
原 著

BCG 生菌および死菌による肉芽腫形成と Macrophage Scavenger Receptor の役割

櫻 田 潤 子

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

(主任：内藤 眞教授)

Granuloma Formation and Role of Macrophage Scavenger Receptor in the Endocytosis of Viable and Killed BCG

Junko SAKURADA

Department of Cellular Function, Division of Cellular and Molecular Pathology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Makoto NARU)

要 旨

スカベンジャー受容体はマクロファージに発現する変性低密度リポ蛋白の受容体で、Macrophage scavenger receptor class A type I, II (MSR-A) を始め7種の受容体がファミリーを形成している。MSR-A は動脈硬化発生機序の鍵を握る分子である一方、lipopolysaccharide (LPS) など細菌性抗原とも結合し、生体内防御に重要な機能を発揮する。本研究ではBCGの生菌と死菌をマウスに投与し、肉芽腫形成とマクロファージの貪食能の点からMSR-Aの役割を検討した。死菌投与群に比較し、生菌投与群ではより肝に多くの肉芽腫が形成され、IFN γ などのサイトカインの発現も多かった。腹腔マクロファージを用いた比較では、死菌より生菌のほうがマクロファージに多く取り込まれ、生菌の取り込みは抗MSR-A抗体による阻害を受けた。以上の結果からMSR-AはBCG生菌に対する受容体として取り込み過程に関与し、肉芽腫形成に促進的に作用することが示された。

キーワード：スカベンジャーレセプター, BCG, クッパー細胞, 肉芽腫

Reprint requests to: Junko SAKURADA
Department of Cellular Function
Division of Cellular and Molecular Pathology
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
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 櫻田潤子

緒 言

Macrophage scavenger receptor (MSR-A) は3量体の糖蛋白で、化学的な修飾を受けた低密度リポ蛋白 low density lipoproteins (LDL) の取り込みに関わり、マクロファージへのコレステロールの蓄積を惹起し、動脈硬化発症に深く関与する^{1) - 6)}。スカベンジャー受容体はファミリーを形成し、class A (type I and type II macrophage scavenger receptor (SR-A I / II))^{1) - 6)}, macrophage receptor with collagenous structure (MARCO)^{7) 8)}, class B (CD36⁹⁾ and SR-B I^{10) - 12)}, class C (dSR-CI)¹³⁾, class D (CD68/macrosialin^{14) 15)}, class E (lectin like oxidized LDL receptor 1 (LOX-1)¹⁶⁾) class F (scavenger receptor expressed by endothelial cells (SREC)¹⁷⁾, および Fc receptor (Fc γ R II-B2)¹⁸⁾ とに分類されている。本受容体のリガンド特異性の広さから、生理的、病的状態においてアポトーシスや老化細胞の除去、細胞接着性、動脈硬化やアルツハイマー病の病因など様々な機能が推測されている。MSR-A は種々の組織のマクロファージに発現し、グラム陰性菌の lipid A¹⁹⁾ やグラム陽性菌の壁構成物質²⁰⁾ を認識する。最近では MSR-A ノックアウトマウスはリステリア菌 *Listeria monocytogenes* や herpes simplex virus, malaria^{21) - 23)} 感染に感受性が高いことが示されている。また、MSR-A はエンドトキシンショックにおいても受容体として機能する²⁴⁾ など、生体防御に重要な役割を果たすことが明らかになった。

BCG 感染マウスは肉芽腫性炎症の解析に有用なモデルとして活用されてきた^{25) - 28)}。一般に BCG の死菌は生菌に比較して免疫効果が低いが、生菌を用いた免疫は IFN γ の産生が高く、これが免疫効果の亢進に直結すると報告されている^{29) - 31)}。しかし、生菌と死菌に対する免疫反応での MSR-A の役割は検討されていない。本研究では BCG 生菌と死菌投与マウスの肉芽腫形成を比較検討し、さらに菌の取り込みにおける MSR-A の作用を明らかにしたので報告する。

材料と方法

1. 動物

8 ~ 12 週齢の雄性 ICR 系マウス (約 30g) を用いた。生菌・死菌それぞれ 1 匹当たり 1mg / 0.1cc を尾静注し、各 3 匹ずつ経時的に屠殺し、肝組織を採取した。

2. 使用した菌

Mycobacterium bovis BCG (Bacille de Calmette et Guérin) は乾燥 BCG ワクチン (日本ビーシージー製造株式会社, 東京, 日本) を使用した。細菌培養にはミドルブルック・コーン 7H10 寒天基礎培地 (DIFCO, Detroit, USA) に 10% ミドルブルック OADC エンリッチメント (DIFCO, Detroit, USA) 及び 5% グリセリンを付加し 5% CO₂ 下恒温装置で培養を行い、18 日後集落形成を確認し菌量を測定した。死菌としてはオートクレーブ処理 (120 度, 20 分) した菌を用いた。生菌は 1mg 当たり 3 × 10⁶ 個のコロニーを形成し、死菌ではコロニー形成は認められなかった。

3. 肉芽腫と菌の観察

肝臓は 10% 緩衝ホルマリン固定し、パラフィンブロックとして、Hematoxylin-eosin 染色標本を作製し、顕微鏡下で単位面積 (/mm²) 当たりの肉芽腫の数と肉芽腫の直径を計測し評価した。菌は Ziehl-Neelsen 染色を施行して観察した。

4. 免疫染色

肝臓を periodate lysine-paraformaldehyde (PLP) 液にて 4 時間固定し^{10) 15)}, 20% しょ糖を含む PBS で洗浄後に OCT コンパウンド (Miles, Elkhart, USA) で凍結包埋した。クリオスタット (Bright, Huntington, UK) を使用して 6 μ m に薄切し、Isobe らの方法で内因性ペルオキシダーゼを阻害し³²⁾, 免疫染色を行った。一次抗体には抗マクロファージモノクローナル抗体 F4/80 [Siemon Gordon 教授より恵与], 抗スカベンジャー受容体 class A type I, II 抗体 2F8 [Siemon Gordon 教授より恵与], 抗 T リンパ球抗体 Thy1.2 (Becton Dickinson, Bedford, USA), 抗 B リンパ球抗体 B220 (Pharmingen, San Diego, USA) を使用した。二次抗体には anti-rat Ig-

表 1 RT-PCR に用いたオリゴヌクレオチド

mRNA	primers (5'-3')		product (bp)
MSR-A	sense	TAG ACT CCG GCA GAC AAC TT	431
	antisense	ACC AAC GAC CTC AGA CTG AA	
Macrosialin	sense	TCC AAG ATC CTC CAC TGT TG	350
	antisense	CAT TGT ATT CCA CCG CCA TG	
MARCO	sense	AGT VGG TCA GAA GGG AGA	281
	antisense	CAT TGT CCA GCC AGA TGT T	
CD36	sense	GAT GAC GTG GCA AAG AAC AG	542
	antisense	AAA GGA GGC TGC GTC TGT G	
IFN γ	sense	AGC GGC TGA CTG AAC TCA GAT AG	213
	antisense	GTC ACA GTT TTC AGC TGT ATA GGG	
TNF α	sense	GGC AGG TCT ACT TTG GAG TCA TTG C	309
	antisense	ACA TCC GAG GCT CCA GTG AAT TCG G	
MCP1	sense	CTC ACC TGC TGC TAC TCA TTC	350
	antisense	GCA TGA GGT GGT TGT GAA AAA	
TGF β	sense	GCC CTG GAT ACC AAC TAT TG	326
	antisense	CAG GAG CGC ACA ATC TAT TT	
β actin	sense	GCA TGA CAC AGG AAC CAA TG	348
	antisense	TGG TGC TCC AGG AAT AAG AG	

horseradish peroxidase - liked F (ab)₂ fragment (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK) を用いた. 3,3-diaminobenzidine (DAB; 同人化学研究所, 熊本, 日本) を用いて可視化した後メチルグリーンにて核染を行い, 陽性細胞を光顕下高倍率にて 20 視野計測し, 1mm² あたりに換算し評価した.

5. RT-PCR によるサイトカインと受容体発現の検討

経時的に屠殺したマウスの肝臓から AGPC 法にて total RNA を採取し, cDNA を合成, 表 1 に示したプライマーを用いてスカベンジャー受容体 (MSR-A, Macrosialin, MARCO), サイトカイン (IFN γ , TNF α , TGF β , MCP1), β アクチンの PCR 反応を行った. PCR 反応生成物を 2% アガロースゲルを用いて電気泳動を行い, mRNA の発現を半定量的に評価した.

6. マウス腹腔渗出性マクロファージを用いた BCG 取込みの観察

4.05% Brewer's チオグリコレート培地 2ml/匹を腹腔内投与し, 2 日後に腹腔渗出性マクロファージを採取した. 10% FBS, ampicillin を添加した RPMI 液体培地 (SIGMA, Tanfkirchen, Germany) で希釈し, スライドチャンバーに 2 時間付着させた後浮遊細胞を除去, BCG 生菌ないし死菌を貪食させ, 1 時間後に菌液を除き経時的に風乾固定した. Ziehl-Neelsen 染色標本を作製し, 光顕下で貪食細胞を観察し, その比率を算定した. また, 1 × 10⁷ 個の細胞をシャーレに付着させ上記と同様に BCG 生菌・死菌を添加させた後細胞を経時的に回収した. AGPC 法にて RNA を採取し RT-PCR を行い各種スカベンジャー受容体と β アクチンの mRNA の発現を半定量的に評価した. また, RPMI 培地に 5% の抗スカベンジャー受容体抗体 2F8 を添加し, BCG 生菌ないし死菌を貪食

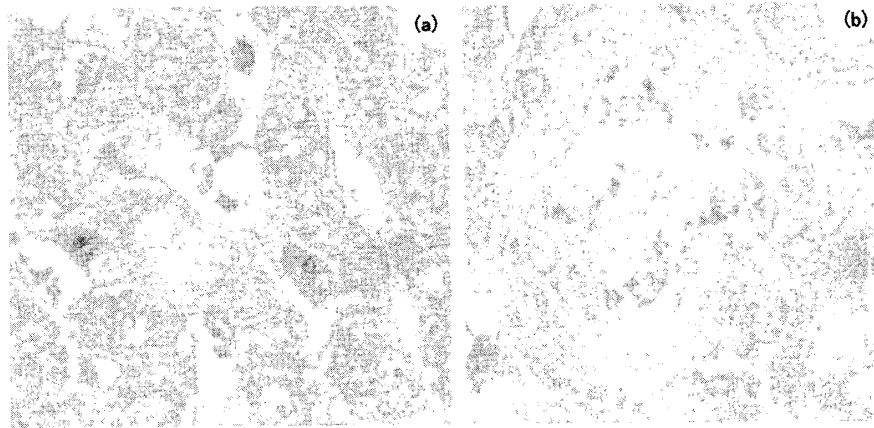


図 1 BCG 生菌投与肝組織 (Ziel-Neelsen 染色, 対物レンズ100倍, a: 投与後1日, b: 投与後21日)

BCG 投与後1日では, Kupffer 細胞と考えられる細胞の胞体に菌の取り込み像が見られ, 14日から21日では肉芽腫内マクロファージに菌を認める.

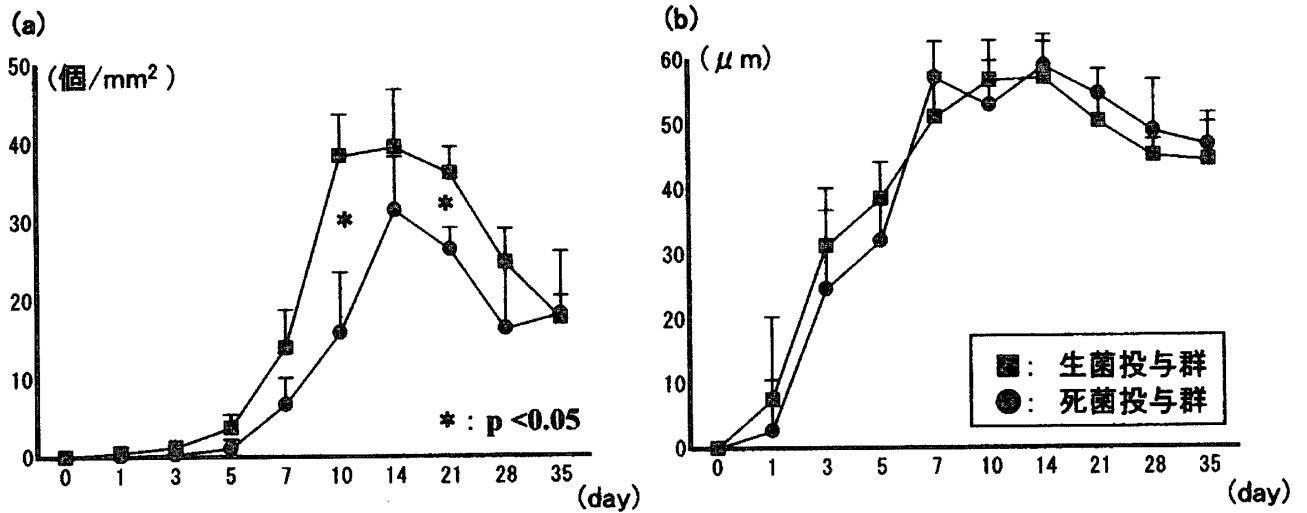


図 2 BCG 静注後のマウス肝に形成された肉芽腫の経時変化 (a: 肉芽腫数, b: 肉芽腫の直径)

肉芽腫数は生菌投与群では10日から21日に最も多く, 死菌投与群では14日に最大となった. 肉芽腫の直径は両群ともに14日で最大であった.

させ, 同様に Ziehl-Neelsen 染色標本での観察と RT-PCR を行った.

7. 統計処理は Student's *t*-test を用いて行った.

結 果

BCG 生菌と死菌投与での肝肉芽腫形成

BCG の生菌と死菌を経静脈的に投与すると,

菌はいずれも Kupffer 細胞に取り込まれた. 3日後には数個の単核細胞の集合からなる肉芽腫が形成され始め, 菌を取り込んだ Kupffer 細胞ないしマクロファージの集合傾向が認められた. 3日以降肉芽腫は急速に大きくなり, 5日以降数も急増し, 菌を取り込んだ細胞は肉芽腫内にのみ存在した (図 1). 肉芽腫直径は両群とも投与14日後に最大となったが, サイズに有意差はなかった. 肉

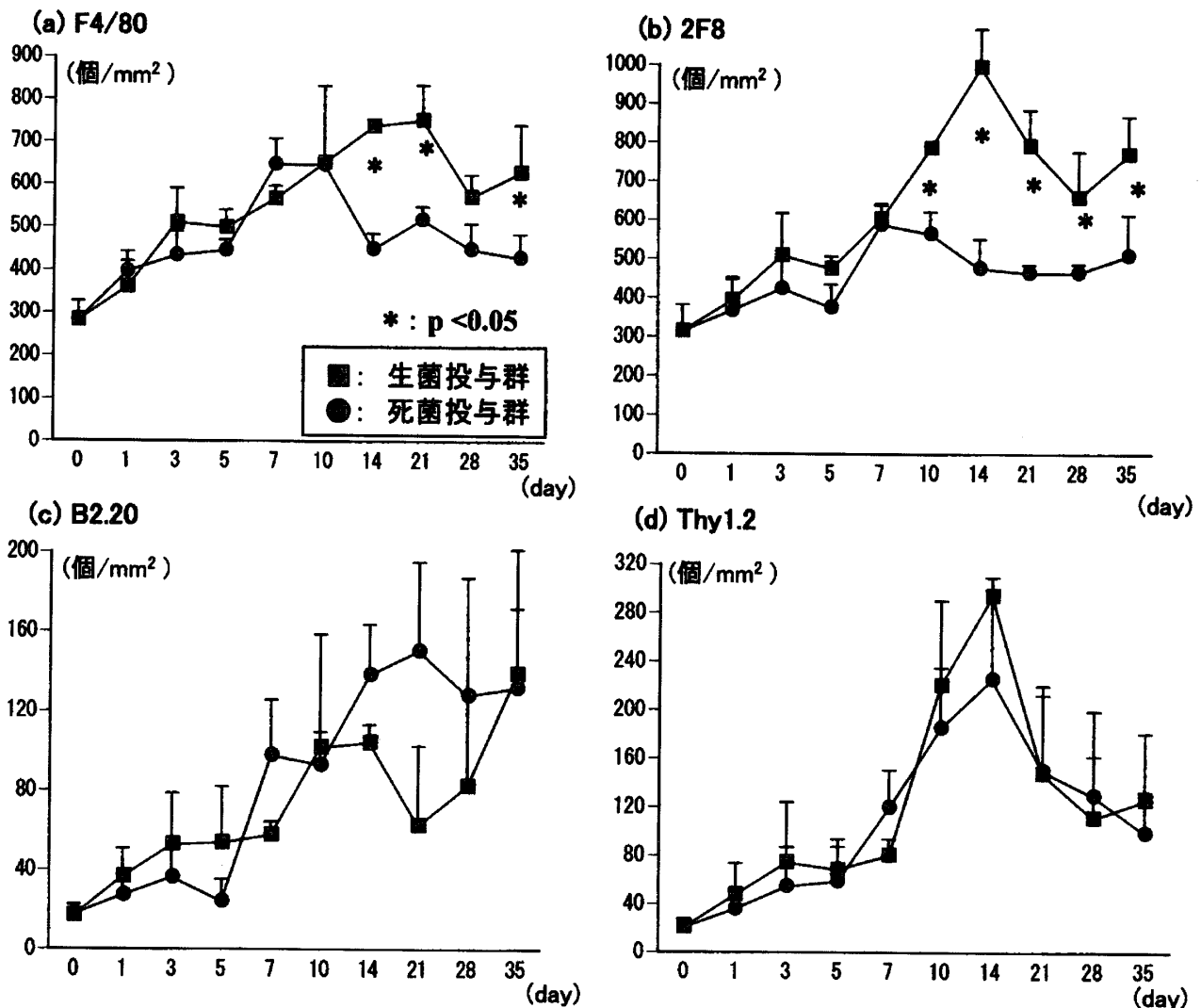


図3 BCG 静注後のマウス肝における免疫染色陽性細胞の経時的変化

(a: F4/80, b: 2F8, c: B2.20, d: Thy1.2)

両群ともに肉芽腫形成に伴いマクロファージ及びスカベンジャー受容体陽性細胞の増加が見られる。

T・Bリンパ球では有意な差異はない。

芽腫の数は生菌投与群は10日から21日に最も多く、死菌投与群では14日に最多となった。この時期に肉芽腫数は生菌投与群の方が死菌投与群より有意に多かった(図2)。

免疫組織学的にマクロファージの数を算定すると、肉芽腫形成に並行して増加がみられ、14日から21日にかけて生菌群で有意に多かった(図3)。TおよびBリンパ球の数は両群に有意差は認められなかった。

BCG 生菌と死菌投与肝におけるサイトカインと受容体の発現

BCG 投与後のサイトカインおよび受容体の発現を RT-PCR で比較すると、両群とも肉芽腫形成に並行してほとんどの mRNA の発現が増加した。その中で、 $IFN\gamma$ 、 $TNF\alpha$ 、 $TGF\beta$ 、MSR-A、Macrosialin、MARCO の発現が生菌投与群で強い傾向が認められた(図4)。

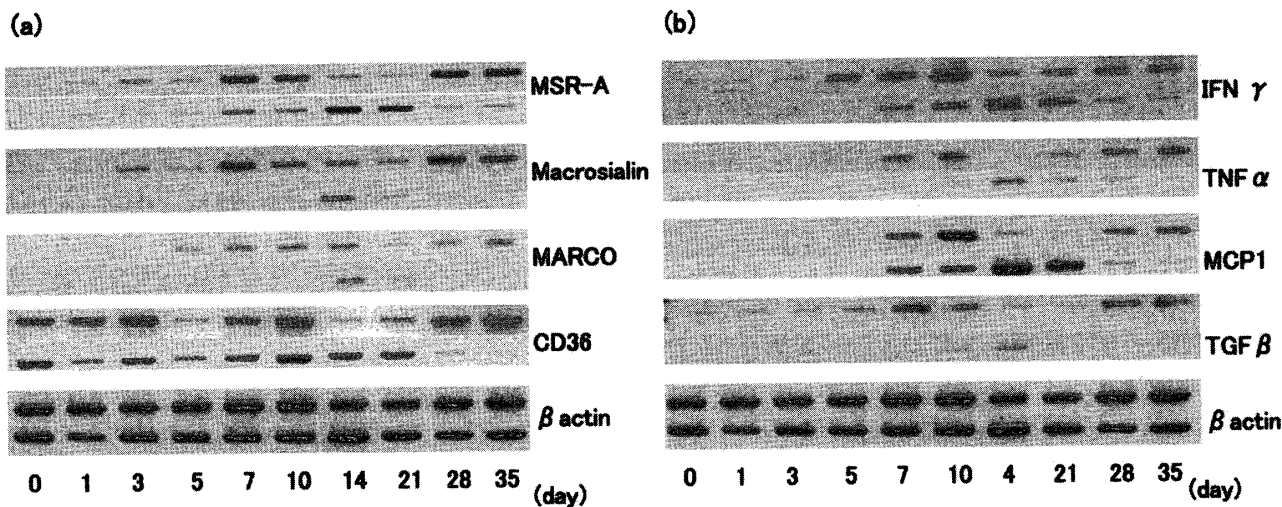


図4 BCG投与後肝組織のマクロファージスカベンジャー受容体 (a), 及びサイトカイン (b) の経時的変化 (上段: 生菌投与群, 下段: 死菌投与群)

生菌投与群・死菌投与群ともに肉芽腫形成に伴いスカベンジャー受容体・サイトカイン mRNA の発現が増強し, MSR-Aやマクロシアリン, IFN γ や TNF α , TGF β の発現は生菌投与群がより著明である。

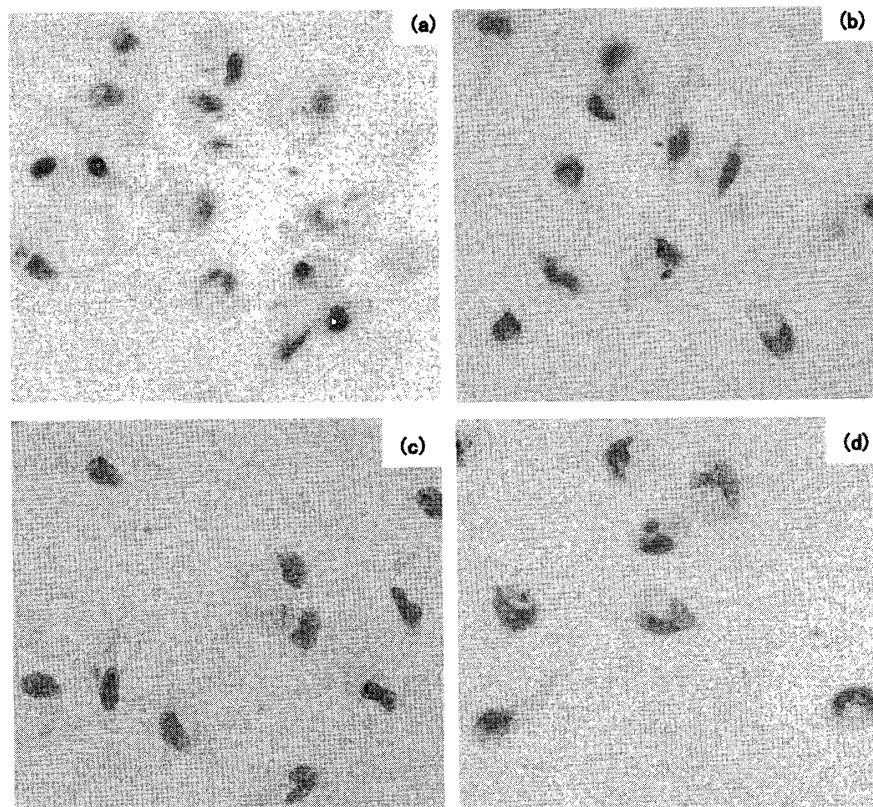


図5 腹腔滲出性マクロファージにおけるBCG取り込み像(感染2時間後。a: 2F8非添加生菌投与群, b: 2F8添加生菌投与群, c: 2F8非添加死菌投与群, d: 2F8添加死菌投与群, Ziel-Neelsen染色, 対物レンズ100倍)
2F8非添加生菌投与群では多くのマクロファージに菌の取り込み像が見られたが, 2F8添加生菌投与群, 2F8非添加死菌投与群, 2F8添加死菌投与群では菌の取り込みは少ない。

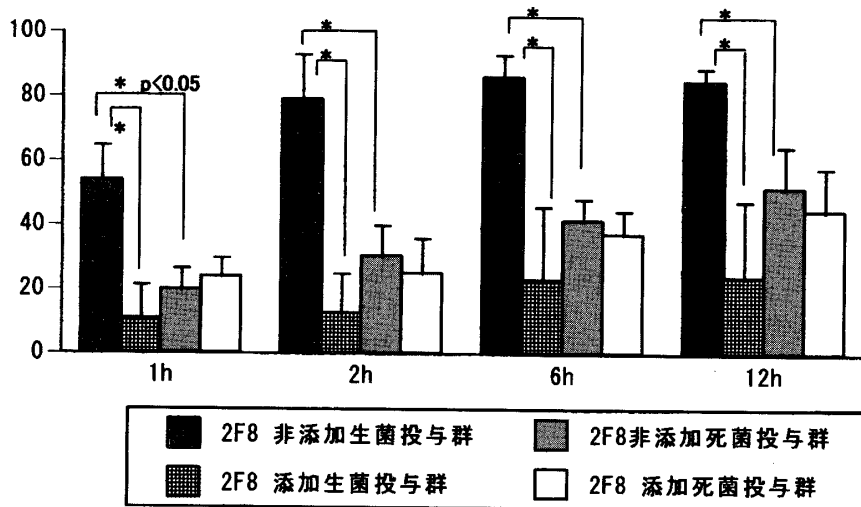


図6 腹腔滲出性マクロファージのBCG生菌・死菌食細胞の比率
生菌の取り込みは2F8添加により有意に減少した。

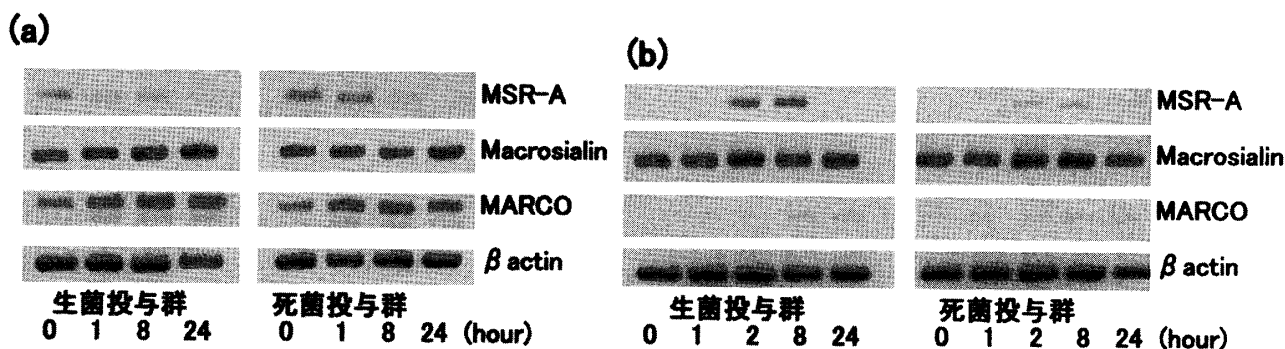


図7 腹腔滲出性マクロファージのBCG生菌・死菌取り込み後の各受容体 mRNA の発現の経時的変化 (a: 2F8 非添加群, b: 2F8 添加群)
2F8 非添加群では両群にスカベンジャー受容体の発現の差異は見られない。2F8 添加群では MARCO の発現の減少が顕著。

腹腔マクロファージのBCG生菌と死菌取り込みと受容体の発現

腹腔マクロファージには生菌のほうが死菌より多量に取り込まれていた。また、抗スカベンジャー受容体抗体2F8を添加すると、生菌の取り込みのみが有意に抑制された(図5, 6)。

RT-PCRでこれらマクロファージの各受容体 mRNA 発現を比較すると、生菌と死菌で有意の差は見られなかった。抗体添加群と非添加群を比較すると添加群では MSR-A と MARCO の発現が減少し、ことに後者の発現が著減していた(図7)。

考案

肉芽腫は病原体を捕捉して有害物質を閉じこめることによって生体防衛上重要な役割を果たしている。BCG 投与実験は抗酸菌感染における細胞性免疫の生体反応および肉芽腫形成を観察する好適なモデルとしてこれまで詳細に検討されてきた^{25) - 28)}。BCG 投与後、マクロファージやリンパ球から種々のサイトカインが増産され、マクロファージの活性化とマクロファージやリンパ球の集簇によって肉芽腫が形成される。TNF α , IL-1 β , M-CSF,

IFN γ , およびその他のサイトカインは肉芽腫形成に重要な役割を果たしている^{25)–28)}.

受容体の検討も病原体の取り込みや病変局所におけるサイトカインの作用を理解するのに重要である。ある種の抗酸菌は mannose receptor や complement receptors³³⁾³⁴⁾ によって取り込まれる。抗酸菌の lipoarabinomannan (LAM) とグラム陰性菌の lipopolysaccharide は病原性を有する菌体壁成分で、構造的に類似性が指摘され、結核菌の LAM はマクロファージを CD14 を介して活性化すると報告もある³⁵⁾。LPS の受容体として CD14³⁶⁾ や Toll-like receptor³⁷⁾ の他にスカベンジャー受容体も知られており³⁸⁾, MSR-A はさらに種々の細菌性抗原を認識し、結合、取り込みに関与する³⁹⁾⁴⁰⁾。リステア感染や *Corynebacterium parvum* 投与実験ではスカベンジャー受容体ノックアウトマウスでは野生型よりも肉芽腫形成が少なく、サイトカインの産生も一般に少ない⁴¹⁾⁴²⁾。以上の事実はスカベンジャー受容体を介した菌の取り込みとサイトカイン産生が肉芽腫形成に重大な影響を及ぼすことを示している。本研究でも死菌の方が肉芽腫形成が少なく、スカベンジャー受容体の誘導や IFN γ などのサイトカイン産生が少ないことを確認した。本研究での抗体を用いた阻害実験で MSR-A は生菌の取り込みに有効な受容体であるが、死菌の取り込みにはそれほど関与しないことが示唆された。菌の産生物質の影響も考慮する必要があるが、マクロファージはスカベンジャー受容体を BCG 生菌取り込みの受容体の一つとして用いて、死菌に比較して多くの生菌を取り込み、サイトカイン産生も多いため、肉芽腫が多く形成されたものと理解される。

なお、抗体添加実験で MSR-A の発現が減少したのに加えて、MARCO の発現が激減したことが観察された。MARCO はスカベンジャー受容体ファミリーの一つで、MSR-A と同様クラス A に分類され、コラゲン様ドメインが長いが、 α -helical coiled coil domain を欠く。本受容体は特定のマクロファージに発現し、種々の細菌性抗原を認識し、LPS 刺激や BCG など種々細菌感染によって肝の Kupffer 細胞など多くのマクロファージに発現が

誘導される⁴³⁾。本研究でも BCG 生菌と死菌投与で *in vivo* において際だった発現の違いを示しており、BCG 感染において MSR-A と関連をもって機能する受容体である可能性が示唆されよう。

一般に BCG 死菌は生菌に比較して免疫効果が低い。生菌を用いた免疫は本研究でも確認された様に IFN γ の産生が高く、これが免疫効果の差の一因と考えられている^{29)–31)}。しかし、マクロファージの生菌と死菌の処理メカニズムの差異についてはあまり知られていない。近年、マクロファージのファゴゾームの裏打ち蛋白として Tryptophane aspartate-containing coat protein (TACO) がクローニングされ、この蛋白は死菌はライソゾームへの輸送するが、生菌の場合はファゴゾームからはなれずにライソゾームへの癒合を阻止して BCG はライソゾーム酵素による殺菌を逃れる⁴⁴⁾。このように MSR-A も生菌に対する自然免疫の一端を担っていることから、スカベンジャー受容体と TACO の関係は今後興味ある研究課題と思われる。

結 語

マクロファージスカベンジャー受容体 MSR-A は動脈硬化発症機序に重要な機能を発揮する一方、細菌性抗原とも結合し生体防御に関与する。MSR-A は BCG 生菌に対する受容体として取り込み過程に関与し、肉芽腫形成に促進的に作用することが示された。

謝 辞

最後に、実験指導、論文校閲をいただいた内藤 眞教授に深謝いたします。また、本研究の遂行にご協力、ご助言いただいた山本 尚先生、教室技官の皆様、抗体を恵与下さった Oxford 大学 Siamon Gordon 教授に御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrewky J, Matsudaira P and Krieger M: Type I macrophage scavenger receptor contains α -helical and

- coiled-like coils. *Nature* 343: 531-535 1990.
- 2) 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.
 - 3) Freeman M, Ashkenas J, Rees KJG, Kingsley DM, Copeland NG, Jenkins NA and Krieger M: An ancient, highly conserved family of cysteine-rich protein domains revealed by cloning type I and type II murine macrophage scavenger receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8810-8814 1990.
 - 4) Matsumoto A, Naito M, Itakura H, Ikemoto S, Asaoka H, Hayakawa I, Kanamori H, Aburatani H, Takaku F, Suzuki H, Kobari Y, Miyai T, Takahashi K, Cohen EH, Wydro R, Housman DE and Kodama T: Human macrophage scavenger receptors: Primary structure, expression, and localization in atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 9133-9137 1990
 - 5) Naito M, Kodama T, Matsumoto A, Doi T and Takahashi K: Tissue distribution, intracellular localization, and in vitro expression of bovine scavenger receptors. *Am J Pathol* 139: 1411-1423 1991.
 - 6) Mato M, Ookawara A, Sakamoto A, Aikawa E, Ogawa T, Mitsunashi U, Masuzawa T, Suzuki H, Honda M, Yazaki Y, Watanabe E, Luoma J, Yla-Herttuala S, Fraser I, Gordon S and Kodama T: Involvement of specific macrophage-lineage cells surrounding arterioles in barrier and scavenger function in brain cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3269-3274 1996.
 - 7) Elomaa O, Kangas M, Sahlberg C, Tuukkanen J, Sormunen R, Liakka A, Thesleff I, Kraal G and Tryggvason K: Cloning of a novel bacteria binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. *Cell* 80: 603-609 1995.
 - 8) van der Laan LJW, Kangas M, Dopp ED, Bloug-Holub E, Elomaa O, Tryggvason K and Kraal G: Macrophage scavenger receptor MARCO: In vitro and in vivo regulation and involvement in anti-bacterial host defense. *Immunol Lett* 57: 203-208 1997.
 - 9) Endermann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CM, White RT and Protter AA: CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 268: 11811-11816 1993.
 - 10) Acton SL, Scherer PE, Lodish HF and Krieger M: Expression cloning of SR-BI, a CD36 related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 269: 21003-21009 1994.
 - 11) Acton S, Rigotti A, Landschuluz KT, Xu S, Hobbs HH and Krieger M: Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* 271: 518-520 1996.
 - 12) Landschulz KT, Pathak RK, Rigotti A, Krieger M and Hobbs HH: Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat. *J Clin Invest* 98: 984-995 1995.
 - 13) Pearson A, Lux A and Krieger M: Expression cloning of dSR-CI, a class C macrophage-specific scavenger receptor from *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 4056-4060 1995.
 - 14) Ramprasad MP, Fisher JL, Witztum JL, Sambrano GR, Quehenberger O and Steinberg D: The 94- to 97-kDa mouse macrophage membrane protein that recognizes oxidized low density lipoprotein and phosphatidyl serine-rich liposomes is identical to macrosialin, the mouse homologue of human CD68. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 9580-9584 1995.
 - 15) Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, Gordon S and Simmonds DL: Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J Biol Chem* 268: 9661-9666 1993.
 - 16) Sawamura T, Kume N, Aoyama T, Moriwaki H, Hoshikawa H, Aiba Y, Tanaka T, Miwa S, Katsura Y, Kita T and Masaki T: An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature* 386: 73-77 1997.
 - 17) Adachi H, Tsujimoto M, Arai H and Inoue K: Expression cloning of a novel scavenger receptor

- from human endothelial cells. *J Biol Chem* 272: 31217 - 31220 1997.
- 18) Stanton LW, White RT, Bryant CM, Protter AA and Endemann G: A macrophage Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 267: 22446 - 22451 1992.
- 19) Hampton RY, Golenbock DT, Penman M, Krieger M and Raetz CR: Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature* 352: 342 - 344 1991.
- 20) Dunn DW, Resnick K, Greenberg J, Krieger M and Joiner KA: The type I macrophage scavenger receptor binds to Gram-positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 1863 - 1867 1994.
- 21) Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada 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, Marsumoto A, Azuma S, Noda T, Toyoda Y, Itakura H, Yazaki Y, Horiuchi S, Takahashi K, Kruijt JK, van 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.
- 22) Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, Sakaguchi H, Kruijt JK, Higashi T, Suzuki T, Berkel TJC, Horiuchi S, Takahashi K, Yazaki Y and Kodama T: The multiple roles of macrophage scavenger receptor (MSR) in vivo: resistance to atherosclerosis and susceptibility to infection in MSR knockout mice. *J Atheroscler Thromb* 4: 1 - 11 1997.
- 23) Nogami S, Watanabe J and Nakazaki K: Involvement of macrophage scavenger receptor in protection against murine malaria. *Am J Trop Med Hyg* 59: 843 - 845 1998.
- 24) Haworth R, Platt N, Keshav S, Hughes D, Darley E, Suzuki H, Kurihara Y, Kodama T and Gordon S: The macrophage scavenger receptor type A is expressed by activated macrophages and protects the host against lethal endotoxic shock. *J Exp Med* 186: 1431 - 1439 1997.
- 25) Mackaness GB: Cellular resistance to infection. *J Exp Med* 116: 381 - 406 1962.
- 26) Blanden RV, Lefford MJ and Mackaness GB: The host response to Calmette - Guerin bacillus infection in mice. *J Exp Med* 129: 1079 - 1101 1969.
- 27) Kindler V, Sappino A-P, Grau GE, Piguet P-F and Vassalli P: The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 56: 731 - 740 1989.
- 28) Gordon S, Keshav K and Stein M: BCG-induced granuloma formation in murine tissues. *Immunobiol* 191: 369 - 377 1994.
- 29) Yang J and Mitsuyama M: An essential role for endogenous interferon-gamma in the generation of protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG in mice. *Immunology* 91: 529 - 535 1997.
- 30) Yang J, Kawamura I and Mitsuyama M: Involvement of inflammatory cytokines and nitric oxide in the expression of non-specific resistance to *Listeria monocytogenes* in mice induced by viable but not killed *Mycobacterium bovis* BCG. *Microb Pathog* 22: 79 - 88 1997.
- 31) Yang J, Kawamura I, Zhu H and Mitsuyama M: Involvement of natural killer cells in nitric oxide production by spleen cells after stimulation with *Mycobacterium bovis* BCG. Study of the mechanism of the different abilities of viable and killed BCG. *J Immunol* 155: 5728 - 5733 1995.
- 32) Isobe Y, Chen ST, Nakane PK and Brown WR: Studies on translocation of immunoglobulins across intestinal epithelium. I. Improvements in the peroxidase-labeled antibody method for application to study of human intestinal mucosa. *Acta Histochem Cytochem* 10: 161 - 171 1977.
- 33) Schlesinger LS, Bellinger-Wawahara CG, Payne NR and Horwitz MA: Phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by human monocyte complement receptors and complement component C3. *J Immunol* 144: 2771 - 2780 1990.

- 34) Schlesinger LS, Kaufman TM, Iyer S, Hull SR and Marchiando LK: Differences in mannose receptor - mediated uptake of lipoarabinomannan from virulent and attenuated strains of *Mycobacterium tuberculosis* by human macrophages. *J Immunol* 157: 4568 - 4575 1996.
- 35) Zhang Y, Doerfler M, Lee TC, Guillemin B and Rom WN: Mechanisms of stimulation of interleukin - 1 β and tumor necrosis factor - α by *Mycobacterium tuberculosis* components. *J Clin Invest* 91: 2076 - 2083 1993.
- 36) Pugin J, Heumann D, Tomasz A, Kravchenko VV, Akamatsu Y, Nishijima M, Glauser MP, Tobias PS and Ulevitch RJ: CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1: 509 - 516 1994.
- 37) Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, Takeda K and Akira S: Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram - negative and gram - positive bacterial cell wall components. *Immunity* 11: 443 - 451 1999.
- 38) Kobayashi Y, Miyaji C, Naito M, Ebe Y, Watanabe H, Umezumi H, Hasegawa G, Abo T, Arakawa M, Kamata N, Suzuki H, Kodama T and Naito M: Role of scavenger receptor in endotoxin shock. *J Pathol* 192: 263 - 272 2000.
- 39) Hampton RY, Golenbock DT, Penman M, Krieger M and Raetz CR: Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature* 352: 342 - 344 1991.
- 40) Dunne DW, Resnick K, Greenberg J, Krieger M and Joiner KA: The type I macrophage scavenger receptor binds to Gram - positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci* 91: 1863 - 1867 1994.
- 41) Ishiguro T, Naito M, Yamamoto T, Hasegawa G, Gejo F, Mitsuyama M, Suzuki H and Kodama T: Role of macrophage scavenger receptors in response to *Listeria monocytogenes* infection in mice. *Am J Pathol* 158: 179 - 188 2001.
- 42) Hagiwara S, Takeya M, Suzuki H, Kodama T, van der Laan LJW, Kraal G, Kitamura N and Takahashi K: Role of macrophage scavenger receptors in hepatic granuloma formation in mice. *Am J Pathol* 154: 705 - 720 1999.
- 43) Ito S, Naito M, Kobayashi Y, Takatsuka H, Jiang S, Usuda H, Umezumi H, Hasegawa G, Arakawa M, Shultz LD, Elomaa O and Tryggvason K: Roles of a macrophage receptor with collagenous structure (MARCO) in host defense and heterogeneity of splenic marginal zone macrophages. *Archiv Histol Cytol* 62: 83 - 95 1999.
- 44) Ferrari G, Langen H, Naito M and Pieters J: A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of mycobacteria. *Cell* 97: 435 - 447 1999.

(平成 15 年 1 月 14 日受付)