラズマに特異的な CMI 反応が関与していることを初めて示したのは、胸部 X 線像で陰影の多い *M. pn* 肺炎症例で、*M. pn* 菌体抗原を用いた皮内反応が、高い陽性率を示したという水谷らの報告⁸⁾である。一方、肺炎初期に、ツベルクリンアレルギー⁹⁾、PPD に対するリンパ球の反応性の低下¹⁰⁾など、CMI 反応の一過性の低下が同時に起きると考えられている^{11,12)}。著者らもマウスの *Mycoplasma pulmonis* (*M. pul*) 感染実験で、sheep red blood cell (SRBC) を用いた足蹠反応が、感染 1 週目から 3 週目まで低下することを確認している¹³⁾。

本研究では、CMI 反応が関与しているヒトのマイコプラズマ呼吸器感染症の治療に、免疫抑制剤、免疫調節剤の臨床応用を試みるための基礎的実験を行った。マウスの *M. pul* 感染モデルを作成し、抗生剤である

minocycline、免疫抑制剤である prednisolone、cyclosporin A および免疫調節剤である interleukin-2 を投与した。各投与群の肺病変、接種菌や血中抗体の消長、SRBC を用いた足蹠反応などについて比較検討し、免疫抑制剤、免疫調節剤による肺炎の修飾のされ方について考察を行った。

2 材料と方法

2.1 実験動物および飼育条件

供試動物は、*M. pul* が感染していない specific pathogen free の ICR マウス(日本チャールスリバー)で、8 週齢の雌を用いた。飼育室は空調された(温度 23±2°C、湿度 50±10%)隔離飼育室で、室内の明暗は 14 時間明、10 時間暗に調節した。

2.2 マイコプラズマ培養用培地と分離培養

固型培地と増菌用液体培地は、Hayflick の処方¹⁴⁾に準じ、既報¹⁵⁾のごとく調節し、菌体抗原作製のための増菌培養や分離培養を行った。

2.3 供試薬剤とその投与方法

抗生剤は、供試菌 (*M. pul*, 97c 株) に対する *in vitro* の最小発育阻止濃度が、0.1 μg/ml である minocycline (MINO, 日本レダリー) を用いた。免疫抑制剤としては prednisolone (PSL, 塩野義製薬) および cyclosporin A (CYA; サンドス)、免疫調節剤としては interleukin-2 (IL2; TGP-3, 武田薬品) を使用した。

投与量は Table 1 に示したごとくで、投与期間は菌

接種後3~9日目までの連日とした。MINOは、滅菌(121°C, 30分)飲水に毎日1回溶解し、滅菌給水瓶に分注して経口投与した。

PSL, CYAは使用時に生食で溶解し、IL2は10%正常マウス血清加生食で溶解し、マウスの頸背部皮下に毎日1回投与した。

2.4 感染実験法

実験は、Table 1に示したごとく、非感染群、感染対照群、および7つの薬剤投与群の計9群を設けた。接種した菌液は、*M. pul*の37°C, 72時間培養液(1.0×10⁸ colony forming unit (CFU)/ml)で、ペントバルビタール(Pitman-Moore)で深麻酔状態としたマウスに、0.03 ml 経鼻接種した。また、非感染群には液体培地を0.03 ml 経鼻接種した。非感染群および感染対照群の剖検は、感染後1, 2, 3, 4, 6週目にペントバルビタールで麻酔後、それぞれマウスの股動脈から全採血してから実施した。また、薬剤投与群では、感染1, 2, 3週目に同様の方法で採血後剖検した。剖検の手順は、まず、肉眼的な肺病変を確認して、後述の肺スコアを記録した。次に、肺、気管、脾臓、胸腺を無菌的に取り出してその重量を測定し、肺の右上葉と気管は、既報¹⁶⁾のごとく定量的菌分離を行った。病理組織標本は、肺を10%ホルマリンで固定後、パラフィン包

埋し、hematoxylin-eosin (HE) 染色を行い作製した。

2.5 肉眼的肺病変 (肺スコア)

肉眼的肺病変部とは、健常部位と比べて赤色に変化している部位のことで、供試マウスのすべてについて、その広がりからスコア化を行い評価した。すなわち、病変部が全肺野の1/4未満の場合がスコア1で、1/4以上1/2未満の場合が2、1/2以上3/4未満の場合が3、3/4以上の場合を4とした。病変部が全く認められない場合をスコア0として記録した。

2.6 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法による *M. pul* 抗体価の測定

*M. pul*の供試抗原は、既報¹³⁾の抗原作製法に準じて用意した菌液を、Lowryの方法で総蛋白質量が250 µg/mlとなるように、pH 7.2のphosphate-buffered saline (PBS) で希釈したものを用いた。

ELISA法は、マイクロタイタープレート(Dynatech社)の各wellに、抗原を50 µl ずつ加え、4°Cで1晩静置した。上清を静かに除き、2%の牛血清アルブミン(BSA, Difco)を含むPBSを、各wellに100 µl ずつ加え、37°Cで1時間放置した。上清を静かに除いてから、被検血清を1%BSA-PBSで倍数希釈し、各wellに50 µl ずつ加えて37°Cで1時間反応させた後、0.05%

Table 1 Experimental procedures

Experimental group	<i>M. pulmonis</i> inoculation	Treatment ^{a)}			No. of mice used in each experimental group				
		Agent ^{b)}	Dose	Route of administration ^{c)}	Weeks after inoculation				
					1	2	3	4	6
NON INFECTION	-	-			10	10	10	10	10
INFECTION	+	-			10	10	10	10	10
MINO	+	MINO	0.6 mg/body/day	DW	5	5	5	ND ^{d)}	ND
MINO+PSL	+	MINO	0.6 mg/body/day	DW	5	5	5	ND	ND
		PSL	15 mg/kg/day	SC					
PSL	+	PSL	15 mg/kg/day	SC	5	5	5	ND	ND
MINO+CYA	+	MINO	0.6 mg/body/day	DW	5	5	4	ND	ND
		CYA	50 mg/kg/day	SC					
CYA	+	CYA	50 mg/kg/day	SC	5	5	5	ND	ND
MINO+IL2	+	MINO	0.6 mg/body/day	DW	5	5	5	ND	ND
		IL2	4.8 µg/kg/day	SC					
IL2	+	IL2	4.8 µg/kg/day	SC	5	5	5	ND	ND

^{a)} Mice were treated with the indicated agents every day between day 3 and day 9 after *Mycoplasma pulmonis* inoculation.

^{b)} PSL; prednisolone, CYA; cyclosporin A, IL2; interleukin-2, MINO; minocycline.

^{c)} SC; subcutaneous, DW; drinking water.

^{d)} Not done

の Tween20 を添加した PBS で 3 回洗浄した。 Peroxidase 標識抗体 (抗マウス IgG, IgM ヤギ血清; Tago 社, 抗マウス IgA ヤギ血清; Zymed 社) を PBS で 500~1000 倍に希釈し, $50 \mu\text{l}$ ずつ well に加え, 37°C , 1 時間反応させた。反応が終了したプレートは PBS で 3 回洗浄後, 発色試薬 (0.2 mM azino di-3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid, $0.04\% \text{ H}_2\text{O}_2$ 加 citrate buffer) を $100 \mu\text{l}$ ずつ加えた。室温で 15 分間反応させ, 各 well の 405 nm の吸光度を, マイクロエライザオートリーダー (Model MR580, Dynatech 社) を用いて測定した。抗体価は非感染マウス血清の示した吸光度の, 平均値 + 2 S. D. 以上を示す最大血清希釈倍数で表した。

2.7 SRBC を用いた遅延型アレルギー反応 (足蹠反応)

M. pul 以外の抗原に対する宿主の CMI 反応を検討するため, SRBC を用いた足蹠反応¹⁷⁾ を, 既報¹³⁾ のごとく実施した。その概略は, 剖検予定日の 5 日前に 1×10^8 個の SRBC をマウスの尾静脈から注射し, 4 日後の惹起注射は, 1×10^8 個の SRBC を左側後肢足蹠の皮内に接種した。また, 対照として SRBC 液と同量の生食を右側後肢足蹠に接種し, 接種から 24 時間後に左右後肢足蹠の厚さをノギス (最小目盛 0.05 mm , 三豊) を用いて測定した。結果は足蹠腫脹率 (%) で表し, $((\text{SRBC 接種側の足蹠の厚さ} - \text{生食接種側の足蹠の厚さ}) / \text{生食接種側の足蹠の厚さ}) \times 100$ で表した。

2.8 統計学的検定

本研究の各パラメーターの測定値は, 平均値と標準

偏差または標準誤差で示した。統計学的な有意差の検定は, Student の t 検定で行い, 危険率 5% 以下をもって有意とした。

3 成績

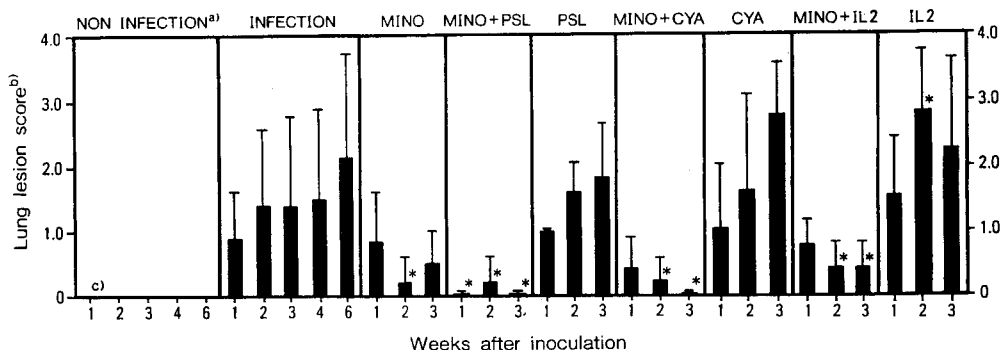
3.1 肺病変

3.1.1 肉眼的肺病変

各群の肺スコアの経時的推移を Fig. 1 に示した。感染対照群の病変スコアの平均値は 1 週目で 0.9, 2~4 週目は 1.4 前後で推移し, 6 週目には 2.2 と上昇した。MINO 単独群の病変スコアは 2 週目には低下したが, 3 週目には軽度な上昇傾向を示した。MINO と PSL, MINO と CYA, MINO と IL2 の各併用群では, 2 週目以降に低い値を示した。PSL, CYA 単独群では感染対照群とほぼ同様の傾向で推移したが, IL2 単独群の肺スコアは, 2 週目で一過性に感染対照群より上昇した。

3.1.2 肺重量比

各群の肺重量比の経時的变化を Fig. 2 に示した。非感染群の肺重量比は, 今回の観察期間中その平均値が 0.5 前後であったが, 感染対照群では 1 週目には 0.7 で, 2 週目以降は非感染群の 2~3 倍に増加した。MINO 単独群, MINO と PSL, MINO と CYA の各併用群の肺重量比は, 2, 3 週目では感染対照群より低い値を示した。MINO と IL2 の併用群では 2 週目に感染対照群と比較して低かったが, 3 週目では差を認めることはできなかった。PSL 単独群では 1, 3 週目に, CYA 単独群では 3 週目に感染対照群より上昇した。しかし, IL2 単



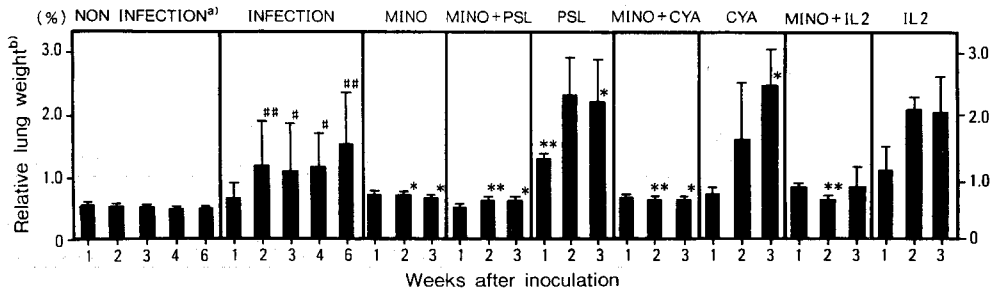
a) The experimental procedures are shown in Table 1.

b) The degree of severity of lung lesion is scored as either 1, 2, 3, or 4, with 4 being the most severe. When no lung lesion was found, the score was 0. The columns represent the mean, and the vertical bars S.D.

c) All values in NON INFECTION group are 0.

* $P < 0.05$; INFECTION vs groups treated with various agents.

Fig. 1 The lung lesion score in *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.



a) The experimental procedures are shown in Table 1.

b) Relative lung weight = (lung weight/body weight) × 100. The columns represent the mean, and the vertical bars S.D.

P < 0.05. ## P < 0.01; NON INFECTION vs INFECTION

* P < 0.05. ** P < 0.01; INFECTION vs groups treated with various agents.

Fig. 2 The relative lung weight in *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.

独群は感染対照群との間で、肺重量比に差は認められなかった。

3・1・3 肺病理組織像

すべての非感染群マウスの肺では、病理組織学的に異常を示す所見は認められなかった。

感染対照群の1週目では、肺胞腔内、気管支腔内への好中球を主体とする炎症細胞の浸出像が認められた。また、気管支肺動脈周囲間質とその周囲肺胞中隔の一部には、リンパ球などの小円形細胞の浸潤が軽度認められた。2週目になると肺胞腔内には好中球のほか、マクロファージも浸出し、気管支腔内には上皮細胞の脱落が目立つようになった。また、気管支肺動脈周囲間質へのリンパ球および形質細胞の浸潤が顕著に認められた (Fig. 3-a, b)。3週目以後は、肺胞腔内病変よりも、気管支肺動脈周囲間質病変が主体となり、6週目には気管支拡張像が一部に認められた。

MINO 単独群の1, 2週目は感染対照群と比較して、肺胞腔内や、気管支肺動脈周囲間質の病変は軽度であった。3週目には、肺胞腔内の病変はほぼ消失したが、気管支肺動脈周囲間質および肺胞中隔へのリンパ球および形質細胞の浸潤は軽度に存在した (Fig. 3-c)。

MINO と PSL, MINO と CYA の併用群の1, 2週目では、MINO 単独群よりも、肺胞腔内、気管支肺動脈周囲間質の病変は減少した。3週目では、MINO 単独群の3週目で見られた気管支肺動脈周囲間質病変は、ほぼ消失した (Fig. 3-d)。

MINO と IL2 の併用群の2週目では、肺胞腔内の病変はほぼ消失した。また、気管支肺動脈周囲間質および肺胞中隔へのリンパ球浸潤は、MINO 単独群と同程

度に認められ、3週目でもその傾向は変わらなかった。

PSL および CYA 単独群の1, 2週目には、肺胞腔内の病変は感染対照群より顕著であったが、気管支肺動脈周囲間質の病変はほとんど認められなかった (Fig. 3-e, f)。しかし、3週目には気管支肺動脈周囲間質病変が出現してきた。

IL2 単独群の1, 2週目では、気管支肺動脈周囲間質の病変は感染対照群より顕著であった。気管支腔内には好中球主体の炎症細胞がみられ、肺胞腔内への炎症細胞の浸出は、細気管支周辺の肺胞に限局し、そこには感染対照群よりも多くのマクロファージが認められた (Fig. 3-g, h)。3週目では肺胞腔内病変は少なく、気管支肺動脈周囲間質病変が著明となった。

各群の感染2週目における病理組織像を、気管支肺動脈周囲間質病変と、肺胞腔内病変に注目して比較した (Table 2)。

3・2 呼吸器における接種菌の分布

各群における肺、気管の菌量を経時的に検索した成績を Fig. 4 に示した。感染対照群と比較して、肺では MINO 単独群で1, 3週目に、MINO と PSL の併用群では3週間を通して低下したが、気管では両群ともほとんど減少しなかった。MINO と CYA の併用群の肺と気管と菌量は、MINO 単独群とはほぼ同様の傾向を示した。MINO と IL2 の併用群の肺の菌量は3週間を通して、気管では1, 2週目に減少した。一方、PSL, CYA, IL2 の単独群では肺、気管における菌の減少は認められなかった。

3・3 免疫グロブリン各クラスの抗体価の推移

ELISA 法による、*M. pul* に対する特異的 IgG,

Fig. 3

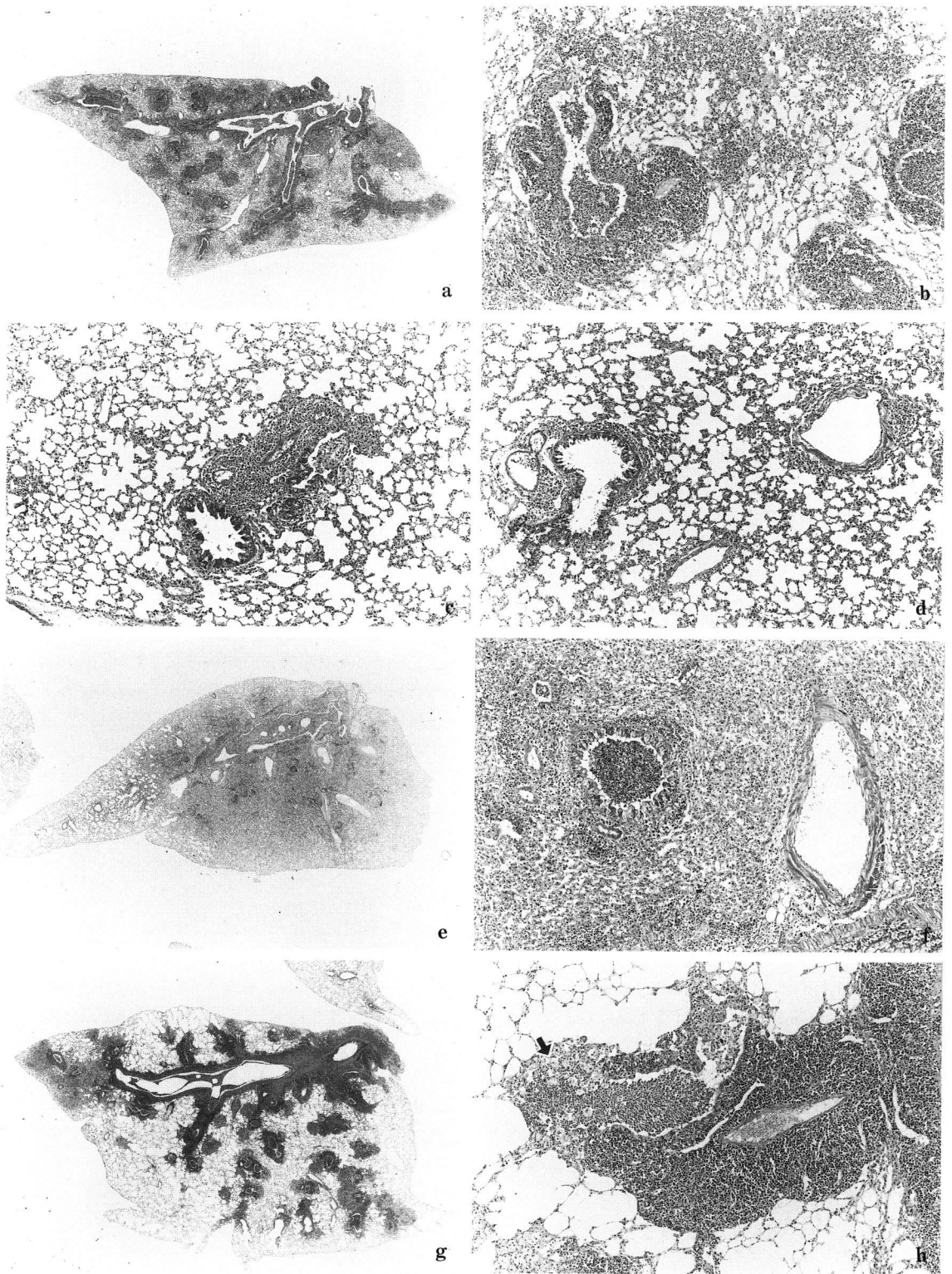


Table 2 Comparison of lung lesions among mice 2 weeks after intranasal inoculation of *Mycoplasma pulmonis* treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.

Treatment ^{a)}	Lung lesion	
	Peribronchial and periarterial mononuclear cell infiltration	Alveolar inflammatory cell infiltration
No treatment	++ ^{b)}	++
MINO ^{c)}	+	- or +
MINO+PSL	- or +	- or +
PSL	- or +	+++
MINO+CYA	- or +	- or +
CYA	- or +	++
MINO+IL2	+	- or +
IL2	+++	+

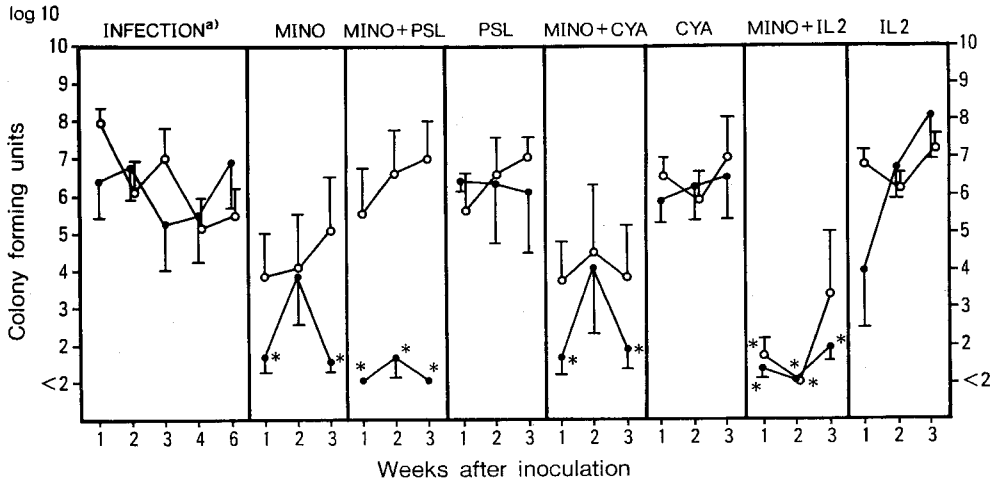
^{a)} Mice were inoculated with *Mycoplasma pulmonis* (*M. pul*), and subsequently treated with various agents as shown in Table 1.

^{b)} The various lung lesions were examined microscopically 2 weeks after intranasal inoculation of *M. pul*. The degree of severity was scored as either +, ++, or +++, with +++ being the most severe. When no lung lesion was found, the score was expressed as -.

^{c)} The abbreviations are as shown in Table 1.

Fig. 3 Histopathological observation of lung tissues from *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice.

- a) 2 weeks after inoculation. HE(×17).
- b) 2 weeks after inoculation. HE(×85). Peribronchial and periarterial cuffing with mononuclear cell infiltration and alveolar inflammatory cell infiltration were observed.
- c) 3 weeks after inoculation treated with minocycline. HE (×85). Peribronchial and periarterial cuffing with mononuclear cell infiltration was slightly decreased and no inflammatory cell was seen in the alveoli and bronchial lumen.
- d) 3 weeks after inoculation treated with minocycline and prednisolone. HE (×85). Most peribronchial and periarterial cuffing with mononuclear cell infiltration and alveolar inflammatory cell infiltration disappeared.
- e) 2 weeks after inoculation treated with prednisolone. HE (×17).
- f) 2 weeks after inoculation treated with prednisolone. HE (×170). Peribronchial and periarterial cuffing with mononuclear cell infiltration was slightly seen and alveolar inflammatory cell infiltration was more prominent.
- g) 2 weeks after inoculation treated with interleukin-2. HE (×17).
- h) 2 weeks after inoculation treated with interleukin-2. HE (×170). Peribronchial and periarterial cuffing with mononuclear cell infiltration became more prominent and many alveolar macrophages (arrow) were seen in the alveoli.



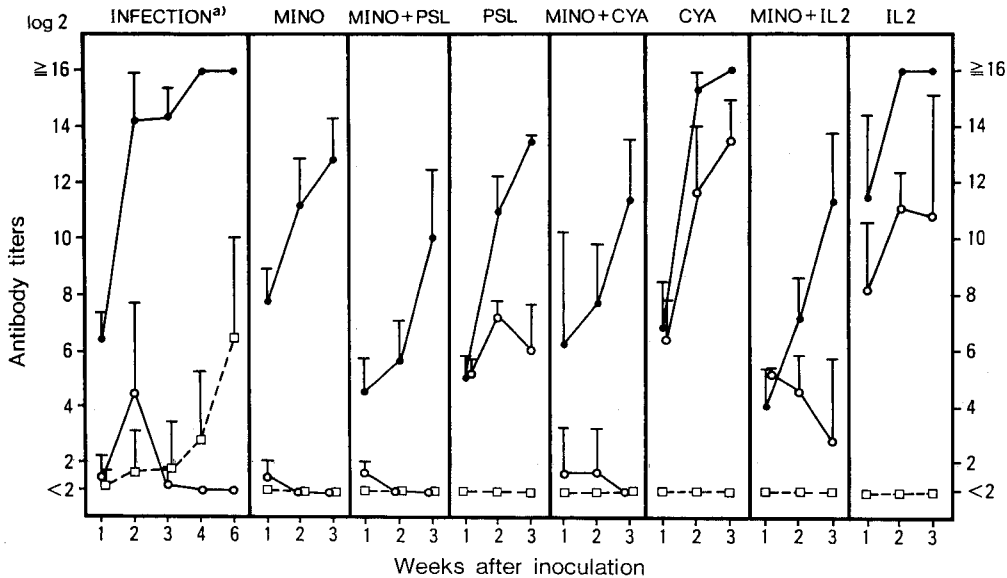
a) The experimental procedures are shown in Table 1.
 *P<0.01; INFECTION vs groups treated with various agents.

Fig. 4 The number of mycoplasma organisms in the lung tissue (●) and trachea (○) obtained from *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.

IgM, IgA 抗体価の経時的変化を Fig. 5 に示した。感染対照群では IgG 抗体価は感染 1 週目から検出され、観察期間中は上昇し続けた。IgM 抗体価は 2 週目をピークとして一過性に上昇し、IgA 抗体価は 4 週目か

ら検出され始め、徐々に上昇した。

各投与群の IgG 抗体価は、感染対照群に比べて、MINO 単独群、MINO と PSL、MINO と CYA、MINO と IL2 の各併用群、PSL 単独群ではやや低い値



a) The experimental procedures are shown in Table 1.

Fig. 5 The serum antibodies detected by ELISA against *Mycoplasma pulmonis*. The mice were inoculated with *Mycoplasma pulmonis*, and treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2. Each point represents the mean, and the vertical bars S.D.

●—●; IgG, ○—○; IgM, □--□; IgA.

で推移した. CYA 単独群の IgG 抗体価は, 感染対照群と同様に推移し, IL2 単独群では感染初期から高い抗体価を示した.

IgM 抗体価は, MINO 単独群, MINO と PSL の併用群とも感染 1 週間目で, MINO と CYA の併用群では 1, 2 週目でわずかに検出された. MINO と IL2 の併用群, PSL, CYA, IL2 の各単独群では, いずれも感染 1 週目から, 感染対照群に比べ高い抗体価を示した. CYA 単独群では感染の経過と共に, 抗体価が上昇する傾向がみられた. なお, MINO と IL2 の併用群と, PSL, IL2 の各単独群では感染 3 週目の抗体価が, 2 週目に比べて低下する傾向を示した.

感染 3 週目までに各投薬群で, IgA 抗体価が上昇したマウスは全く見られなかった.

3・4 各実験群の胸腺重量の変化

Table 3 に, 各群における胸腺重量/体重比 (胸腺重量比) の推移を示した. 感染対照群の胸腺重量比は, 2, 3 週目で非感染群と比較して上昇した. MINO 単独群では感染対照群に比べて, 胸腺重量比は低い値で推移した. MINO と PSL の併用群と PSL 単独群では, 投与中, 直後である 1, 2 週目で低下がみられたが, 両群とも 3 週目に感染対照群のレベルまで回復した. CYA と MINO の併用群では感染対照群と同様に推移し, CYA 単独群では 2, 3 週目に低下した. MINO と IL2 の併用群の胸腺重量比は, 感染対照群と同様に推移したが, IL2 単独群の 3 週目では低下した.

3・5 各実験群の脾臓重量の変化

Table 4 に脾臓重量/体重比 (脾臓重量比) の経時的変化を示した. 感染対照群では, 2 週目より徐々に増加し, 3 週目以降は非感染群より増加した. MINO 単独群では感染対照群に比べ, 脾臓重量比は 2 週目で低い値を示した. MINO と PSL の併用群の 1, 2 週目と, PSL 単独群の 1 週目で脾臓重量比が低かったが, 両者とも 3 週目では感染対照群のレベルまで回復した. MINO と CYA の併用群の脾臓重量比は, 感染対照群と比較して, やや低い値で推移したが, CYA 単独群と, MINO と IL2 の併用群の 3 週目では高い値を示した. IL2 単独群の 1~3 週目の各値は, いずれも感染対照群より高い値で推移した.

3・6 足蹠反応

各群における足蹠腫脹率の経時的変化を Table 5 に示した. 非感染群と比較して, 感染対照群では 1~3 週目に低下し, 4 週目には非感染群のレベルまで戻り, 6 週目には逆に上昇した. MINO 単独群の足蹠反応は感染対照群と比較して, 2, 3 週目に上昇した. MINO と PSL, MINO と CYA の併用群, PSL, CYA 単独群の足蹠反応は, 感染対照群と同様に 1~3 週目では低下しており, CYA 単独群の 3 週目ではさらに低い値を示した. MINO と IL2 の併用群の足蹠反応は, 1~3 週目の間, MINO 単独群よりもさらに高い値で推移したが, IL2 単独群では感染対照群と同様低下したままであった.

Table 3 Relative thymus weight of *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2

Experimental group ^{a)}	Relative thymus weight ^{b)}				
	Weeks after inoculation				
	1	2	3	4	6
NON INFECTION	0.10±0.05	0.09±0.03	0.09±0.03	0.09±0.01	0.07±0.02
INFECTION	0.16±0.09	0.18±0.09 [#]	0.17±0.07 [#]	0.12±0.05	0.09±0.03
MINO	0.15±0.06	0.14±0.03	0.13±0.03	ND ^{c)}	ND
MINO+PSL	0.06±0.04*	0.03±0.02**	0.10±0.03	ND	ND
PSL	0.04±0.02**	0.03±0.02**	0.16±0.04	ND	ND
MINO+CYA	0.11±0.09	0.12±0.03	0.12±0.02	ND	ND
CYA	0.12±0.03	0.08±0.05*	0.02±0.01**	ND	ND
MINO+IL2	0.19±0.17	0.17±0.06	0.18±0.04	ND	ND
IL2	0.13±0.04	0.11±0.04	0.08±0.05*	ND	ND

^{a)} The experimental procedures are as shown in Table 1.

^{b)} Relative thymus weight = (thymus weight/body weight) × 100, (Mean ± S. D.).

^{c)} Not done

[#] p < 0.05, [#] p < 0.01; NON INFECTION vs INFECTION

* p < 0.05, ** p < 0.01; INFECTION vs groups treated with various agents

Table 4 Relative spleen weight of *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.

Experimental group ^{a)}	Relative spleen weight ^{b)}				
	Weeks after inoculation				
	1	2	3	4	6
NON INFECTION	0.40±0.11	0.34±0.04	0.35±0.07	0.35±0.09	0.33±0.09
INFECTION	0.41±0.09	0.48±0.02	0.44±0.10 [#]	0.53±0.12 ^{##}	0.53±0.21 [#]
MINO	0.34±0.07	0.29±0.05*	0.42±0.11	ND ^{c)}	ND
MINO+PSL	0.06±0.02**	0.13±0.03**	0.45±0.09	ND	ND
PSL	0.09±0.02**	0.27±0.07	0.48±0.24	ND	ND
MINO+CYA	0.36±0.05	0.50±0.04	0.36±0.05	ND	ND
CYA	0.53±0.09	0.77±0.29	0.84±0.19**	ND	ND
MINO+IL2	0.59±0.07	0.50±0.10	0.60±0.11*	ND	ND
IL2	0.60±0.12**	0.97±0.12**	0.72±0.19**	ND	ND

^{a)} The experimental procedures are as shown in Table 1.

^{b)} Relative spleen weight=(spleen weight/body weight)×100, (Mean±S. D.)

^{c)} Not done

[#] p<0.05, ^{##} p<0.01; NON INFECTION vs INFECTION

* p<0.05, ** p<0.01; INFECTION vs groups treated with various agents

Table 5 Delayed-type hypersensitivity to sheep red blood cells (SRBC) in *Mycoplasma pulmonis*-inoculated mice treated with minocycline, prednisolone, cyclosporin A or interleukin-2.

Experimental group ^{a)}	% increase of footpad swelling ^{b)}				
	Weeks after inoculation				
	1	2	3	4	6
NON INFECTION	12.1±2.7	14.3±1.2	14.4±0.9	14.2±1.9	15.0±1.5
INFECTION	4.3±1.6 [#]	7.1±1.4 [#]	7.4±1.3 [#]	13.7±2.6	20.5±2.0 [#]
MINO	ND ^{c)}	18.3±1.1*	18.6±3.9*	ND	ND
MINO+PSL	ND	3.4±0.4	9.3±2.2	ND	ND
PSL	2.6±1.0	6.0±1.7	7.8±1.9	ND	ND
MINO+CYA	ND	7.0±3.1	11.4±4.5	ND	ND
CYA	6.5±2.9	6.3±3.0	2.0±0.9	ND	ND
MINO+IL2	15.1±2.1**	36.3±7.2**	28.5±5.6**	ND	ND
IL2	5.3±1.5	9.6±2.4	10.4±1.0	ND	ND

^{a)} The experimental procedures as shown in Table 1.

^{b)} % increase of footpad swelling=((the thickness of the left footpad injected with an eliciting dose of SRBC-the thickness of the right footpad injected with saline)/the thickness of the right footpad injected with saline)×100, (Mean±S. E.).

^{c)} Not done

[#] p<0.01; NON INFECTION vs INFECTION

* p<0.05, ** p<0.01; INFECTION vs groups treated with various agents

4 考 察

本研究で用いたマウス *M. pul* 肺炎では、肺スコア、肺重量比とも経過と共に上昇し、肺炎が6週間の間、進行する傾向がみられた。しかし、肺の病理組織像で見ると、感染1週目と2週目以降では病変が異なっ

いた。つまり、感染1週目では、肺胞腔内への好中球、マクロファージの浸出が主体で、気管支肺動脈周囲間質へのリンパ球、形質細胞の浸潤は軽度であった。2週目以降では、肺胞腔内の病変は徐々に減少したが、気管支肺動脈周囲間質病変は逆に徐々に進展し、その浸潤は広範囲、高度となった。このように肺胞腔内病変

と気管支肺動脈周囲間質病変は、それぞれ出現する時期が異なることが認められた。同様な病理所見は、動物種、接種菌株および接種菌量により出現時期に差はあるが、種々の動物のマイコプラズマ肺炎で認められている^{2,3,15)}。そこで本研究では、本肺炎の病変を、肺胞腔内病変と気管支肺動脈周囲間質病変の2つに分けて考察を行った。

予備実験の結果¹⁸⁾で、肺胞腔内の病変は、菌接種後3日目までに出現し、気管支肺動脈周囲間質の病変は7日目までに出現した。また、3日目の肺と気管の菌量は、それぞれ 10^5 , 10^6 CFU/gであった。したがって、本研究における治療時期は、接種菌が十分増殖し、これら肺病変の形成される時期で、投与薬剤の影響が肺病変に及びやすいと考えられた感染3日目から7日間とした。

4.1 抗生剤単独治療における問題点

M. pul 感染マウスに、MINOの単独治療を行った場合、Table 2に示したごとく、気管支腔内、肺胞腔内の病変は抑制された。けれども、気管支肺動脈周囲間質病変は残存し、抗生剤による治療では、気管支肺動脈周囲間質病変は消失し難いことが示唆された。今回の実験とは別に行った追加実験¹⁹⁾で、感染1週目から7日間MINOを投与した群と、感染後2週間目から7日間MINOを投与した群の肺病理像を比較した。その結果、2週目からの群では、1週目からの群と比較して、気管支肺動脈周囲間質病変が顕著に残存した。このことから、抗生剤による治療時期が遅いほど、気管支肺動脈周囲間質病変が消失し難いものと考えられた。

一方、ヒトの*M. pn*肺炎で、治療により胸部陰影の軽減または消失が認められた場合でも、気管支壁の肥厚像、気管支肺動脈陰影の拡大像または粒状影が残存することが、画像診断上指摘されている²⁰⁾。また、開胸肺生検の病理組織学的所見²¹⁾でも、気管支肺動脈周囲間質へのリンパ球、形質細胞の浸潤と細気管支炎が認められている。ヒトとマウスの本肺炎を対比して、ヒトの場合でも抗生剤単独の治療では、気管支肺動脈周囲間質の病変が残存する傾向があるものと推測された。

次に、菌分離成績では、Fig. 4に示したごとく、感染対照群と比較して肺では減少したが、気管ではほとんど減少せず、本実験の投与では*M. pul*を呼吸器から完全に排除することは困難と考えた。また、Slotkinら²²⁾の行った*M. pn*感染ハムスターの治療実験でも、治療終了後に呼吸器から菌が分離された。ヒトの場合でも、適切な治療で胸部X線像、臨床症状とも改善したにもかかわらず、*M. pn*を長期間排菌している症例^{23,24)}も

ある。このような抗生剤による除菌の難しさに対して、Smithら²⁵⁾は、薬剤の気道内への移行が十分でないことや、菌が急激に耐性を獲得するためではないと述べており、マイコプラズマ感染症の特徴的な所見の一つと考えてよいと思われた。

抗体価では、MINO単独群のIgG抗体が感染対照群とほぼ同時期に出現し、やや低値のまま推移したが、IgM抗体はごく軽度の上昇であった。ヒトの*M. pn*肺炎例において、IgG抗体が上昇したにもかかわらず、IgM抗体が上昇しない症例が報告されており、再感染と推測されているが、その解釈は必ずしも一致しておらず^{26,27)}、今回のように抗生剤治療による影響も考慮すべきと思われた。

4.2 免疫抑制剤による影響

MINOとPSLの併用群の肺病変は、今回の実験群では最も改善した。病理組織像では、MINOの単独投与で抑制出来なかった気管支肺動脈周囲間質病変はほぼ消失し、肺からは少量の菌が分離されるのみであった。しかし、気管での菌は減少せず、血中抗体価も経過と共に上昇したが、感染対照群に比べ低い値で推移した。また、胸腺、脾臓重量はTable 3, 4に示した様に減少し、足蹠反応も抑制されたままであるという問題点を残した。

CYAは、選択的CMI反応抑制剤で、helper/inducer-T細胞に作用してIL2の産生を抑制する作用などを持っている^{28,29)}、MINOとCYAの併用群の肺病変、菌分離成績、血中抗体価、足蹠反応は、MINOとPSLの併用群と同様に推移した。しかし、胸腺、脾臓重量では、MINOとPSLの併用群の様な低下は認められなかった。

PSL, CYA単独群では、Fig. 1, 2に示したように、感染対照群より肺病変は増悪した。病理組織像では、気管支肺動脈周囲間質病変は抑制されたが、肺胞腔内の病変は感染対照群よりも顕著となっていた。PSL単独群とCYA単独群の肺病理組織像が、同様であったことから、PSLによる気管支肺動脈周囲間質病変の抑制作用は、抗炎症作用ではなく、CMI反応抑制作用によるものであることが示唆された。

一方、ヒトの*M. pn*肺炎では、抗体価の上昇や菌の培養の結果に時間がかかるため、感染初期から有効な抗生剤が投与されていない場合がある。本肺炎と診断される以前に重症呼吸不全に陥り、治療としてステロイド剤を投与する場合、有効な抗生剤を投与していなければ、肺炎がさらに悪化する危険性が示唆された。

また、PSL単独群とCYA単独群のIgG抗体価の上

昇は抑制されたが、IgM 抗体価が3週間の間、高値で推移した。ヌードマウスの *M. pul* 感染例³⁰⁾でも同様に認められたことより、この現象は、免疫抑制剤の投与により、IgM 抗体産生細胞のIgG 抗体産生細胞へのスイッチが抑制された結果であろうと推測された。

4.3 免疫調節剤による影響

IL2 は T 細胞の増殖、活性化作用と、B 細胞の抗体産生細胞の分化増殖作用などの免疫賦活作用をもつリンフォカインである^{31,32)}。MINO と IL2 の併用群では肺病変は抑制され、Table 2 に示した様に、気管支肺動脈周囲間質病変は軽度に認められたが、肺胞腔内の病変は消失した。また肺、気管からの菌は今回の実験群の中で最も減少し、血中抗体価ではIgM 抗体が早期から上昇しており、足蹠反応も感染対照群のような低下はなく、逆に亢進していた。なお、その後、MINO と IL2 の併用群を6週目まで観察した追加実験の結果(著者ら、未発表)では、肺病変はほぼ消失し、肺、気管には菌は全く認められなかった。これらのことから、本肺炎の治療には、抗生剤の投与とともに、宿主の免疫反応を抑制させることにより肺病変の抑制を計る反応系のほかに、感染によって低下した免疫反応の活性化により、菌を除去し肺炎形成に対し阻的に働く反応系があるものと推測され、現在そのメカニズムの詳細について検討中である。

また、気管支肺動脈周囲間質病変は、IL2 単独投与群では感染対照群と比較して顕著となり、CYA 単独投与群では感染対照群より抑制されていた。このことから、気管支肺動脈周囲間質病変は、CMI 反応に関与した反応と考えられた。また、胸腺摘出、放射線照射で CMI 免疫反応が抑制されたマウスの *M. pul* 感染では、気管支肺動脈周囲間質病変は軽度であり³³⁾、*M. pul* 感染ラットの気管支肺動脈周囲間質病変には、helper/inducer-T 細胞が優位に存在する¹⁵⁾ という報告は、本研究の結果を支持するものと思われた。

4.4 感染宿主の CMI 反応

マイコプラズマ肺炎の感染初期に一過性に認められる CMI 反応の低下の機序については、未だ明らかにされていない^{11,12,34)}。本実験の感染対照群では感染後1~3週目に足蹠反応は低下していた。また、IL2 単独群では肺病変は著明で、足蹠反応は抑制されたままであった。これに対して、MINO 単独群では、感染対照群よりも肺病変は少なく、足蹠反応は亢進し、MINO と IL2 の併用群ではさらに亢進していた。予備実験で、感染していないマウスに MINO と IL2 をそれぞれ単独投与し、足蹠反応を施行した。その結果、足蹠反応は非感染群

と比較し、MINO の投与では同じレベル、IL2 の投与では軽度上昇していた。なお、*M. pul* はリンパ球に対してマイトージェン活性をもつことが報告³⁵⁾されている。これらの所見から、*M. pul* によってリンパ球が刺激され、それが肺病変に大量に動員されている場合には足蹠反応が抑制され、逆に肺病変が抑制されている場合には足蹠反応が亢進する傾向が示唆された。

5 結 語

CMI 反応が関与しているヒトのマイコプラズマ肺炎の治療に、免疫抑制剤、免疫調節剤の応用を計るための基礎的検討を行った。マウスの *M. pul* 肺炎モデルを作成し、MINO と PSL、MINO と CYA、MINO と IL2 の併用投与と、PSL、CYA、IL2 の各単独投与を行った。それぞれの治療における肺病変の修飾、接種菌の消長、宿主反応に及ぼす影響について MINO 単独投与の場合と比較検討し、以下の結論を得た。

1) 著者らの作成したマウスの *M. pul* 肺炎モデルは、各種免疫反応の関与した本感染症の治療効果を評価する上で有用であると思われた。

2) MINO 単独投与による治療では、肺胞腔内への炎症細胞の浸潤(肺胞腔内病変)はほぼ消失したが、気管支肺動脈周囲間質へのリンパ球、形質細胞の浸潤(気管支肺動脈周囲間質病変)は残存する傾向が認められ、肺の菌を完全に除去することはできなかった。

3) MINO と、PSL または CYA を併用投与することにより、肺胞腔内病変、気管支肺動脈周囲間質病変は共に、MINO 単独投与群より減少した。また、血中 *M. pul* 抗体価の上昇と、宿主の CMI 反応は抑制され、肺、気管の菌は MINO 単独投与群と同程度に残存していた。

4) MINO と IL2 の併用投与群では、肺胞腔内病変はほぼ消失したが、気管支肺動脈周囲間質病変は MINO 単独投与群と同程度に認められた。また、血中 *M. pul* 抗体価は上昇し、宿主の CMI 反応が活性化され、肺胞内に多くのマクロファージが浸出し、肺、気管の菌は今回の実験群の中で最も減少していた。このことから、除菌と肺炎形成阻止には、宿主の免疫防御機構を活性化させることが重要であることが示唆された。

5) 気管支肺動脈周囲間質病変は、CYA 単独投与群では感染対照群より抑制されていたが、IL2 単独投与群では逆に顕著となったことより、CMI 反応に関与した反応と考えられた。

6) 以上の結果から、マウスのマイコプラズマ肺炎

の治療には, 抗生剤を投与すると同時に, 宿主の CMI 反応を抑制させるか, または, 活性化させるという 2 つの方法が示唆された。

本稿を終えるにあたり, 御指導並びに御校閲下さった本学内科学第 3 講座, 鈴木 明教授, ならびに多大なる御助言をいただきました本学微生物学講座, 小熊 恵二教授に深く感謝の意を表します。

また, 感染実験に御協力いただいた帝京大学医学部動物実験施設の久原孝俊博士, 石黒敏一氏, 田島 優氏に深謝いたします。

尚, 本論文の要旨は昭和 61 年 4 月第 60 回日本感染症学会総会(東京), 昭和 62 年 4 月第 27 回日本胸部疾患学会総会(東京), 昭和 63 年 4 月第 28 回日本胸部疾患学会総会(仙台), 平成元年 4 月第 29 回日本胸部疾患学会総会(京都)において発表した。

文 献

1. Biberfeld, G.: Cell-mediated immune response following *Mycoplasma pneumoniae* infection in man. II. Leucocyte migration inhibition. **Clin. Exp. Immunol.** **17**, 43-49 (1974).
2. Taylor, G. and Taylor-Robinson, D.: The part played by cell-mediated immunity in mycoplasma respiratory infections. **Dev. Biol. Stand.** **128**, 195-210 (1975).
3. Howard, C. J. and Taylor, G.: Mycoplasma respiratory infection, In: Razin, S. and Barile, M. F.: The Mycoplasmas IV. Mycoplasma pathogenicity. 69-106, Academic Press, New York (1985).
4. Fraley, D. S., Ruben, F. L. and Donnelly, E. J.: Respiratory failure secondary to *Mycoplasma pneumoniae* infection. **South. Med. J.** **72**, 437-440 (1979).
5. Koletsky, R. J. and Weinstein, A. J.: Fulminant *Mycoplasma pneumoniae* infection. **Am. Rev. Respir. Dis.** **122**, 491-496 (1980).
6. Noriega, E. D., Simberkoff, M. S., Gilroy, F. J. and Rahal, J. J.: Life-threatening *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. **JAMA** **229**, 1471-1472 (1974).
7. 若狭真樹, 広瀬隆士, 松尾真一, 久保千春, 井上虎夫, 長野 準: マイコプラズマ感染症に続発した急性呼吸不全. **日胸疾会誌** **24**, 430-436 (1986).
8. Mizutani, H., Mizutani, H., Kitayama, H., Hayakawa, A., Nagayama H., Kato, J., Nakayama, K., Tamura, H. and Izuchi, T.: Delayed hypersensitivity in *Mycoplasma pneumoniae* infection. **Lancet** **1**, 186-187 (1971).
9. Biberfeld, G. and Sterner, G.: Tuberculin anergy in patients with *Mycoplasma pneumoniae* infection. **Scand. J. Infect. Dis.** **8**, 71-73 (1976).
10. Biberfeld, G. and Sterner, G.: Effect of *Mycoplasma pneumoniae* infection on cell-mediated immunity. **Infection** **4** (Suppl. 1) 17-20 (1976).
11. Kaklamanis, E. and Pavlatos, M.: The immunosuppressive effect of Mycoplasma infection. I. Effect on the humoral and cellular response. **Immunology** **22**, 695-702 (1972).
12. Adegboye, D. S.: A review of Mycoplasma-induced immunosuppression. **Br. Vet. J.** **134**, 556-560 (1978).
13. 田中裕士, 岡田春夫, 菅原洋行, 小場弘之, 鈴木 明, 田村 弘, 久原孝俊, 石黒敏一: マウスのマイコプラズマ感染症におけるヒツジ赤血球に対する遅延型アレルギー反応. **アレルギー** **35**, 1122-1125 (1986).
14. Hayflick, L.: Tissue cultures and mycoplasmas. **Tex. Rep. Biol. Med.** **23** (Suppl. 1), 285-303 (1965).
15. 菅原洋行, 田村 弘, 上出利光: ラットのマイコプラズマ感染における肺病変形成に関与する細胞性免疫の影響. **札幌医誌** **57**, 453-467 (1988).
16. 田村 弘: マウスの脳と呼吸器におけるマイコプラズマ持続感染. **感染症誌** **50**, 298-302 (1976).
17. Lagrange, P. H., Mackaness, G. B. and Miller, T. E.: Influence of dose and route of antigen injection on the immunological induction of T cells. **J. Exp. Med.** **139**, 528-542 (1974).
18. 田中裕士, 岡田春夫, 菅原洋行, 小場弘之, 鈴木 明, 田村 弘, 久原孝俊, 石黒敏一, 田島 優: マイコプラズマ感染症に関する研究 第 1 報—マウスにおける感染初期の抗生剤投与による各種パラメーターの変動—. **日本マイコプラズマ学会記録** **13**, 78-81 (1986).
19. 田中裕士, 岡田春夫, 鈴木 明, 田村 弘, 久原孝俊, 石黒敏一, 田島 優: マウス *Mycoplasma pulmonis* 肺炎の治療に関する検討—抗生剤と prednisolone の投与時期について—. **日本マイコプラズマ学会記録** **16**, 76-79 (1989).
20. 田中裕士, 小場弘之, 森 拓二, 森 雅樹, 常松和則, 名取 博, 浅川三男, 鈴木 明, 土井幹夫: マイコプラズマ肺病変の CT 像. **臨床放射線** **30**, 979-986 (1985).
21. Rollins, S., Colby, T. and Clayton, F.: Open lung biopsy in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. **Arch. Pathol. Lab. Med.** **110**, 34-41 (1986).
22. Slotkin, R. I., Clyde, W. A. and Denny, F. W.:

- The effect of antibiotics on *Mycoplasma pneumoniae* in vitro and in vivo. **Am. J. Epidemiol.** **86**, 225-237 (1967).
23. Foy, H. M., Grayston, J. T., Kenny, G. E., Alexander, E. R. and McMahon, R.: Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infection in families. **JAMA** **197**, 859-866 (1966).
 24. 岡崎則男, 明間鯉一郎, 滝沢金次郎, 広岡義郎, 小島幸司: *Mycoplasma pneumoniae* 感染患者における *M. pneumoniae* 分離と IHA 抗体価. **感染症誌** **63**, 714-719 (1989).
 25. Smith, C. B., Friedewald, W. T. and Chanock, R. M.: Shedding of *Mycoplasma pneumoniae* after tetracycline and erythromycin therapy. **N. Engl. J. Med.** **276**, 1172-1175 (1967).
 26. Biberfeld, G.: Antibody responses in *Mycoplasma pneumoniae* infection in relation to serum immunoglobulin, especially IgM. **Acta Path. Microbiol. Scand. [B]** **79**, 620-634 (1971).
 27. 梅津征夫, 千葉峻三, 小川説子, 中尾 享: *Mycoplasma pneumoniae* 感染症における血中 IgG および IgM 抗体の変動. **ウイルス** **24**, 157-163 (1974).
 28. Broel, J. F., Feurer, C., Magnee, C. and Stahelin, H.: Effect of the new antilymphocytic peptide cyclosporin A in animals. **Immunology** **32**, 1017-1025 (1977).
 29. Hess, A. D., Tutschka, P. J. and Santos, G. W.: Effect of cyclosporin A on human lymphocyte responses in vitro. III. CsA inhibits the production of T lymphocyte growth factors in secondary mixed lymphocyte responses but dose not inhibit the response of primed lymphocytes to TCGF. **J. Immunol.** **128**, 355-359 (1982).
 30. 田村 弘, 久原孝俊, 田島 優, 石黒敏一, 岡田春夫, 田中裕士, 鈴木 明: マウスを用いた T-cell 非依存性マイコプラズマ肺炎に関する検討. **日本マイコプラズマ学会記録** **15**, 43-48 (1988).
 31. Morgan, D. A. and Ruscetti, F. W.: Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. **Science** **193**, 1007-1008 (1976).
 32. Kern, D. E., Gillis, S., Okada, M. and Henney, S. C.: The role of interleukin 2(IL2) in the differentiation of cytotoxic T cells: The effect of mononuclear anti-IL2 antibody and absorption with IL2 dependent T cell lines. **J. Immunol.** **127**, 1323-1328 (1981).
 33. Denny, F. W., Taylor-Robinson, D. and Allison, A. C.: The role of thymus-dependent immunity in *Mycoplasma pulmonis* infection of mice. **J. Med. Microbiol.** **5**, 327-336 (1972).
 34. 吉田 博, 浜田隆臣, 安倍弘彦, 谷川久一, 田中信平, 入江 章, 吉川 仁, 吉村 篤: マイコプラズマ肺炎におけるリンパ球サブセットとツベルクリンアネルギーについての検討. **日本マイコプラズマ学会記録** **14**, 94-98 (1987).
 35. Naot, Y., Merchau, S., Ben-David, E. and Ginsberg, H.: Mitogenic activity of *Mycoplasma pulmonis*: I. Stimulation of rat B and T lymphocytes. **Immunology** **36**, 399-406 (1979).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第3講座 田中裕士