
原	著
---	---

ヒト単球由来マクロファージにおける liver X receptor α の 発現と脂質代謝に関する研究

加 澤 敏 広

新潟大学大学院医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻
内部環境医学大講座呼吸器内科学分野
(主任：下条文武教授)

Expression of Liver X Receptor α in Human monocyte - derived Macrophages and Lipid Metabolism

Toshihiro KAZAWA

*Division of respiratory medicine,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Director: Prof. Fumitake GEIYO)*

要 旨

Liver X receptor α (LXR α) は核内受容体スーパーファミリーのひとつであり、主にマクロファージに発現して脂質代謝に関わる。本研究では GM-CSF の存在下で分化したヒト単球由来マクロファージ (GM-M ϕ) と M-CSF の存在下で分化したマクロファージ (M-M ϕ) を用いて、LXR α と脂質関連分子の発現について検討を行った。培養 5 日後の GM-M ϕ は M-M ϕ に比べて LXR α と ABCA1 陽性細胞が有意に多く、LXR α の蛋白発現が高かった。培養 5 日目に酸化 LDL を添加し、その 48 時間後の GM-M ϕ は M-M ϕ に比べ脂質の取り込みは有意に増加した。以上の結果から、GM-M ϕ は M-M ϕ に比べ脂質代謝により大きく関与していると考えられた。GM-M ϕ は LLXR α の合成リガンド T0901317 によって LXR α と ABCA1 の蛋白発現が増加した。GM-M ϕ に LPS や Zymosan を添加すると LLXR α や ABCA1 の他、MSR-A の発現も有意に減少した。さらに GM-M ϕ に LPS や Zymosan を添加し、さらに酸化 LDL を添加すると 5 日後に脂質の著しい蓄積が見られた。以上の成績から LLXR α はマクロファージの炎症反応と脂質代謝に重要な役割を果たしており、LPS や Zymosan による LXR α および ABCA1 の発現低下が泡沫細胞の形成に関与すると考えられた。

キーワード：LXR α 、ヒト単球由来マクロファージ、GM-CSF、脂質代謝、炎症

Reprint requests to: Toshihiro KAZAWA
Division of respiratory medicine
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科呼吸器内科学分野
(第二内科学教室) 加澤敏広

緒 言

Liver X receptor α (LXR α) は、コレステロールなどの脂質代謝を制御する核内受容体である。リガンドである酸化低密度リポ蛋白 (oxidized low density lipoprotein: oxLDL) など酸化ステロールと結合すると活性化され, Retinoid X receptor α (RXR α) とヘテロダイマーを形成し, 標的遺伝子の発現を誘導する^{1)–3)}. LXR α は, ヒトやマウスでは肝臓, 脾臓, 小腸, 肺, 脂肪組織などに発現する他, マクロファージに強い発現が見られる^{4)–6)}. マクロファージのコレステロール排出に関わる ATP-binding cassette transporter (ABCA1) や Apolipoprotein E (ApoE) などは LXR α の標的遺伝子である^{7)–9)}. 最近, マクロファージは LXR α を介して炎症と脂質代謝に関与し, 動脈硬化発症に重要な役割を果たしていることが明らかにされた. ApoE ノックアウトマウスの動脈硬化病変は, LXR α/β ノックアウトマウスの骨髄を移植すると病変が拡大し, LDL 受容体ノックアウトマウスに LXR α のリガンドを投与すると動脈硬化病変が縮小することが報告されている^{10) 11)}. また, lipopolysaccharide (LPS) はマクロファージにおける ABCA1 や ApoE の発現を抑制し, コレステロール排出機能の抑制する¹²⁾. しかし, マクロファージにおける脂質代謝と炎症反応の関連は十分な解明を見ていない.

マクロファージの分化, 成熟には顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 Granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) やマクロファージコロニー刺激因子 macrophage-CSF (M-CSF) などの成長因子が必要である. GM-CSF または M-CSF の存在下で分化した単球由来マクロファージ (それぞれ GM-M ϕ , M-M ϕ) は機能, 形態や表面マーカーや発現する受容体に差異があり, さらに組織分布が異なる¹³⁾. 本研究では, ヒト単球由来マクロファージ (GM-M ϕ と M-M ϕ) を用いて表面マーカーの発現や脂質代謝に関わる受容体の発現や機能について検討した. また, GM-M ϕ を用いて LXR α の合成リガンドや LPS, Zymosan を添加し, LXR α およびその

標的遺伝子の発現と脂質代謝能の変化について検討した.

材料と方法

1. 抗体

抗体は, マウス抗ヒト LXR α モノクローナル抗体 (以下 LXR α 抗体) (Perseus Proteomics Inc, 東京, 日本), マウス抗ヒト RXR α モノクローナル抗体 (以下 RXR α 抗体) (Perseus Proteomics Inc), マウス抗マクロファージスカベンジャー受容体 class A モノクローナル抗体 MSR-A (以下 MSR-A 抗体) (熊本大学竹屋教授より恵与), マウス抗ヒト CD36 モノクローナル抗体 (以下 CD36 抗体) (Beckman coulter, Buenos Aires, Argentina), マウス抗ヒト CD14 モノクローナル抗体 (以下 CD14 抗体) (Novocastra, Newcastle-upon-Tyne, UK), マウス抗ヒト CD71 モノクローナル抗体 (以下 CD71 抗体) (Novocastra), マウス抗ヒト CD163 モノクローナル抗体 (以下 CD163 抗体) (Novocastra), ウサギ抗ヒト ABCA1 ポリクローナル抗体 (以下 ABCA1 抗体) (Novus Biologicals, Littleton, CO), ウサギ抗ヒト ABCA1 ポリクローナル抗体 (以下 ABCA1 抗体) (AbCam, Cambridge, UK), マウス抗ヒト Actin モノクローナル抗体 (以下 Actin 抗体) (Oncogene sciences, Uniordale, NY) を使用した. 免疫染色には LXR α 抗体, RXR α 抗体, MSR-A 抗体, CD35 抗体, CD14 抗体, CD71 抗体, CD163 抗体, ABCA1 抗体を, それぞれ 1:100, 1:100, 1:1, 1:100, 1:100, 1:100, 1:50, 1:200 の希釈倍率で使用した. Western blot には, LXR α 抗体, RXR α 抗体, MSR-A 抗体, ABCA1 抗体, Actin 抗体をそれぞれ 1:1000, 1:1000, 1:100, 1:1000 と 1:2000 の希釈倍率で使用した.

2. ヒト単球培養

健康者から得られた Buffy coat から LymphoprepTM (AXIS SHIELD, Oslo, Norway) を用いて末梢血単核細胞 (PBMC) を分離した. 分離した PBMC は 35mm/Tissue Culture Dish (IWAKI, 東京, 日本)

に 2.0×10^6 個ずつ播種し、5% CO₂, 37°C で 2 時間培養した。その後、浮遊細胞を除去し、附着細胞を単球として使用した。トリパンブルー染色では、細胞の生存率は 95% 以上であり、Giemsa 染色では 95% 以上の細胞が単球であった。単球は 10% 非動化胎仔ウシ血清 (JRH Biosciences Inc, Lenexa, KS), ペニシリン (100U/ml), ストレプトマイシン (100mg/ml) 含有 RPMI1640 培養液 (SIGMA-ALDRICH, Irvine, UK) に、recombinant human GM-CSF (Immunex Co, Seattle WA) 2.8×10^3 units/ml, または recombinant human M-CSF (森永乳業, 神奈川, 日本) 1.0×10^4 units/ml を添加培養し、それぞれ 3, 5, 7 日後に回収した。培養 5 日後に LPS (0.01-500 μ g/ml, SIGMA, St Louis MO), または Zymosan (0.1-500mg/ml, SIGMA, St Louis MO) を添加し、経時的に細胞を回収した。LPS と Zymosan は細胞毒性が生じない最大量まで添加した。同様に培養 5 日後に、10% lipoprotein deficient serum (LPDS, SIGMA, St Louis MO) 含有 RPMI1640 に入れ替え、T0901317 (Caymann chemical, Ann Arbor, MI) 0.1-10 μ M, または、酸化 LDL (東京大学野口範子先生より恵与) を添加し、経時的に細胞を回収した。

3. 免疫組織化学染色

培養細胞はアセトンまたは 4% パラホルムアルデヒドで固定し、内因性ペルオキシダーゼの阻害を行った。一次抗体を 4°C, 一晩反応させ、二次抗体はシンプルステイン MAX PO Multi (フナコシ, 東京, 日本) を使用した。発色基質は 3', 3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) (同人堂, 熊本, 日本) を使用した。また、培養細胞は LXR α 抗体を用いた免疫染色と Oil red O 染色との二重染色を施行した。光学顕微鏡下で全体に占める陽性細胞数の割合 (細胞 500 当たり) を算定した。

4. Western blot

培養細胞に 1% Triton X, 150mM NaCl, 50mM Tris-HCl pH8.0, 5mM EDTA, 10 μ g/ml Aprotinin,

10 μ g/ml leupeptin, 1mM PMSF の混合溶液を加え、氷上に 30 分静置後、14000rpm 15 分間遠心し蛋白を抽出した。蛋白は 8% SDS-PAGE で分離し、PVDF メンブレン (Amersham, Aylesbury, UK) に転写した。メンブレンは、5% スキムミルクで一晩ブロッキング後、一次抗体 1 時間、二次抗体 anti-mice Ig-horseradish peroxidase-liked F (ab)₂ fragment (Amersham), または anti-rabbit Ig-horseradish peroxidase-liked F (ab)₂ fragment (Amersham) を 30 分反応させた。ECL detection system (Amersham) で可視化した。

5. 統計処理

各実験ではそれぞれ 3 検体について検討し、平均値と標準偏差を算出した。統計比較は Student's *t*-test を用いて行い、有意差は $P < 0.05$ とした。

結 果

1. ヒト単球由来マクロファージにおける形態・表面マーカー発現

ヒト単球は比較的小型、円形の細胞であるが、GM-CSF の存在下で 5 日間培養したマクロファージ (GM-M ϕ) は細胞質が広く、丸く大きな細胞 (Round type) が多数であった。一方、M-CSF の存在下で分化したマクロファージ (M-M ϕ) では紡錘状の細胞 (Spindle type) が大きな割合を占めていた。免疫染色では、培養 5 日後の GM-M ϕ および M-M ϕ の大部分に CD163, MSR-A の発現を認めた (図 1)。CD14 陽性細胞は GM-M ϕ には少なく、M-M ϕ では有意に多かった。逆に、CD71 は、M-M ϕ ではほとんど発現せず、GM-M ϕ では有意に発現が多かった。

2. GM-M ϕ , M-M ϕ における脂質代謝関連受容体の発現と脂質蓄積

GM-M ϕ と M-M ϕ は GM-CSF および M-CSF 非添加 (Vehicle) マクロファージと比較して、培養 3 日後より LXR α , RXR α , ABCA1 および MSR-A の蛋白発現が高く、さらに GM-M ϕ は M-M ϕ と比較して LXR α と RXR α の蛋白発現

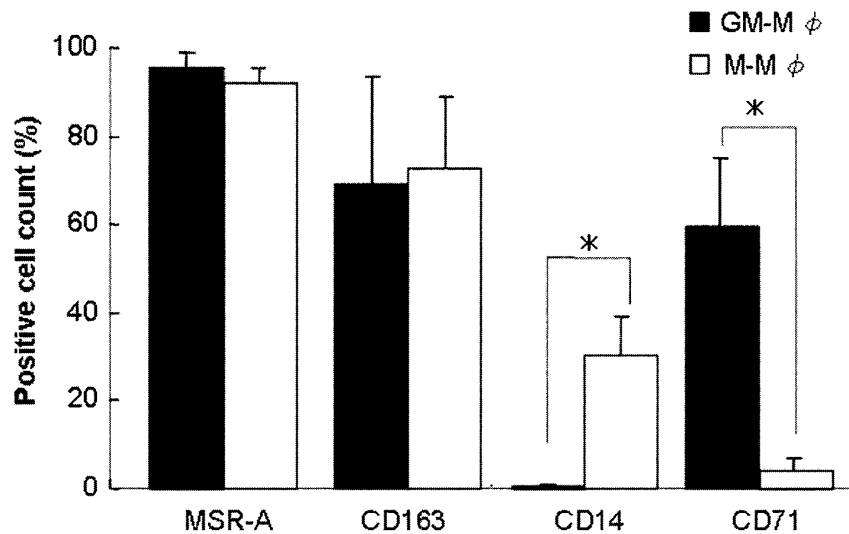


図1 ヒト単球由来マクロファージにおける形態・表面マーカー発現

GM-MφではCD71陽性細胞の割合が高く、M-MφではCD14陽性細胞の割合が高くなっている。* $P < 0.05$

が高かった (図 2A, B)。また、培養 7 日後の GM-Mφ では、LXR α 、RXR α 、ABCA1 陽性細胞数が M-Mφ より有意に多かった (図 3A, B)。GM-Mφ、M-Mφ に酸化 LDL を投与すると 24 時間後から Oil red O 染色陽性細胞が出現、増加した。LXR α の免疫染色と Oil red O 染色による二重染色では、LXR α 発現細胞に脂質蓄積が確認された。Oil red O 染色陽性細胞数は酸化 LDL (50 μ g/ml) 投与 72 時間後まで増加傾向を示した。投与 48 時間後では M-Mφ に比べ GM-Mφ に有意に Oil red O 陽性細胞の増加が見られた (図 4A, B)。

3. GM-MφにおけるLXR α 発現の変化

培養 5 日後の GM-Mφ に T0901317 (5 μ M) を添加すると、LXR α 蛋白は 24 ~ 48 時間後に発現量が最大となり、ABCA1 蛋白もほぼ同様に発現量の増加が見られた。RXR α や MSR-A の発現量の変化はなかった (図 5)。さらに培養 5 日後の GM-Mφ に LPS (500 μ g/ml) または Zymosan (500mg/ml) を添加すると、添加 5 ~ 9 日後に

LXR α 蛋白および ABCA1 蛋白の発現が低下した (図 6A, B)。MSR-A の蛋白発現は添加 48 時間 ~ 9 日後に減少した。RXR α 蛋白の発現に有意な変化はなかった。

4. GM-MφにおけるLXR α 発現と脂質排出能の変化

培養 5 日後の GM-Mφ に LPS (100 μ g/ml) または Zymosan (500mg/ml) を前添加し、酸化 LDL (50 μ g/ml) を添加し、さらに 5 日培養すると、前添加せず酸化 LDL のみ添加した群と比較して Oil red O 染色陽性細胞数は著しく増加した (図 7)。

考 察

本研究ではまず、ヒト単球由来マクロファージに及ぼすマクロファージ増殖因子の作用を検討した。従来、GM-Mφ は CD71^{high}・HLA-DQ^{high}・CD14^{low} という表面マーカーや H₂O₂ 耐性、Catalase 活性などの機能面から肺胞マクロファ-

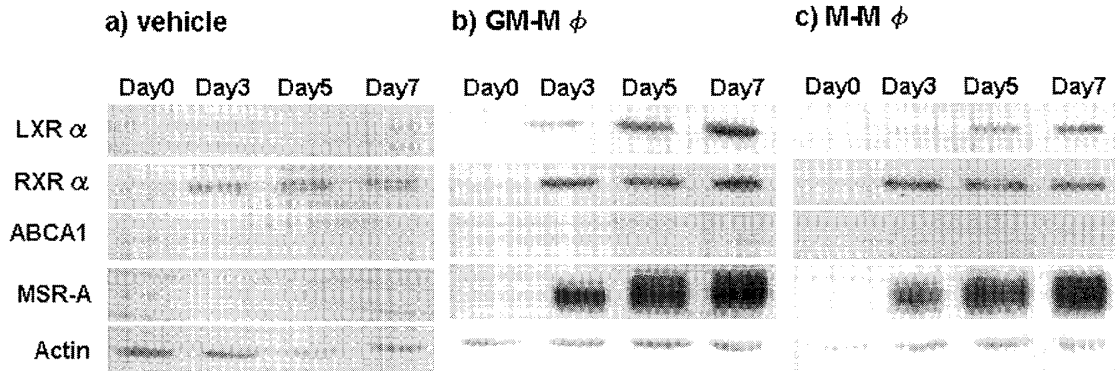


図 2A ヒト単球由来マクロファージの脂質代謝関連受容体発現の経時的変化 (Western blot)
GM-M ϕ , M-M ϕ ともに vehicle に比べ, MSR-A の発現量が多く, GM-M ϕ では M-M ϕ に比べ, LXR α , RXR α 蛋白の発現量が多くなっている。

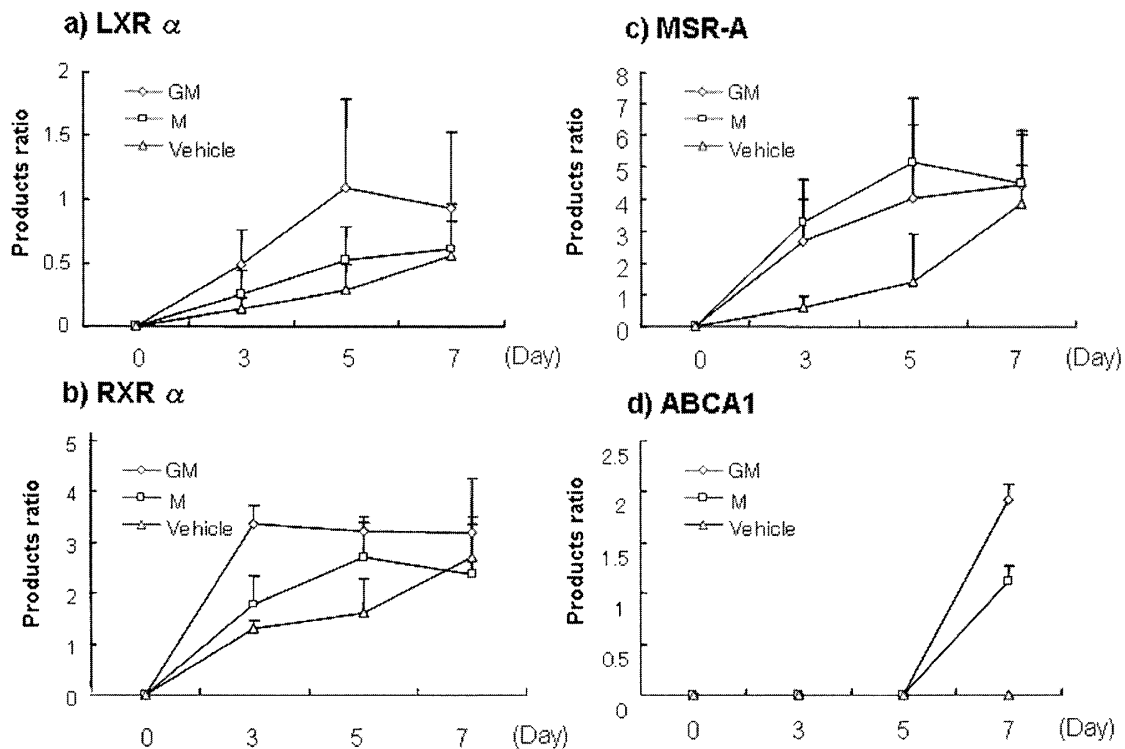


図 2B ヒト単球由来マクロファージの脂質代謝関連受容体発現の経時的変化
GM-M ϕ では M-M ϕ に比べ, LXR α , RXR α 蛋白の発現量が多くなっている. 発現蛋白は NIH イメージング解析法で定量化し, Actin との比で Product ratio を算出した。

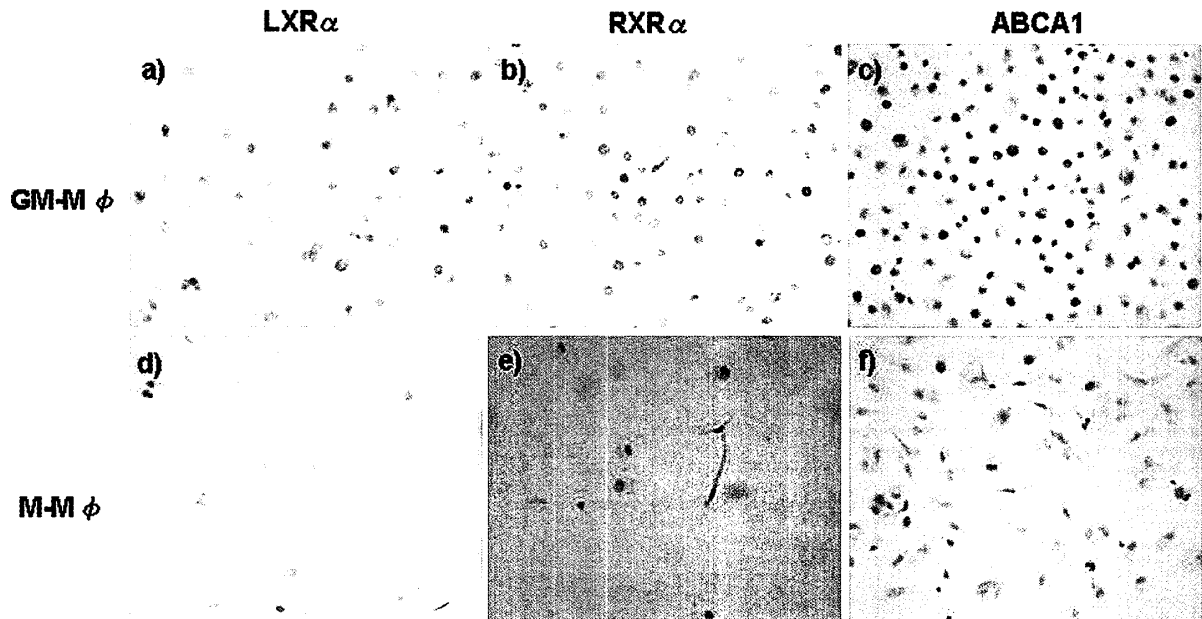


図3A ヒト単球由来マクロファージの脂質代謝関連受容体発現の経時的変化(細胞数)
GM-MφではM-Mφに比べ、LXRα, RXRα, ABCA1陽性細胞を多数認める。(上段:免疫染色GM-Mφ a: LXRα, b: RXRα, c: ABCA1, 下段:免疫染色M-Mφ d: LXRα, e: RXRα, f: ABCA1)

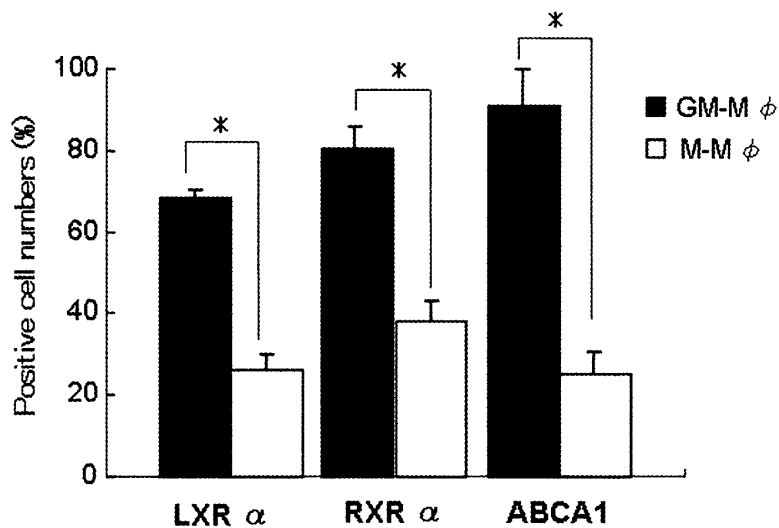


図3B ヒト単球由来マクロファージの脂質代謝関連受容体発現の経時的変化(細胞数)

GM-MφではM-Mφに比べ、LXRα, RXRα, ABCA1陽性細胞数の割合が高くなっている。* $P < 0.05$

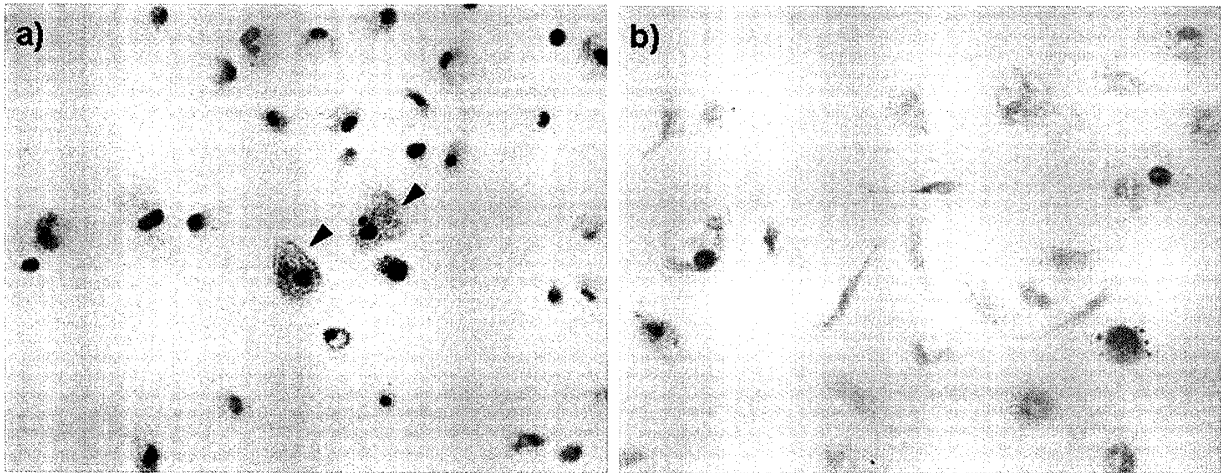


図 4A 酸化 LDL 添加後マクロファージの LXR α 免疫染色と Oil red O 染色による二重染色
LXR α 陽性で、脂肪滴を取り込んだマクロファージが見られる。GM-M ϕ に多い類円形の細胞では特に二重陽性像を多く認める (矢頭)。(a: GM-M ϕ , b: M-M ϕ)

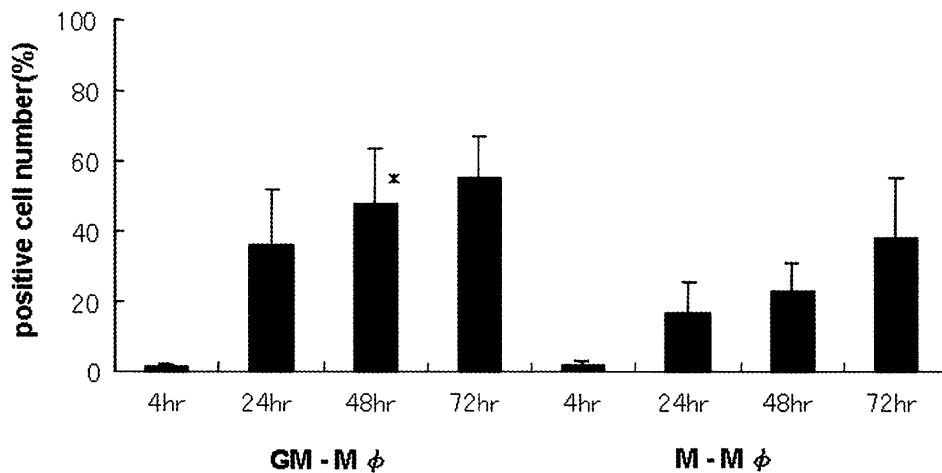


図 4B 酸化 LDL 添加後の Oil red O 染色陽性細胞の経時変化
酸化 LDL 添加 (50 μ g/ml) 後 48 時間で、M-M ϕ に比べ GM-M ϕ で有意に Oil red O 染色陽性細胞の割合が高くなっている。* $P < 0.05$

ジに類似し、M-M ϕ は CD14^{high}, CD16^{high} であるという特徴や H₂O₂ 産生能から腹腔内マクロファージに類似していると考えられている^{14)–16)}。今回の観察でも GM-M ϕ は円形を呈し、CD71 陽性細胞が主体であり、M-CSF 存在下で分化した M-M ϕ は紡錘形で CD14 陽性細胞が多いなど両者に形態と表面形質に明らかな違いがあり、これ

までの報告に合致した結果が認められた。

GM-M ϕ は、M-M ϕ と比較して LXR α 蛋白発現の増加は大きく、LXR α および ABCA1 陽性細胞数の有意な増加が認められた。MSR-A や CD36 は酸化 LDL などの化学修飾 LDL の取り込みに関わるスカベンジャー受容体である^{17)–21)}。GM-M ϕ , M-M ϕ のいずれも MSR-A 蛋白の発

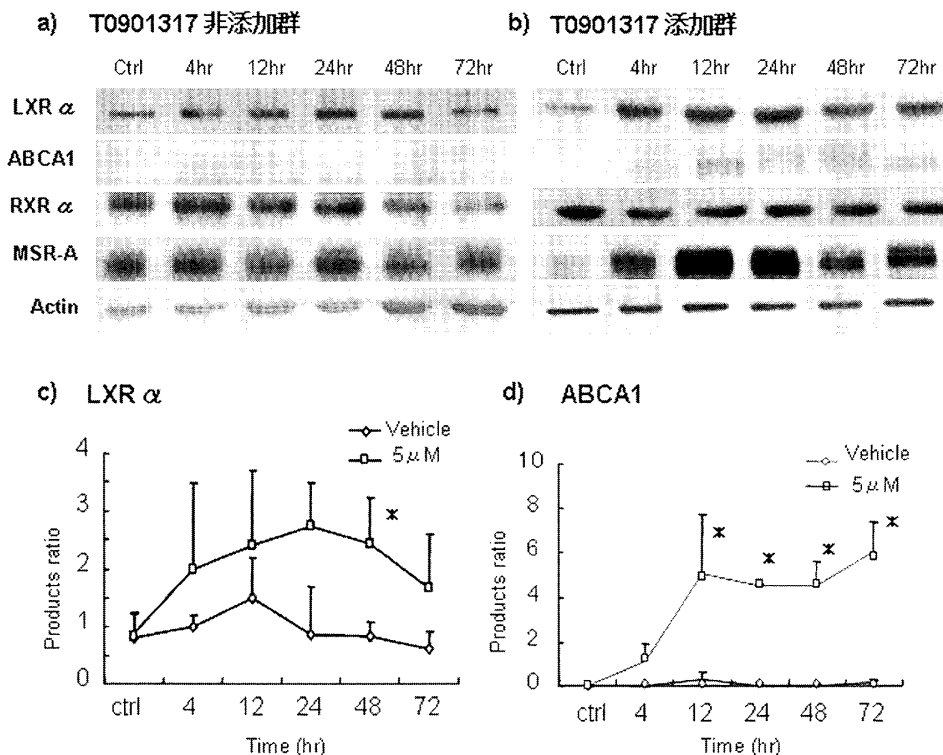


図 5 T0901317 添加後の各種蛋白発現の経時的変化 (Western blot)

GM-M ϕ では, T0901317 添加 (5 μ M) により LXR α および ABCA1 の発現量が増加した. 発現蛋白は NIH イメージング解析法で定量化し, Actin との比で Product ratio を算出した. (a: GM-M ϕ T0901317 非添加群, b: GM-M ϕ T0901317 添加群, c: LXR α , d: ABCA1) * $P < 0.05$

現は増加したが, 酸化 LDL の取り込みは GM-M ϕ が有意に多かった. 以上から GM-M ϕ が脂質代謝により関与することが示唆された.

次に GM-M ϕ を用いて, 合成リガンド T0901317 や LPS, Zymosan の LXR α や脂質代謝関連遺伝子の発現への影響を検討した. T0901317 を添加すると, GM-M ϕ では LXR α および ABCA1 の発現の増加が見られた. マクロファージでは LXR α のリガンドである酸化 LDL や T0901317 は標的遺伝子である ABCA1 や LXR α の発現を増強することが報告されており²²⁾²³⁾, 本研究でも確認された. 一方, マウスの腹腔内滲出マクロファージを LPS で刺激すると ABCA1 の mRNA 発現が抑制されることやヒト単球由来マクロファージを LPS で刺激すると MSR-A や CD36 の発現が減少す

ることが知られている¹²⁾²⁴⁾²⁵⁾. われわれもヒト単球由来マクロファージに LPS や Zymosan を添加して, LXR α , ABCA1 や MSR-A 蛋白の発現減少を観察した. この ABCA1 の発現量抑制には MyD88 を介さない経路である IRF3 などが関わっているという報告もあるが, 細胞内伝達系の詳細については十分な検討はなされていない²⁶⁾. 本研究では LXR α とヘテロダイマーを形成し標的遺伝子の発現に関係する RXR α の変化は明らかではなかった. これは RXR α が他の様々な核内レセプターとヘテロダイマーを形成して相互作用するためと解釈される.

次に LPS や Zymosan による MSR-A, LXR α , および ABCA1 蛋白発現の減少がマクロファージの酸化 LDL の取り込みや排出にどのような影響

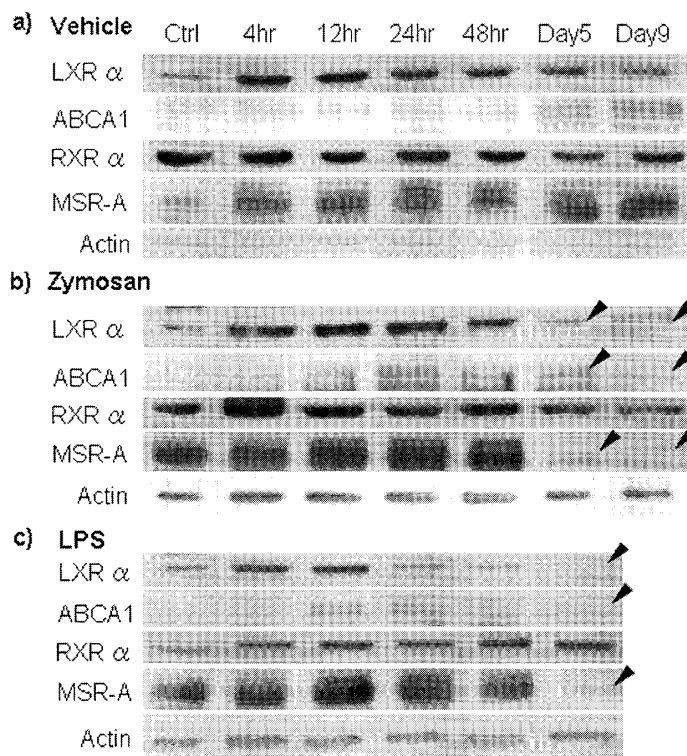


図 6A Zymosan と LPS 添加後の各種蛋白発現の経時的変化 (Western blot)

GM-M ϕ では, Zymosan 添加 (500mg/ml) により 5日後と 9日後に, LPS 添加 (500 μ g/ml) により 5日後に LXR α , ABCA1 および MSR-A の発現が抑制された (矢頭).

(a: Vehicle, b: Zymosan 添加群, c: LPS 添加群)

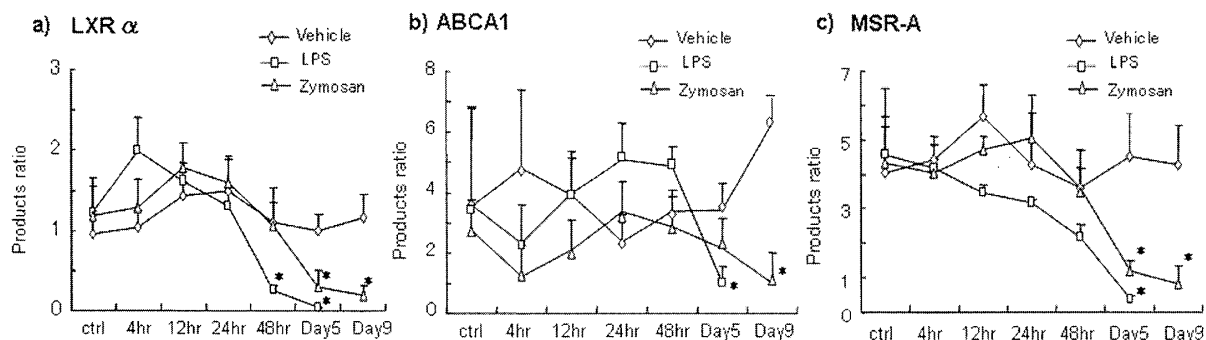


図 6B Zymosan と LPS 添加後の各種蛋白発現の経時的変化

GM-M ϕ では, Zymosan 添加 (500mg/ml) により 5日後と 9日後に, LPS 添加 (500 μ g/ml) により 5日後に LXR α , ABCA1 および MSR-A の発現が抑制された. 発現蛋白は NIH イメージング解析法で定量化し, Actin との比で Product ratio を算出した. (a: LXR α , b: ABCA1, c: MSR-A) * $P < 0.05$

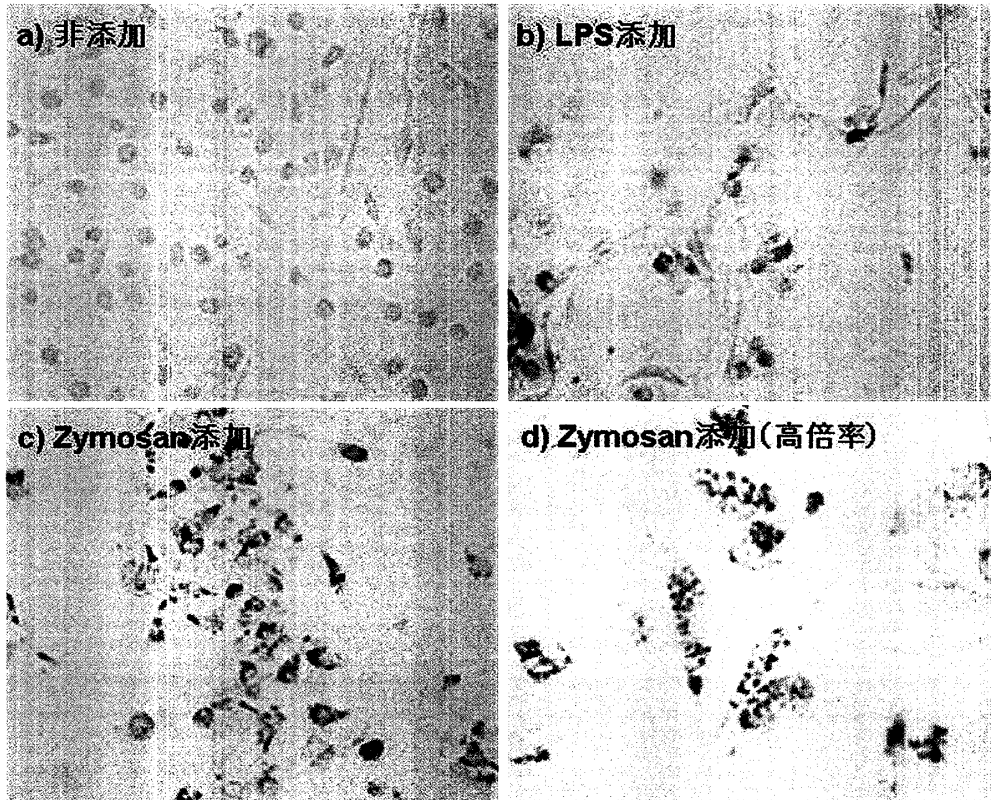


図7 LPSまたはZymosan前添加によるGM-M ϕ における脂質排出能の変化
GM-M ϕ にてZymosan前添加(500mg/ml)またはLPS前添加(100 μ g/ml)により、非添加群に比べ、酸化LDL添加(50 μ g/ml)5日後のOil red O染色陽性細胞が著しく増加した。(a:非添加, b:LPS添加, c:Zymosan添加, d:Zymosan添加倍率拡大)

を与えるかを検討した。酸化LDLのみ添加した群ではほとんど脂質の蓄積は見られなかったが、LPSやZymosanを直前に添加した群ではマクロファージ内に著しい脂質蓄積を認めた。LPSやZymosanの添加によるMSR-Aの発現減少によって酸化LDLの取り込みが低下する以上に、LXR α やABCA1の発現減少による脂質排出機能の低下が影響し、脂質が細胞内に蓄積したものと考えられる。

動脈硬化病変にはマクロファージや泡沫細胞の他にリンパ球も存在することから動脈硬化を代謝障害としてのみならず、一種の炎症とみなす立場もある。今回の成績からLPSやZymosanは、動脈硬化病変内マクロファージのLXR α 、ABCA1の発現減少を誘導し、動脈硬化病変の増悪因子とな

る可能性が示唆された。動脈硬化病変内のマクロファージは、単球が血管壁内へ遊走した単球が血管内皮や平滑筋細胞などから産生されたコロニー刺激因子により分化誘導されたものと考えられる。本研究ではM-M ϕ よりもGM-M ϕ が脂質代謝に関与している可能性が示唆されたが、これまでの報告ではどちらの因子も作用していると考えられている。GM-CSF、M-CSFのバランスにより動脈硬化病変にどのような変化を与えるかについては今後の検討が必要と考えられる。

結 語

ヒト単球由来のGM-M ϕ とM-M ϕ を用いて、脂質代謝に関わる核内受容体LXR α や関連受容体

の発現や酸化 LDL 取り込み機能を検討した。GM-M ϕ を用いてさらに LXR α のリガンドおよび LPS, Zymosan 添加による脂質排出能の変化について検討した。脂質代謝に関わる受容体や分子はいずれも M-M ϕ に比較して GM-M ϕ において強く発現していた。LPS や Zymosan のような炎症性刺激は LXR α , ABCA1 などの発現低下を惹起し、泡沫細胞の形成を促すことが示された。

謝 辞

実験の計画, および実技の指導, 論文校閲を頂きました新潟大学大学院医歯学総合研究科細胞機能講座分子細胞病理学分野 内藤 眞教授に深く感謝いたします。また, 本研究に関して助言・協力を頂いた山本 尚助手, 川崎 隆助手, 姜 淑英先生, 大橋瑠子先生, 百崎 進技官, 大谷内健二技官, 青山 崇技官をはじめ教室の皆様にご礼申し上げます。

文 献

- 1) Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, Falck JR and Mangelsdorf DJ: An oxysterol signaling pathway mediated by the nuclear receptor LXR α . *Nature* 383: 728 - 731, 1996.
- 2) Willy PJ, Umesono K, Ong ES, Evans RM, Heyman RA and Mangelsdorf DJ: LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Gene Dev* 9: 1033 - 1045, 1995.
- 3) Lefmann JM, Kliewert SA, Moore LB, Smith-Oliver TA, Oliver BB, Su JL, Sundseth SS, Winegar DA, Blanchard DE, Spencer TA and Willson TM: Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols response pathway. *J Biol Chem* 272: 3137 - 3140, 1997.
- 4) Kohro T, Nakajima T, Wada Y, Sugiyama A, Ishii M, Tsutumi S, Aburatani H, Imoto I, Inazawa J, Hamakubo T, Kodama T and Emi M: Genomic structure and mapping of human orphan receptor LXR alpha: upregulation of LXR α mRNA during monocyte to macrophage differentiation. *J Atheroscler Thromb* 7:145 - 151, 2000.
- 5) Annicotte JS, Schoonjans K and Auwerx J: Expression of the liver X receptor alpha and beta in embryonic and adult mice. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 277A: 312 - 316, 2004.
- 6) Watanabe Y, Jiang S, Takabe W, Ohashi R, Tanaka T, Uchiyama Y, Katsumi K, Iwanari H, Noguchi N, Naito M, Hamakubo T and Kodama T: Expression of the LXR α protein in human atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25: 1 - 6, 2005.
- 7) Schwartz K, Lawn RM and Wade DP: ABCA1 gene expression and apoAI - mediated cholesterol efflux are regulated by LXR. *Biochem Biophys Res Commun* 274: 794 - 802, 2000.
- 8) Venkateswaren A, Laffitte BA, Joseph SB, Mak PA, Wilpitz DC, Edwards PA and Tontonoz P: Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 12097 - 12102, 2000.
- 9) Mak PA, Laffitte BA, Desrumaux C, Joseph SB, Curtiss LK, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P and Edwards P: Regulated expression of the apolipoprotein E/C - I/C - IV/C - II gene cluster in murine and human macrophages. *J Biol Chem* 277: 31900 - 31908, 2002.
- 10) Tangirala RK, Bischoff ED, Joseph SB, Wagner BL, Walczak R, Laffitte BA, Daige CL, Thomas D, Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Wang X, Lusis AJ, Tontonoz P and Schulman IG: Identification of macrophage liver X receptors as inhibitors of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 11896 - 11901, 2002.
- 11) Joseph SB, McKilligin E, Pei L, Watson MA, Collins AR, Laffitte BA, Chen M, Noh G, Goodman J, Hagger GN, Tran J, Tippin TK, Wang X, Lusis AJ, Hsueh WA, Law RE, Collins JL, Willson TM and Tontonoz P: Synthetic LXR α ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 7604 - 7609, 2002.
- 12) Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ and Tontonoz P: Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nature Med* 9: 213 - 219, 2003.
- 13) Akagawa KS: Functional heterogeneity of colony - stimulating factor - induced human

- monocyte - derived macrophage. *Int J Hematol* 76: 16 - 26, 2002.
- 14) Komuro I, Keicho N, Iwamoto A and Akagawa KS: Human alveolar macrophages and granulocyte - macrophage colony - stimulating factor - induced monocyte - derived macrophages are resistant to H₂O₂ via their high basal and inducible levels of catalase activity. *J Biol Chem* 276: 24360 - 24364, 2001.
 - 15) Young DA, Lowe LD and Clark SC: Comparison of the effects of IL - 3, granulocyte - macrophage colony stimulating factor, and macrophage colony - stimulating factor in supporting monocyte differentiation in culture. *J Immunol* 145: 607 - 615, 1990.
 - 16) Andreesen R, Brugger W, Scheibenbogen C, Kreutz M, Leser HG, Rehm A and Lohr GW: Surface phenotype analysis of human monocyte to macrophage maturation. *J leuk Biol* 47: 490 - 497, 1990.
 - 17) Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrecky J, Matsudaira P and Krieger M: Type I macrophage scavenger receptor contains alpha - helical and collagen - like coiled coils. *Nature* 343: 531 - 535, 1990.
 - 18) Rohrer L, Freeman M, Kodama T, Penman M and Krieger M: Coiled - coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature* 343: 570 - 572, 1990.
 - 19) Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kameda N, Kataoka M, Jishage K, Ueda O, Sakaguchi H, Higashi T, Suzuki T, Takashima Y, Kawabe Y, Cynshi O, Wada Y, Honda M, Kurihara H, Aburatani H, Doi T, Matsumoto A, Azuma S, Noda T, Toyoda Y, Itakura H, Yazaki Y, Horiuchi S, Takahashi K, Kruijt JK, Berkel TJC, Steinbrecher UP, Ishibashi S, Maeda N, Gordon S and Kodama T: A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature* 386: 292 - 296, 1997.
 - 20) Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant R, White RT and Protter AA: CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 268: 11811 - 11816, 1993.
 - 21) Han J, Hajjar DP, Febbraio M and Nicholson AC: Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J Biol Chem* 272: 21654 - 21659, 1997.
 - 22) Laffitte BA, Repa JJ, Joseph SB, Wilpitz DC, Kast HR, Mangelsdorf DJ and Tontonoz P: LXRs control lipid - inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 507 - 512, 2001.
 - 23) Whitney KD, Watson MA, Goodwin B, Galardi CM, Maglich JM, Wilson JG, Wilson TM, Collins JL and Kliewer SA: Liver X Receptor (LXR) Regulation of the LXR α Gene in Human Macrophages. *J Biol Chem* 276: 43509 - 43515, 2001.
 - 24) Lenten BJ and Fogelman AM: Lipopolysaccharide - induced inhibition of scavenger receptor expression in human monocyte - macrophages is mediated through tumor necrosis factor - α . *J Immunol* 148: 112 - 116, 1992.
 - 25) Huh HY, Pearce SF, Yesner LM, Schindler JL and Silverstein RL: Regulated expression of CD36 during monocyte - to - macrophage differentiation: potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood* 87:2020 - 2028, 1996.
 - 26) Castrillo A, Joseph SB, Vaidya SA, Haberland M, Fogelman AM, Cheng G and Tontonoz P: Crosstalk between LXR and Toll - like receptor signaling mediates bacterial and viral antagonism of cholesterol metabolism. *Mol Cell* 12: 805 - 816, 2003.

(平成19年1月15日受付)