

*Mycobacterium avium* complex 症患者の  
CD4<sup>+</sup> αβ と γδ T細胞機能に関する検討  
—増殖能, IFN-γ, IL-10 産生能—

奈良県立医科大学第2内科学教室

岡村英生

STUDY ON FUNCTIONS OF CD4<sup>+</sup> αβ AND γδ T CELLS  
IN PATIENTS WITH *M. avium* COMPLEX DISEASE  
—PROLIFERATION AND IFN-γ AND IL-10 PRODUCTION—

HIDEO OKAMURA

Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received June 16, 2000

**Abstract:** Several cytokines play a crucial role in host defense immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. But in patients with non-tuberculous mycobacterial disease, the function of both CD4<sup>+</sup> αβ T cells and γδ T cells and the cytokine production of these cells have not yet been assessed. In this study, to elucidate the protective immune mechanism against *M. avium* complex (MAC) infection, I examined IFN-γ and IL-10 production in supernatants of coculture of infected monocytes and highly purified CD4<sup>+</sup> T or γδ T cells obtained from patients and healthy subjects. IFN-γ productions by CD4<sup>+</sup> T and γδ T cells were significantly higher in healthy subjects than those in patients: mean ng/ml of IFN-γ in supernatants was 11.90±1.38 in controls and 4.61±3.10 in patients for CD4<sup>+</sup> T cells (p<0.01), and 4.41±2.10 in controls and 1.27±1.38 in patients for γδ T cells (p<0.001), respectively. CD4<sup>+</sup> T cells produced significantly higher amounts of IFN-γ than did γδ T cells in patients and healthy subjects (p<0.01). In remarkable contrast, IL-10 production in the coculture of infected monocytes and CD4<sup>+</sup> T cells was significantly higher in patients than in healthy subjects: mean pg/ml of IL-10 in supernatants was 220±105 in patients and 136±39 in controls (p<0.05), respectively. These results suggest that the profile of those cytokines produced by CD4<sup>+</sup> T and γδ T cells may be closely related to pathogenesis of MAC disease. (奈医誌. J. Nara Med. Ass. 51, 206~213, 2000)

**Key words:** non-tuberculous mycobacterial disease, *M. avium* complex (MAC), CD4<sup>+</sup> T cell, γδ T cell, cytokine

緒 言

非定型抗酸菌群は一般に弱毒菌とみなされ、その感染症は従来から日和見感染症として位置づけられてきた。本菌群感染症のなかで、AIDS患者に高頻度に合併する

*Mycobacterium avium* complex (MAC)症が近年欧米で注目を集めている<sup>1,2)</sup>。MAC症はAIDSのような重篤な基礎疾患を有する例や栄養状態が極度に悪化している例など、全身的に感染抵抗性が減弱している時、また肺に既存の器質的病変があり局所的に抵抗性が減弱している

際に発症する<sup>3)</sup>。しかし、明らかな誘因のない健康人でも MAC に感染し発病する例も存在する。

これまで結核菌感染に対する生体の防御免疫の考察は多いが<sup>4)</sup>、非定型抗酸菌感染に対する防御免疫機序の検討は少ない。抗酸菌に対する宿主免疫は主にT細胞とマクロファージから構成され、これらの細胞の協同作用で抗酸菌抵抗力が発現すると考えられている<sup>5,6)</sup>。この抗酸菌抵抗力発現には各種サイトカインが大きな役割を担うことが知られている。特に動物モデルではヘルパーT細胞が産生する interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) と interleukin (IL)-12 の協調作用でマクロファージに細胞内結核菌増殖抑制能が誘導される<sup>7,8)</sup>。一方、IL-10 はマウス非定型抗酸菌感染モデルにおいて、IFN- $\gamma$  に拮抗作用を示すことから、MAC 感受性亢進作用が認められている<sup>9)</sup>。ヒトでは IFN- $\gamma$ 、IL-10 の MAC 抵抗力に与える作用の明確な意味づけはされていない。

これらサイトカイン産生に関するT細胞においては、CD4<sup>+</sup>  $\alpha\beta$  T細胞が抗酸菌免疫の中心的役割を担い、抗原特異的 IFN- $\gamma$  の産生や抗原特異的細胞障害作用を示す cytotoxic T細胞として働くことが知られている<sup>6,12)</sup>。

近年  $\gamma\delta$  T細胞の結核菌に対する反応性が、*in vitro*、*in vivo* で示され<sup>10,11)</sup>、このT細胞サブセットが結核免疫で重要な役割を果たしている可能性が明らかになっているが、非定型抗酸菌症での検討はこれまで報告がない。

本研究では MAC 症患者における CD4<sup>+</sup> T細胞と  $\gamma\delta$  T細胞の機能を、抗原特異的増殖能と IFN- $\gamma$  及び IL-10 産生能を中心に解析し、健康人の両T細胞機能と比較検討した。

## 対 象

対象は糖尿病、悪性腫瘍、肝炎患、AIDS などの合併症を認めない国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班の診断基準<sup>13)</sup>を満たす MAC 症患者 10 例(平均年齢 69.2 $\pm$ 5.5 歳)で、抗結核薬や MAC 症治療薬であるクラリスロマイシン投与開始前の症例である。対照は年齢と性別とを一致させた健康者 10 例(平均年齢 67.5 $\pm$ 8.7 歳)である。

## 材 料 と 方 法

### 1) CD4<sup>+</sup> T細胞の増殖、純化

MAC 症患者、健康者からヘパリン加採血、Ficoll-Hypaque 比重遠心法(400 g, 30 分間)で末梢血単核球細胞(PBMC)分画を分離、十分に洗浄後、細胞数を調整し、5 $\times$ 10<sup>6</sup> CFU/ml の MAC 生菌(*M. intracellulare* 31F093T)とともに、一週間培養した。増殖した CD4<sup>+</sup> T細胞のサブセットの純化はモノクローナル抗体をコート

したマグネティックビーズ(Dynal 社, Great Neck, NY)を用い、ネガティブセレクション法によった。最初に増殖細胞を抗  $\gamma\delta$  TCR(TCR- $\delta$  1)IgG 抗体(T Cell Science 社, Wobum, MA)で処理後、ヤギ抗マウス IgG、抗 CD8、CD19、抗 CD14 コートビーズを添加し、それぞれ  $\gamma\delta$  T細胞、CD8<sup>+</sup> T細胞、B細胞、単球画分を分離除去した。除去後の CD4<sup>+</sup> T細胞サブセットの純化度は FACSscan(Becton Dickinson 社, San Jose, CA)で常にモニターした。

### 2) $\gamma\delta$ T細胞の増殖、純化

$\gamma\delta$  T細胞の検討には CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>サブセットを用いたが、他のサブセット(CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>、CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>サブセット)の割合は一般に末梢血では低率で、その影響は少ないと考えられ、本検討では  $\gamma\delta$  T細胞機能をダブルネガティブ細胞に限定して測定した。

CD4<sup>+</sup> T細胞と同様の手順で、 $\gamma\delta$  T細胞を、抗 CD4、抗 CD8、抗 CD19、抗 CD14 コートビーズを用いて、CD4<sup>+</sup> T細胞、CD8<sup>+</sup> T細胞、B細胞、単球を除去し純化した。CD4<sup>+</sup> T細胞、 $\gamma\delta$  T細胞のいずれの純化も一度の操作で不十分な場合は同じ操作を再度繰り返し 90%以上の純化度を確認した。

### 3) 単球の分離

患者と健康者との PBMC をあらかじめ保存ヒト血清でコートしたプラスチックペトリディッシュに添加、附着細胞をセルスクラッパーで回収した。回収細胞の 90%以上がベルオキシダーゼ陽性の単球で、T細胞の混入は 5%以下であった。

### 4) T細胞増殖能の測定

抗原提示細胞としてのマイトマイシン処理自己単球(5 $\times$ 10<sup>4</sup>/well)、純化した各T細胞(2.5 $\times$ 10<sup>4</sup>/well)の培養系に、MAC 生菌(10<sup>6</sup>/well)または破傷風トキシノイド(対照抗原)(TET: Jamaica Plain, MA)(2.5  $\mu$ g/ml)を添加あるいは無添加の条件で 72 時間培養した。細胞を回収する 12 時間前に <sup>3</sup>H サイミジンを培養系に添加し、細胞内 DNA 中への <sup>3</sup>H の取込み量を測定し、増殖能として評価した。

### 5) IFN- $\gamma$ 、IL-10 産生能の測定

純化した CD4<sup>+</sup> あるいは  $\gamma\delta$  T細胞と自己単球とを MAC 生菌とともに培養し、48 時間後の上清中に含まれる IFN- $\gamma$ 、IL-10 量を ELISA kit(R & D 社, Minneapolis, MN)で測定(測定限界値; IFN- $\gamma$ : 50 ng/ml, IL-10: 500 pg/ml)した。

### 6) 統計処理

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示し、有意差の検定は Student's t-test で行い、危険率 5%未満を有意とした。

## 結 果

1) CD4<sup>+</sup> T細胞と  $\gamma\delta$  T細胞サブセットとの純化

MAC 刺激で1週間培養後、各T細胞サブセットに純化した。純化後の各サブセットをFACSscanで分析した一例をCD3<sup>+</sup>でゲート後の結果で示した(Fig. 1)。CD4<sup>+</sup> T細胞はCD3<sup>+</sup> T細胞の96.2%、 $\gamma\delta$  T細胞は99.5%の純度が達成されていた。患者、健康者全症例で互いに他のサブセットの混入は5%以下であった。検討した全例

でのNK細胞混入率は1.78±1.05%と、影響は無視しうるものと判断した。

2) 活性化CD4<sup>+</sup> T細胞と  $\gamma\delta$  T細胞の増殖能

一週間MAC刺激により活性化されたT細胞を各T細胞サブセットに純化し、それぞれのサブセット別にMAC, TET に対する反応性を検討した(Fig. 2)。CD4<sup>+</sup> T細胞は健康群 34700 cpm±11100 cpm, 患者群 16100±10200(p<0.01),  $\gamma\delta$  T細胞は健康群 16000±7300, 患者群 6200±3800(p<0.05)で、ともにMAC刺激では健康

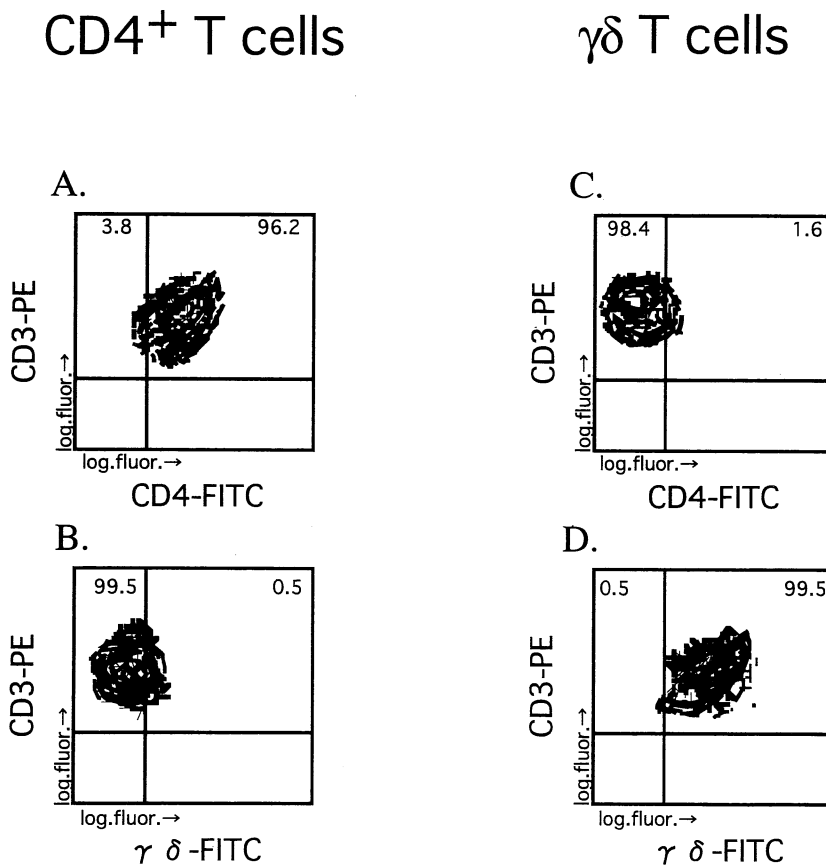


Fig. 1. Analysis by flow cytometry of purified CD4<sup>+</sup> (A, B) and  $\gamma\delta$  T cells (C, D) obtained by negative selection, with Ab-coated magnetic beads from PBMCs stimulated with live MAC ( $5 \times 10^6$  cells/ml) for 7 days. Sorted T cells were stained and analyzed by two-color flow cytometry. y-axis for each panel represents PE fluorescence for CD3, and x-axis represents FITC fluorescence for either CD4 or  $\gamma\delta$  T cell receptor. Background fluorescence was less than 5%, as measured by phycoerythrin and FITC-conjugated isotypic controls. Results shown are for cells that have been gated as CD3<sup>+</sup>.

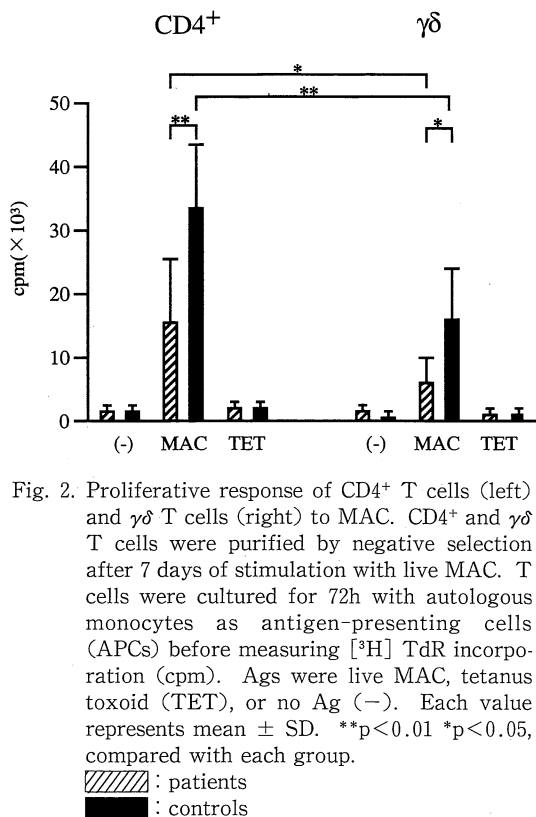


Fig. 2. Proliferative response of CD4<sup>+</sup> T cells (left) and γδ T cells (right) to MAC. CD4<sup>+</sup> and γδ T cells were purified by negative selection after 7 days of stimulation with live MAC. T cells were cultured for 72h with autologous monocytes as antigen-presenting cells (APCs) before measuring [<sup>3</sup>H] TdR incorporation (cpm). Ags were live MAC, tetanus toxoid (TET), or no Ag (-). Each value represents mean ± SD. \*\*p<0.01 \*p<0.05, compared with each group.

▨ : patients  
 ■ : controls

群が患者群に比べて有意に増殖能が高かった。また健常群、患者群ともに CD4<sup>+</sup> T 細胞が γδ T 細胞より有意に増殖能が高かった(健常群 : p<0.001, 患者群 : p<0.05)。抗原非添加, TET 添加時は患者, 健常者とも有意の増殖能を示さなかったため, CD4<sup>+</sup>, γδ 両 T 細胞の増殖は MAC 特異的であることが示唆された。

3) 健常者での MAC 刺激の有無による CD4<sup>+</sup> T 細胞と γδ T 細胞との IFN-γ, IL-10 産生能。

MAC 刺激の有無, 単球(Mo)添加の有無で 4 群に分け, サイトカイン産生能を検討した。

A) IFN-γ 産生能(Fig. 3)

自己単球の存在下に MAC 刺激を加えた CD4<sup>+</sup> T 細胞 (T+Mo+MAC) の IFN-γ 産生量は 11.90±1.38 ng/ml と他群と比較して有意に高値であった(p<0.001)。γδ T 細胞でも同様, 自己単球存在下に MAC 刺激を加える (T+Mo+MAC) と IFN-γ 産生量は 4.41±2.10 ng/ml と他群と比較して有意に高値であった(p<0.05)。い

ずれの T 細胞も MAC 特異的に増殖応答を示したことから (Fig. 2), 両 T 細胞ともに特異的抗原刺激で IFN-γ を産生したと考えられる。さらに, この反応には抗原提示細胞としての単球が必要であることが認められた。

B) IL-10 産生能(Fig. 4)

CD4<sup>+</sup> T 細胞ならびに γδ T 細胞の MAC 刺激による IL-10 産生量も, 自己単球存在下 (T+Mo+MAC) で, それぞれ 136±39 pg/ml, 162±48 pg/ml と他群より有意に高値 (p<0.001, p<0.001) であり, IL-10 も抗原提示細胞存在下で MAC 特異的に産生された。

4) 患者群と健常群の比較

A) IFN-γ 産生能(Fig. 5)

CD4<sup>+</sup> T 細胞の IFN-γ 産生量は患者群で 4.61±3.10 ng/ml, 健常群で 11.90±1.38 ng/ml と, 患者群で有意に低下していた (p<0.01)。γδ T 細胞でも患者群で 1.27±1.38 ng/ml, 健常群で 4.41±2.10 ng/ml と, 患者群で有意に低下していた (p<0.001)。患者群, 健常群とも CD4<sup>+</sup> T 細胞が γδ T 細胞に比べ有意に高値の IFN-γ 産生を示した (p<0.01)。

B) IL-10 産生能(Fig. 6)

CD4<sup>+</sup> T 細胞の IL-10 産生量は患者群で 220±105 pg/ml, 健常群で 136±39 pg/ml と, 患者群で有意に上昇していた (p<0.05)。γδ T 細胞では患者群 235±131 ng/ml, 健常群 162±48 ng/ml と患者群で上昇傾向を認めた。各群内での T 細胞サブセット間に有意差はなかった。

考 察

産生サイトカインの種類により, ヒトでも CD4<sup>+</sup> T 細胞. IFN-γ 産生型 Th1 細胞と IL-10 産生型 Th2 細胞の二群に分類可能とされている。結核免疫でも T 細胞産生 IFN-γ 及び IL-10 のマクロファージに対する相反する作用の均衡の乱れが発病, 進展へとつながる可能性が指摘されている<sup>14)</sup>。しかし, MAC と結核菌とに対する免疫反応の異同はこれまで明らかにされていない。

従来からマクロファージの MAC 増殖抑制作用を誘導するサイトカインについて, 主に *in vitro* の動物モデルで検討されてきたが, 報告により結果は必ずしも一致せず<sup>15,16)</sup>, さらにヒトでの報告はほとんどない。IFN-γ は抗酸菌抵抗性発現の鍵を握るサイトカインの一つと考えられ, 抗酸菌免疫における重要性を示す報告は多い。IFN-γ 遺伝子ノックアウトマウスは高抗酸菌感受性になり<sup>17)</sup>, 活動性肺結核患者の単核球は purified protein derivative (PPD) 刺激による IFN-γ 産生能の低下が認められている<sup>18)</sup>。また, 遺伝的に IFN-γ 受容体機能低下が存在する患者では致死性の BCG 感染症を起こしえる<sup>19)</sup>。

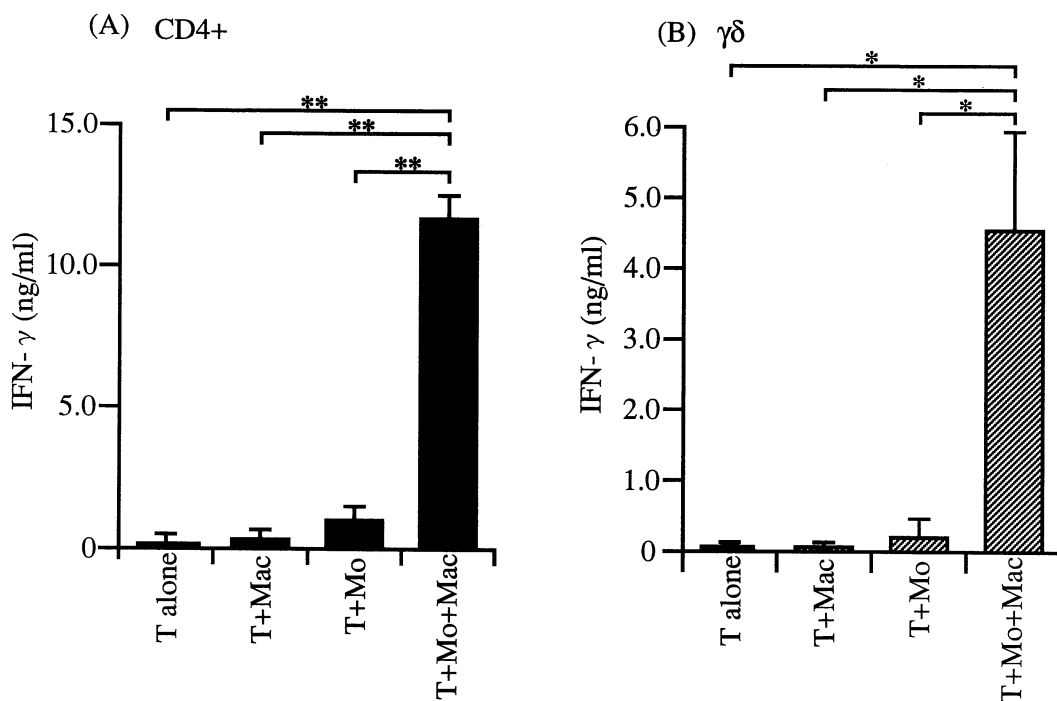


Fig. 3. IFN- $\gamma$  production by CD4<sup>+</sup> T cells and  $\gamma\delta$  T cells from control group stimulated with MAC. T cells ( $5 \times 10^5$ /well) were incubated with and without autologous monocytes ( $5 \times 10^5$ /well) as APCs, and Ags. Supernatants were harvested after 48h for measurement of IFN- $\gamma$ . Cytokines were measured by ELISA. Each value represents mean  $\pm$  SD (\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$ ).

しかし、MAC感染に対するIFN- $\gamma$ 作用は詳細に検討されておらず、特にヒトではmacrophage colony-stimulating factorとの併用効果が報告されているのみである<sup>15,16</sup>。今回のMAC症患者の解析結果で、T細胞のIFN- $\gamma$ 産生能が患者群で低下していたことは、ヒトのMAC感染抵抗性においてもIFN- $\gamma$ が重要な役割を担い、IFN- $\gamma$ 産生能の低下が発症と病態進展に関与する可能性を示唆している。

一方、IL-10はマウスのMAC感染実験でIFN- $\gamma$ 等の促進性サイトカインに拮抗的に働き、マクロファージによる抗菌作用を抑制するとする報告がある<sup>9,20</sup>。今回の検討で、IL-10産生能は患者群で健常群に比し、CD4<sup>+</sup>T細胞で有意に高値で、 $\gamma\delta$ T細胞でも高値傾向にあった。結核免疫におけるIL-10の役割は、結核菌に対するマクロファージの抗菌活性およびT細胞のIFN- $\gamma$ 産生、それぞれに対する抑制作用と考えられている<sup>21</sup>。MAC症患者でもT細胞のIL-10産生能が亢進していた事実は、

MAC感染においても結核感染と同様に、Th1細胞の機能低下とTh2細胞による抑制性因子の産生増加が、発症要因の一つと考えられる。

結核菌のheat shock proteinに増殖反応することから注目された $\gamma\delta$ T細胞は、ヒトやマウスでは*in vitro*、*in vivo*において結核菌蛋白抗原に強い反応性を示し、結核免疫に深く関わっていると考えられている。今回の実験で、MAC症患者の $\gamma\delta$ T細胞のMAC特異的増殖能とIFN- $\gamma$ 産生能がともに、CD4<sup>+</sup>T細胞と比較して有意に低下していることが明らかとなった。結核菌に対する反応ではCD4<sup>+</sup>T細胞も $\gamma\delta$ T細胞も、増殖応答やIFN- $\gamma$ 産生能については全く同等であることから<sup>11</sup>、今回の結果はMAC感染により誘導された特異的抑制反応と考えられた。MAC症患者で $\gamma\delta$ T細胞の反応性が結核患者の同細胞より低い原因は、MACが結核菌に比べて弱毒菌であるため、感染初期に強く反応する $\gamma\delta$ T細胞の反応性が弱いものと考えられた。

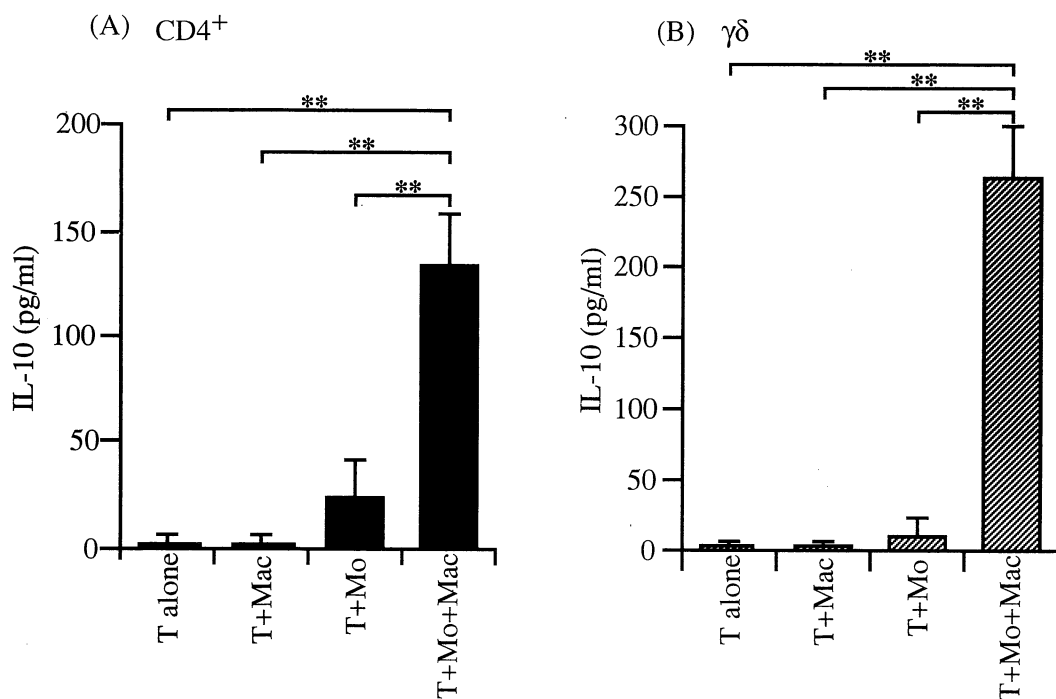


Fig. 4. IL-10 production by CD4<sup>+</sup> T cells and γδ T cells from control group stimulated with MAC. T cells (5×10<sup>5</sup>/well) were incubated with and without autologous monocytes (5×10<sup>5</sup>/well) as APCs, and Ags. Supernatants were harvested after 48h for measurement of IL-10. Cytokines were measured by ELISA. Each value represents mean ± SD (\*\*p<0.001).

本研究では、MAC 症患者からえた T 細胞の MAC 生菌に対する反応性を、増殖応答及びサイトカイン産生能から検討した。この様な解析報告は他に存在しない。本研究結果は患者体内で生じるサイトカイン産生動態を反映したものであり、有効な薬剤が少ない MAC 症に対して将来の IFN 療法の端緒を開きえるものになると考えられる。

### 結 語

MAC 症患者 10 例と対照として健常者 10 例とについて、MAC 生菌刺激による CD4<sup>+</sup> T 細胞と γδ T 細胞の増殖能、IFN-γ、IL-10 産生を測定、比較検討した。

- 1) 増殖能では、CD4<sup>+</sup> T 細胞、γδ T 細胞ともに健常群が患者群に比べて有意に高かった。また健常群、患者群ともに CD4<sup>+</sup> T 細胞が γδ T 細胞より有意に高かった。
- 2) 患者群は健常群と比較して CD4<sup>+</sup> T 細胞と γδ T

細胞との IFN-γ 産生能の有意な低下を認めた。

- 3) 患者群は健常群と比較して CD4<sup>+</sup> T 細胞で IL-10 産生能の有意な亢進を認めた。
- 4) 患者群では CD4<sup>+</sup> T 細胞と比較して γδ T 細胞の IFN-γ 産生能の有意な低下を認めた。

MAC 症患者での IFN-γ と IL-10 産生動態と、CD4<sup>+</sup> T 細胞と γδ T 細胞の両サイトカイン産生能の差異は、MAC 症免疫と結核免疫との相違をヒトで初めて明らかにし、MAC 症の免疫学的機序の一部を示した。

なお本論文の要旨は第 74 回日本結核病学会総会(1999 年 4 月宇都宮)、第 70 回実験結核研究会(2000 年 4 月大阪)、第 96 回アメリカ胸部疾患学会(2000 年 5 月トロント)で発表した。

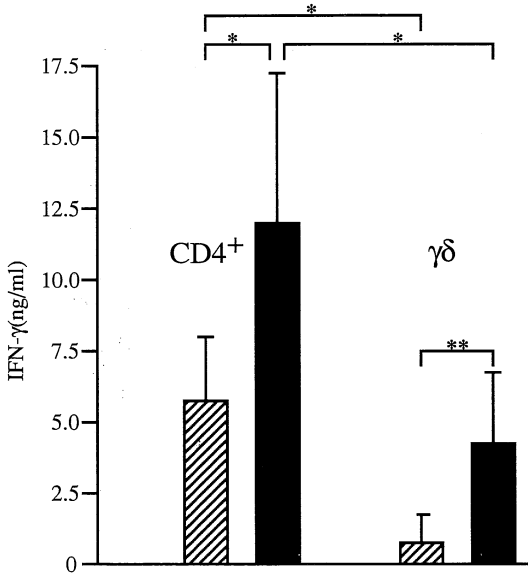


Fig. 5. IFN- $\gamma$  production by CD4<sup>+</sup> T cells and  $\gamma\delta$  T cells from patients and controls. T cells ( $5 \times 10^5$ ) were incubated with autologous monocytes and live MAC. Supernatants were harvested after 48h and measured for IFN- $\gamma$  by ELISA. Each value represents mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.001$ , compared with each group.

▨ : patients  
 ■ : controls

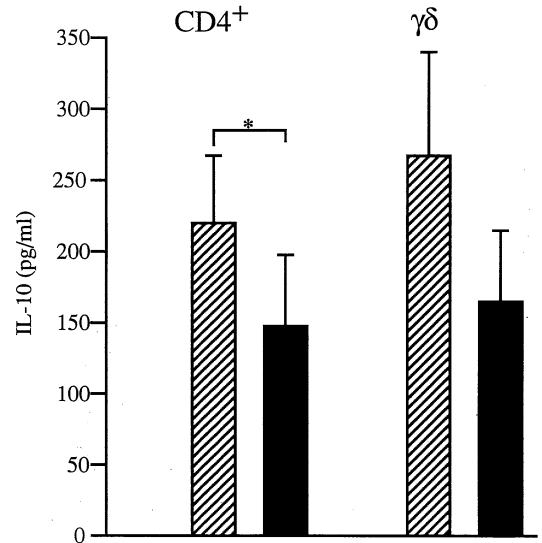


Fig. 6. IL-10 production by CD4<sup>+</sup> T cells and  $\gamma\delta$  T cells from patients and controls. T cells ( $5 \times 10^5$ ) were incubated with autologous monocytes and live MAC. Supernatants were harvested after 48h and measured for IL-10 by ELISA. Each value represents mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$ , compared with each group.

▨ : patients  
 ■ : controls

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました第2内科学教室成田亘啓教授に心から感謝の意を表しますとともに、御校閲、御助言を賜りました細菌学教室喜多英二教授ならびに第3内科学教室福井博教授に深謝申し上げます。また直接に御指導、御教示いただきました第2内科学教室米田尚弘助教ならびに塚口勝彦助手に感謝致します。さらに本研究に御協力頂きました細菌学教室ならびに第2内科学教室諸兄に感謝致します。

## 文 献

- Holzman, R. S. : Infection by *M. avium-intracellulare* Complex in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. : Tuberculosis. (Rom WN, Gray Sed.) Little, Brown and company, Boston, 711-720, 1996.
- Fordham, V. R., Robert, D. A., Anna, N. A. T. and The International MAC Study Group : The international epidemiology of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in AIDS. AIDS. 10 : 1025-1032, 1996.
- 岡村英生, 塚口勝彦, 生野雅史, 小林厚, 福岡篤彦, 竹中英昭, 山本智生, 岡本行功, 夫彰啓, 吉川雅則, 米田尚弘, 成田亘啓 : 肺非定型抗酸菌症の増悪因子の検討—栄養障害との関連—. 結核 74 : 341-345, 1999.
- Schluger, N. W. and Rom, W. N. : The Host Immune Response to Tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 157 : 679-691, 1998.
- Mustafe, A. S. and Godal, T. : BCG-induced CD4<sup>+</sup> cytotoxic T cells from BCG vaccinated healthy subjects : relation between cytotoxicity

- and suppression in vitro Clin Exp Immunol. **69** : 255-262, 1987.
- 6) **Boom, W. H., Wallis, R. S. and Chervenak, K. A.** : Human *Mycobacterium tuberculosis* - reactive CD4<sup>+</sup> T cell clones: heterogeneity in antigen recognition, cytokine production, and cytotoxicity for mononuclear phagocytes. Infect Immun. **59** : 2737-2743, 1991.
  - 7) **Flynn, J. L., Chan, J., Triebold, K. J., Dalton, D. K., Stewart, T. A. and Bloom, B. R.** : An essential role for interferon in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. J Exp Med. **178** : 2249-2254, 1993.
  - 8) **Castro, A. G., Silva, R. A. and Appelberg, R.** : Endogenously produced IL-12 is required for the induction of protective T cells during *mycobacterium avium* infections in mice. J. Immunol. **155** : 2013-2019, 1995.
  - 9) **Luiz, E. B. and Jamila, C.** : Infection with *Mycobacterium avium* induces production of interleukin-10, and administration of anti-IL-10 to infection in mice. Infect Immun. **61** : 3093-3097, 1993.
  - 10) **Boom, W. H., Kithingahalli, N. B., Nayak, R., Tsukaguchi, K. and Chervenak, K. A.** : Characterization of a 10- to 14-kilodalton protease sensitive *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra antigen that stimulates human  $\gamma\delta$  T cells. Infect Immun. **62** : 5511-5518, 1994.
  - 11) **Griffin, J. P., Harshan, K. V., Born, W. K. and Orme, I. M.** : Kinetics of accumulation of  $\gamma\delta$  receptor-bearing T lymphocytes in mice infected with live mycobacteria. Infect Immun. **59** : 4263-4265, 1991.
  - 12) **Tsukaguchi, K., Kithingahalli, N. B. and Boom, W. H.** : CD4<sup>+</sup>  $\alpha\beta$  T cell and  $\gamma\delta$  T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis* : Similarities and differences in Ag recognition, cytotoxic effector function, and cytokine production. J Immunol. **154** : 1786-1796, 1995.
  - 13) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班 : 非定型抗酸菌感染症(肺感染症)の診断基準. 結核. **60** : 51, 1985.
  - 14) **Torres, M., Herrera, T., Villareal, H., Rich, E. A. and Sada, E.** : Cytokine profiles for peripheral blood lymphocytes from patients with active pulmonary tuberculosis and healthy household contacts in response to the 30-kilodalton antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun. **66** : 176-180, 1998.
  - 15) **Eduardo, L. Bermudez, M. and Young, L. S.** : Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activates human macrophage to inhibit growth or kill *Mycobacterium avium* complex. J Leuko Biol. **48** : 67-73, 1990.
  - 16) **Rose, R. M., Fuglestad, J. M. and Remington, L.** : Growth inhibition of *Mycobacterium avium* complex in human alveolar macrophages by the combination of recombinant macrophage colony-stimulation factor and interferon-gamma. Am J Respir Cell Mol Biol. **4** : 248-254, 1991.
  - 17) **Cooper, A. M., Dalton, D. K., Stewart, T. A., Griffin, J. P., Russell, D. G. and Orme, I. M.** : Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. J Exp Med. **178** : 2243-2247, 1993.
  - 18) **Vilcek, J., Klion, A., Henriksen-DeStefano, D., Zemtsov, A., Davidson, D. M., Davidson, M., Friedman-Kien, A. E. and Le, J.** : Defective gamma interferon production in peripheral blood leukocytes of patients with acute tuberculosis. J Clin Immunol. **6** : 146-151, 1986.
  - 19) **Jouanguy, E., Altare, F., Lamhamedi, S., Revy, P., Emile, J. F., Newport, M., Levin, M., Blanche, S., Seboun, E., Fischer, A. and Casanova, J. L.** : Interferon-gamma receptor deficiency in an infant with fetal bacille Calmette-Guerin infection. N Eng J Med. **335** : 1956-1961, 1996.
  - 20) **Yamamura, M., Uyemura, K., Deans, R. J., Weinberg, K., Rea, T. H., Bloom, B. R. and Modlin, R. L.** : Defining protective response to pathogens : cytokine profiles in leprosy lesions. Science. **254** : 277-279, 1991.
  - 21) **Fujiwara, H., Kleinhenz, M. E., Wallis, R. S. and Ellner, J. J.** : Increased interleukin-1 production and monocyte suppression cell activity associated with human tuberculosis. Am Rev Respir Dis. **133** : 73-77, 1986.