

壁せん断応力による培養内皮細胞への代謝依存的な 高分子物質取り込み変化と細胞内顆粒との関係*

工藤 奨^{*1}, 池澤憲治^{*2}, 松村伸治^{*3}
池田満里子^{*4}, 岡浩太郎^{*5}, 谷下一夫^{*5}

Relationship between Energy-Dependent Macromolecule Uptake and Transport Granules in the Endothelial Cells Affected by Wall Shear Stress

Susumu KUDO, Kenji IKEZAWA, Shinji MATSUMURA,
Mariko IKEDA, Kotaro OKA and Kazuo TANISHITA

The purpose of this study is to reveal (1) the energy dependence of albumin uptake into endothelial cells, and (2) the effect of shear stress on the albumin uptake area and the its content per unit area. The uptake of the fluorescent labeled albumin (tetramethylrhodamine isothiocyanate conjugated albumin, TRITC-albumin) was visualized with a confocal laser scanning microscope. The uptake into the endothelial cells is inhibited completely at 4°C or by 1 μM FCCP, that is a potent energy metabolism inhibitor. This result indicates that the albumin uptake is an energy-dependent, active transport. After 48 hour exposure to shear stress to the endothelial cells, the albumin uptake area and the albumin content per unit area were changed. At 10 dyn/cm², at 5 μm the uptake area increases by 363% and the albumin content per unit area increases by 192%. At 60 dyn/cm², at 3 μm the uptake area decreases by 21% and the albumin content per unit area decreases by 54%. It is, therefore, considered that the effect of shear stress on the uptake area is more influential than that on the albumin content per unit area. We conclude that endothelial cells affected by shear stress change the albumin uptake function and especially the cells change the uptake area.

Key Words: Biological Engineering, Shear Flow, Bio-Fluid Mechanics, Endothelial Cell, Macromolecule Uptake, Active Transport, Albumin, Compartment

1. はじめに

血管内皮細胞は血管内面を一面に覆っており、組織と血液との間で物質交換を行っている。また、常に血流による壁せん断応力の影響を受けている。内皮細胞に流れを負荷することにより細胞形態や機能が変化することが知られており⁽¹⁾, 特に物質取り込みや⁽²⁾⁽³⁾、物質透過⁽⁴⁾に関しては、せん断応力負荷により亢進することが報告されている。

アルブミン等の高分子物質は内皮細胞の小胞, エンドソーム, リソソームといった顆粒状の細胞内区画(コンパートメント)に取り込まれ細胞内を輸送される⁽⁵⁾。細胞内への取り込みの変化が生じる際には、これら物質輸送コンパートメントの変化が考えられ、図1に示す様な物質輸送コンパートメントの(1)大きさ、(2)個数、(3)アルブミン含量、の変化が考えられる。

また、その変化は細胞の能動的活動によるプロセスかどうかという問題も重要な課題である。本研究ではアルブミン取り込みが能動的プロセスであるかどうかを調べ、さらにせん断応力負荷での取り込み変化は上述のどの因子が影響を及ぼされているのかを調べることを目的とする。

2. 実験方法

2.1 細胞培養 プタ胸部大動脈より, Shasbyら⁽⁶⁾の方法に準じて内皮細胞を採取した。内皮細胞をはく離するために血管を縦方向に切り開き、メスを用いて血管の内側を緩やかにはぎ取った。メスに付着した細胞を10%ウシ胎児血清(JRH Biosciences)と抗生物質(Antibiotic-Antimycotic, GIBCO)を含んだ培養液(Dulbecco's Modified Eagle's Medium DMEM, GIBCO)中で攪拌し、25 cm²のフラスコに播種した。細胞がコンフルエントになってから1:4の比率で継代培養をおこなった。継代数5から9代の細胞をカバーガラス上に播種し、実験に使用した。内皮細胞は、単層敷石状の形態的な特徴、および内皮細胞に特異的に取り込まれるアセチル化LDL [low density lipoprotein, acetylated, DiI complex (DiI-Ac-

* 原稿受付 1997年7月30日。

^{*1} 正員, 慶應義塾大学大学院(☎223-0061 横浜市港北区日吉3-14-1)。

^{*2} 慶應義塾大学大学院。

^{*3} 慶應義塾大学生物学教室(現: 浜松医科大学)。

^{*4} 慶應義塾大学生物学教室。

^{*5} 正員, 慶應義塾大学理工学部。

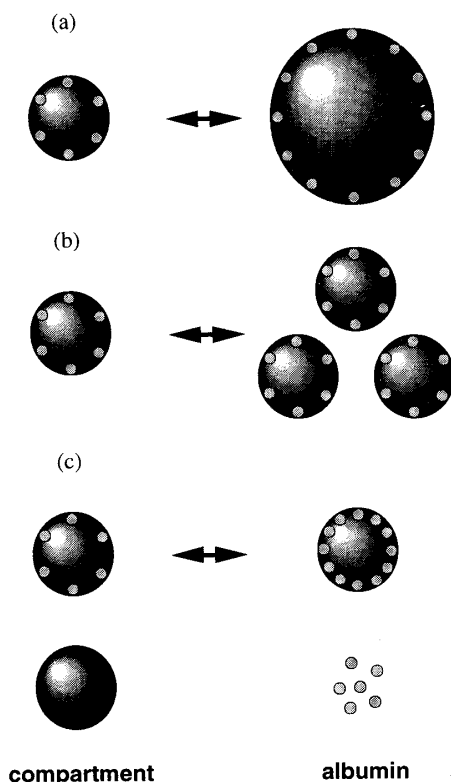


Fig. 1 How does shear stress affect albumin uptake into the cell: (a) compartment size, (b) compartment number, or (c) albumin content in the compartment?

LDL), Molecular Probes, Inc.] の取り込みにより同定した⁷⁾.

2・2 取り込みに使用する蛍光標識したアルブミンの精製 アルブミンの取り込みは tetramethyl rhodamin conjugated albumin (TRITC-albumin, Molecular Probes, Inc.) をトレーサとして観察した。市販の TRITC-albumin 中に含まれる遊離 TRITC を分離するために、限外ろ過フィルタ (CENTREX UFB-C 30, IWAKI) を用いて $4\,000\times g$, 1 時間の遠心分離を 3 回繰返した。これをリン酸緩衝液 (Dulbecco's Phosphate-Buffered Salines PBS, GIBCO) に 1 mg/ml で溶解し、無標識のアルブミンを加え、最終アルブミン濃度を培養条件と揃えて 4 mg/ml とした (溶液 A)。さらに、3 回目の遠心分離後に遊離 TRITC 溶液を回収し、無標識アルブミンを加え 4 mg/ml とした (溶液 B)。この溶液を内皮細胞に取り込ませ、バックグラウンド補正のためのコントロールとした。

2・3 せん断応力負荷装置および方法 洗浄をおこなった $\phi 22\text{ mm}$ のカバーガラス上に内皮細胞を播種し、コンフルエントを確認後、高さ 0.2 mm 、幅 20 mm 、長さ 90 mm の平行平板形流路内に置いた。こ

の平行平板形流路を灌流装置とつなげ、流れを负荷した。また、流路内はすべて培養時と同じ 10% ウシ胎児血清を含んだ DMEM で満たした。ローラポンプの脈動成分の除去には空気層が十分にあるリザーバを用いた。また、リザーバ内に CO_2 と空気の混合気体 ($5\% \text{ CO}_2$ - $95\% \text{ Air Balance}$) を通気することにより、回路内の pH を 7.4 に保った。また、ローラポンプ以外のすべての装置を恒温槽内に設置し、流路内の温度を 37°C で一定とした。この状態で 48 時間せん断応力を负荷した。

2・4 細胞内への TRITC-albumin の取り込み

取り込みに与える温度の影響を調べるために、 $37, 23, 4^\circ\text{C}$ で内皮細胞を 60 分間溶液 A 中でインキュベートした。エネルギー代謝を阻害させた場合の取り込みを調べるために、ミトコンドリア内膜の電気化学的勾配を消す脱共役剤である $1\ \mu\text{M}$ FCCP (p-trifluoromethoxy-phenylhydrozone, SIGMA) を添加した溶液 A 中で 37°C 60 分間インキュベートした。また、せん断応力の影響を調べる際はせん断応力負荷 48 時間後に、流路からカバーガラスを取り外し、溶液 A 中で 37°C で 60 分間インキュベートしてトレーサを取り込ませた。各条件で 60 分間インキュベート後、PBS で 3 回洗浄し、 2% パラホルムアルデヒド中で 2 分間固定後、さらに PBS で 3 回洗浄した。カバーガラスはシリコン製スぺーサをおいたスライドグラス上に PBS とともにマウントし、観察した。バックグラウンド補正のために、溶液 B 中で 60 分間インキュベートし、上述と同様な処理を施した試料を用意した。

2・5 共焦点レーザー顕微鏡による観察および解析

対物レンズ ($63\times$ (NA 1.4) Plan-apo, Nikon) を使用し、倒立形顕微鏡 (TMD 300, Nikon) を組込んだ共焦点レーザー顕微鏡 (MRC-600, Bio Rad) を使用して、蛍光像をコンピュータに取込んだ。光源として 25 mW アルゴンレーザを用いた。

カバーガラス上の $160\times 240\ \mu\text{m}$ の領域 5 ケ所から細胞 50 個を抽出し測定した。温度に関しては各温度条件についてカバーガラス 3 枚から細胞計 150 個を測定した。またせん断応力負荷の実験に関しては各せん断応力条件でカバーガラス 9 枚から細胞計 450 個を測定した。各測定領域において垂直方向 (細胞厚さ方向) に $1\ \mu\text{m}$ 間隔で 11 枚の連続断層像を取込んだ。また、蛍光褪色を防ぐためにレーザ光入力部に 10% ND フィルタを設置した。走査速度は 512 line/sec としノイズ除去のため 4 回走査の平均像を取込んだ。

取得した蛍光像は、コンピュータ (Macintosh Quadra 840 AV, Apple Computer) 上で画像解析用ソフト

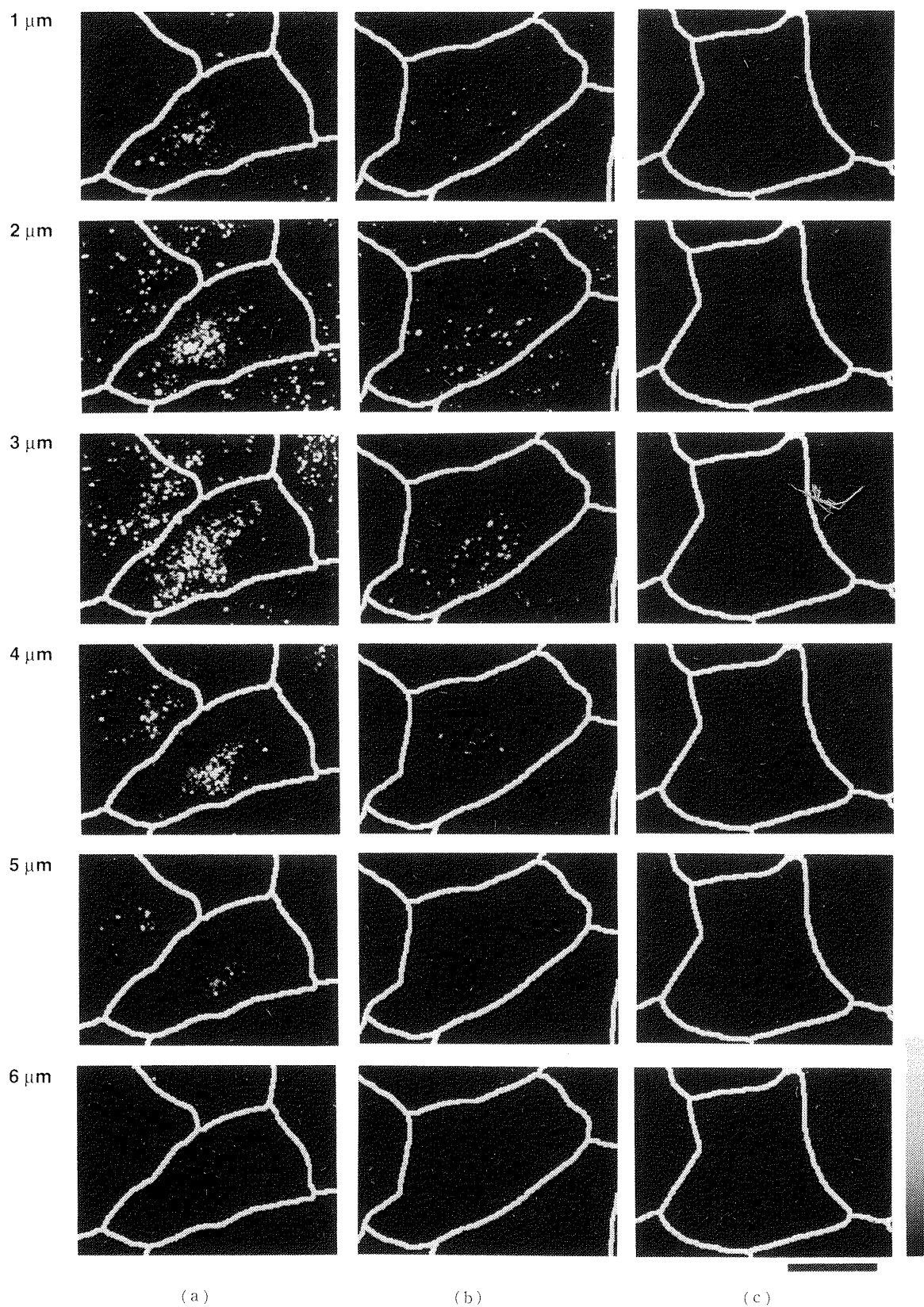


Fig. 2 The fluorescent image of Z-axis distribution of albumin uptake into endothelial cells affected by temperature. (a) 37°C, (b) 23°C, (c) 4°C. The surface of the coverslips is 0 μm. bar = 20 μm

Table 1 The effect of temperature on total albumin uptake, compartment area, and albumin uptake per unit area

Height (μm)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Relative albumin uptake (%)				Relative compartment area (%)				Relative albumin content per unit area (%)			
		37	23	4	FCCP	37	23	4	FCCP	37	23	4	FCCP
1		100	68	0	0	100	61	0	0	100	155	0	0
2		100	32	0	0	100	32	0	0	100	109	0	0
3		100	11	0	0	100	14	0	0	100	78	0	0
4		100	9	0	0	100	11	0	0	100	68	0	0
5		100	15	0	0	100	17	0 <td 0	100	85	0	0	

NIH-image 1.60 を使用して解析した。TRITC-albumin の取り込みは Richik ら⁽⁸⁾ の方法に準じて解析した。蛍光画像は輝度の明るさを黒を 0, 白を 255 とした 256 階調のグレースケールで表示した。また、溶液 B を取り込ませた試料の全輝度を 99.99% カットする値をしきい値として定め、その値以下をバックグラウンドとした。

3. 結果

3.1 温度および FCCP のアルブミン取り込みに及ぼす影響 図 2 にアルブミン取り込みに及ぼす温度の影響を共焦点レーザー顕微鏡を用いて調べた画像を示す。アルブミンは明るく顆粒状に取り込まれている。23 $^{\circ}\text{C}$ においてアルブミン取り込みは減少し、さらに、4 $^{\circ}\text{C}$ においては完全に阻害されている。また、FCCP のアルブミン取り込みに及ぼす影響も調べた。FCCP は脱共役剤の一つであり、ミトコンドリア内膜のプロトン透過性を増大させ、内膜の電気化学的こう配を減少させる。そのため、FCCP で処理された細胞は ATP 生産能を阻害され⁽⁹⁾、FCCP で処理した細胞でも図 2 の 4 $^{\circ}\text{C}$ の場合と同様に完全に取り込みが阻害された。

図 3 および表 1 にアルブミン取り込みに及ぼす温度の影響を示す。図 2 においてアルブミンは明るく顆粒状に取り込まれている。Schnitzer ら⁽¹⁰⁾ は内皮細胞層へのアルブミン取り込みは電子顕微鏡を用いて調べており、細胞内では小胞、エンドソーム、リソソームのいずれかの細胞内区画に入っていることを報告している。そのため、本研究ではこれら光っている部分をアルブミンが取り込まれている細胞内区画(コンパートメント)とした。図 3(a) は各断層でのアルブミン取り込みの総量を、(b) では各断層でのコンパートメント総面積を、(c) ではコンパートメント内の単位面積当たりのアルブミン量を示している。その評価方法は、(a) ではコントロール(37 $^{\circ}\text{C}$)での全断層の輝度総和を 100 として各条件、条断層での値をコントロール

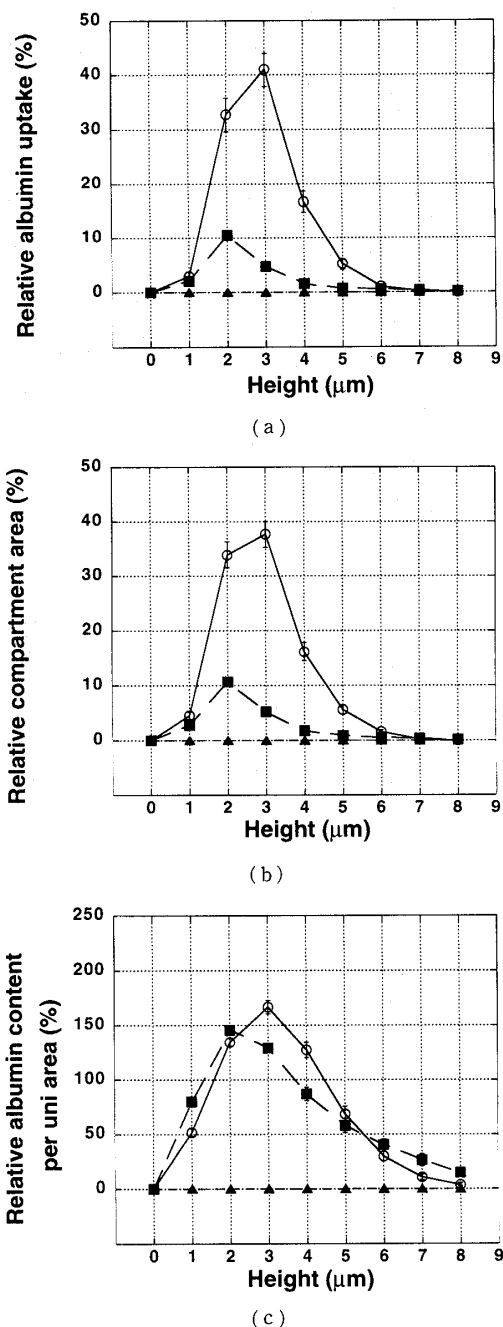


Fig. 3 The effect of temperature on (a) total albumin uptake, (b) compartment area, and (c) albumin uptake per unit area. (○) 37 $^{\circ}\text{C}$, (●) 23 $^{\circ}\text{C}$, (▲) 4 $^{\circ}\text{C}$ Mean \pm S. E.

全断層の輝度総和に対する割合として%で表示した。(b)ではコントロールでの全断層のコンパートメント面積総和を100として各条件、各断層での値を%で表示した。(c)ではコントロールの各断層の平均値を100として各条件、各断層の値を%で表示した。また、表1には各断層でのコントロール(37°C)の値を100として%で表示した。ここで、ある断面でのアルブミンの総量は図1に示したように顆粒状コンパートメントの大きさ、数、コンパートメント内アルブミン量で決定されると考えられるが、実際には融合した形態の顆粒が多く個々の顆粒構造を分離することが困難である。そこでアルブミンを含むコンパートメントの大きさと数を併せて評価するため、ある断層上でのコンパートメント総面積というパラメータを導入した[図3(b)]。またコンパートメント内のアルブミン量はコンパートメントの単位面積当たりの輝度として評価した[図3(c)]。つまり、単一細胞内においてアルブミン取り込みの総量はコンパートメント総面積とコンパートメント内の単位面積当たりのアルブミン量の積で表される。23°Cで取り込ませた細胞は37°Cに比べ各断層で低い値を示し、総量で75%減少した。また、4°Cの場合は各断層で完全に取り込みが阻害された。FCCP処理した細胞も4°Cと同様に完全に阻害された(表1)。図3(b)は図3(a)と同様23°Cの場合37°Cに対して低い値をとるのに対して、図3(c)は23°Cと37°Cがほぼ同じ様なプロファイルをとった。アルブミン取り込み総量の変化は、特に細胞底面からの高さ3, 4 μm で顕著になり、総量は4 μm でコントロール(37°C)の9%となった。このとき、総面積はコントロールの11%、単位面積当たりのアルブミン量は68%となった。また、全断層の平均値は、総量で27%となり、このとき総面積は27%、単位面積当たりのアルブミン量は99%となり取り込み総面積の減少の効果が大きいことがわかった。

3.2 壁せん断応力の TRITC-albumin の取り込みに及ぼす影響

48時間せん断応力を負荷した細胞での取り込まれたアルブミンの深さ方向分布を示す(図4)。すべての条件においてアルブミンは顆粒状に取り込まれていることが観測された。コントロール(no flow)ではカバーガラスから3 μm の部位で取り込み面積および輝度ともに最大となり細胞上部に行くにつれて急激に減少する。10 dyn/cm^2 を負荷した細胞に関してもカバーガラスから3 μm のところでは取り込み面積および輝度ともに最大となる。しかし、コントロールでは細胞上部に行くにつれ取り込み面積、輝度ともに急激に減少するのに対して、10 dyn/cm^2 を

負荷した細胞ではカバーガラスから4, 5 μm の位置においても細胞内に十分取り込まれているのが観測された。60 dyn/cm^2 を負荷した細胞に関しては、各断層で取り込み面積が少なく輝度も低かった。

図5、表2にアルブミン取り込みに及ぼすせん断応力の影響を定量評価した結果を示す。(a)は各断層でのアルブミン取り込みの総量を、(b)では各断層でのコンパートメント総面積を、(c)ではコンパートメントの単位面積当たりのアルブミン量を示している。表示方法は図3と同様に行った。表2に関しても表1と同様な表示方法を行った。

図5(a)で各せん断応力値において、各断層で取り込み量は一様ではなく違いがみられた。また、本実験条件下(ステップ幅1 μm 、分解能約0.4 μm)で得られた結果では3 μm 近傍に最大点を持つ山なりの分布となった。10 dyn/cm^2 ではコントロール(no flow)に対してアルブミンの取り込み量は増加した。特に細胞上部(3-6 μm)で取り込み量が増大し、逆に細胞下部(2 μm)では減少している。また、60 dyn/cm^2 においては、すべての断層においてコントロールより低い値をとった。図5(b)では各せん断応力値において細胞底面から3 μm でコンパートメント総面積のピークがあらわれ、この傾向は図5(a)と同様である。さらに、コンパートメント総面積の縦方向分布においても同様な傾向があらわれ、10 dyn/cm^2 では細胞上部でコンパートメント総面積が増大し、逆に細胞下部では減少している。60 dyn/cm^2 においては、すべての断層においてコントロールより低い値をとった。図5(c)では図5(a)、(b)と同様なプロファイルを示したが、各断層での増減率が大きく異なった(表2)。10 dyn/cm^2 の条件で最大の増減幅は5 μm でコントロールに対して455%の増加を示した。このときコンパートメント総面積は360%の増加、単位面積当たりのアルブミン量は190%の増加を示し、コンパートメント総面積の効果がアルブミン取り込みには大きいことがわかった。また、60 dyn/cm^2 において3 μm の位置で最小の減少幅10%を示しており、コンパートメント総面積は20%の減少、単位面積当たりのアルブミン量は50%の減少を示し、60 dyn/cm^2 においてもコンパートメント総面積の効果が大きいことがわかった。

4. 検 討

4.1 アルブミン取り込みの様子 本研究では、内皮細胞へのアルブミン取り込みは顆粒構造として取り込まれることを示した。一般に高分子物質は、細胞膜がくさくさすることで形成される小胞を介して細胞内に

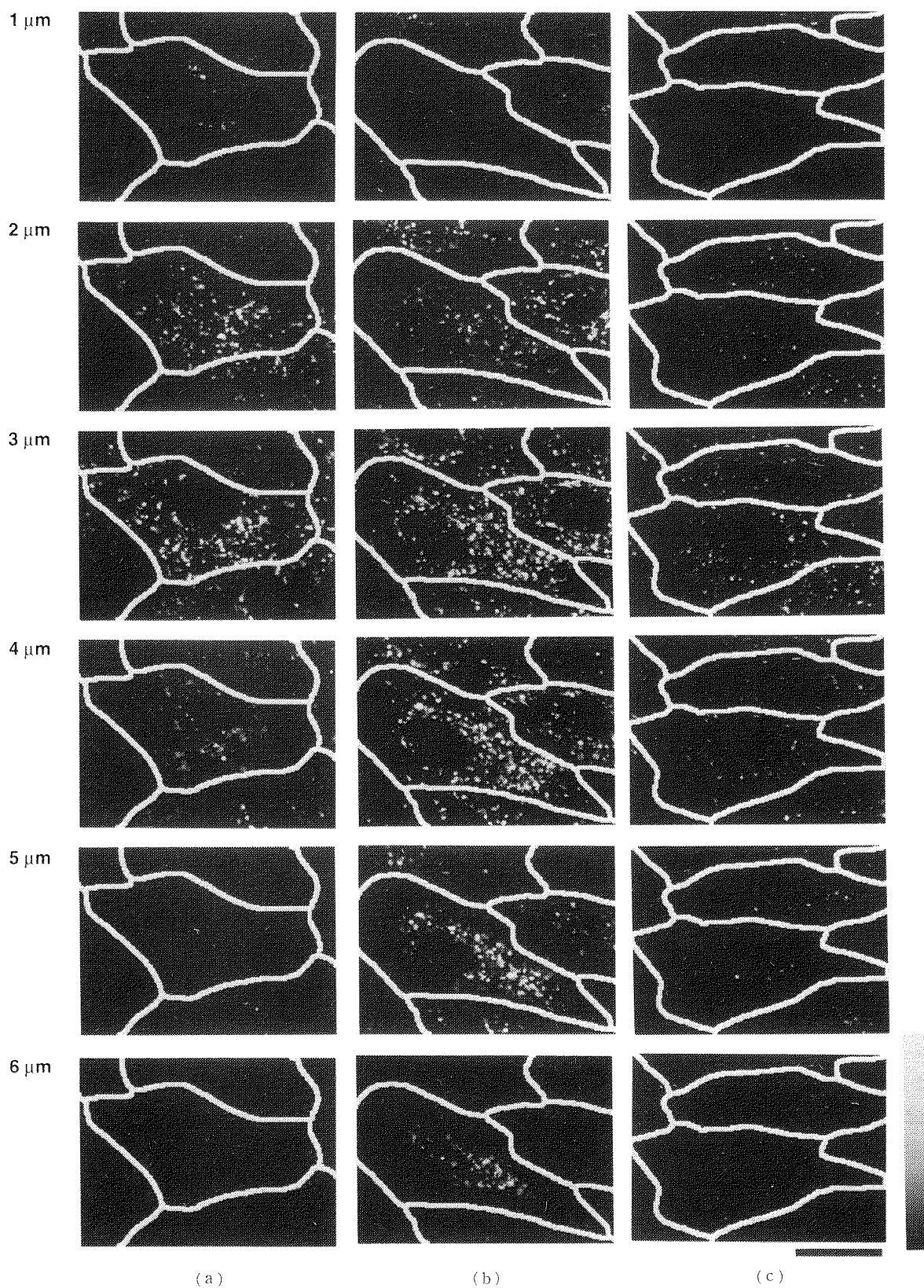
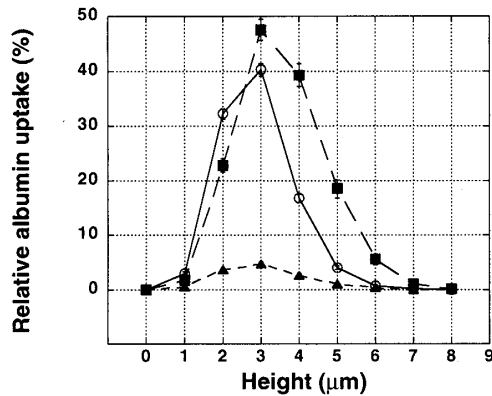


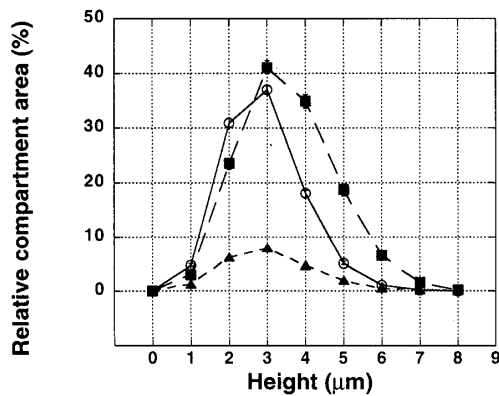
Fig. 4 The iamges of Z-axis distribution of albumin uptake into endothelial cells exposed to shear stress (a) no flow, (b) 10 dyn/cm^2 , (c) 60 dyn/cm^2 . The surface of the coverslips is 0 μm . bar = 20 μm

Table 2 The effect of shear stress on total albumin uptake, compartment area, and albumin uptake per unit area

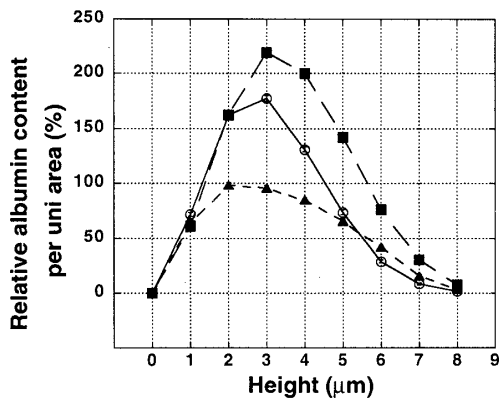
Height (μm)	Shear Stress (dyn/cm^2)	Relative albumin uptake (%)			Relative compartment area (%)			Relative albumin content per unit area (%)		
		0 (No flow)	10	60	0 (No flow)	10	60	0 (No flow)	10	60
1		100	59	20	100	62	25	100	85	89
2		100	71	11	100	75	20	100	100	61
3		100	118	11	100	111	21	100	123	54
4		100	234	16	100	193	27	100	152	65
5		100	455	25	100	363	39	100	192	89



(a)



(b)



(c)

Fig. 5 The effect of shear stress on (a) total albumin uptake, (b) compartment area, and (c) albumin uptake per unit area. (○ no flow, ■ 10 dyn/cm^2 , ▲ 60 dyn/cm^2) Mean \pm S. E.

取り込まれ、それらは細胞内コンパートメントの一つであり物質の選別などをつかさどっていると考えられるエンドソームを通過して細胞内消化官であるリソソーム内に入る。つまり、細胞内へ取り込まれた物質はこれらいずれかのコンパートメントに入る。しかし、厳密にはこれらの区分は難しい⁽¹¹⁾。堺ら⁽¹²⁾はエンドソームの動態を調べ、エンドソームは顆粒状や繊維状、または両者が結合したようなこぶのある繊維構造が存在すると報告している。本研究では、画像から各コンパートメントを分離することが困難であったため、コンパートメントの数および大きさを併せて評価するためコンパートメント総面積というパラメータを導入した。また、コンパートメント内のアルブミン含有量はコンパートメント単位面積あたりの輝度として評価した。

また、アルブミンの細胞内への取り込みは非被覆小胞上の受容体を介して輸送されることから⁽¹³⁾、被覆小胞などアルブミンの輸送に関与していない細胞内区画(コンパートメント)も多数存在すると考えられる。したがって、本研究で用いたコンパートメント面積はアルブミン輸送に関与しているコンパートメントに限定したものである。

本実験においては細胞外マトリックスに関して考慮していない。細胞外マトリックスは細胞の外側に存在し、細胞構造の支持体として考えられていたが、近年大きくその役割が見直されてきている。物質透過に関しては、細胞外マトリックスの存在により透過性の上昇が報告されている⁽¹⁴⁾。また、内皮細胞での細胞外マトリックスの合成が、せん断応力により促進されていることも報告されている⁽¹⁵⁾。このことから *in vivo* 内では内皮細胞と細胞外マトリックスとが強く相互作用をしていると考えられる。本研究では純粋に内皮細胞に対する代謝やせん断応力の影響を論ずるために細胞外マトリックスをコートしないカバーガラス上での物質取り込みに注目した。しかし、今後 *in vivo* 内の現

象を把握していく上では細胞外マトリックスなどを考慮したモデルを検討する必要がある。

4・2 アルブミン取り込みと細胞代謝との関係

本研究では、アルブミン取り込みと細胞活性との関係を調べるために温度と FCCP との影響を調べた。温度との関係において、温度の低下とともにアルブミンの取り込みの減少が観測された。温度の低下はアルブミンの拡散能自体も減少させる。濃度勾配を一定と考えるとアルブミンの輸送量は拡散係数で評価することができる。Stokes-Einstein の関係式を用いると拡散係数は温度に比例し粘性に反比例する。ここで、細胞内のアルブミンの拡散係数は粘性係数を各温度で水の粘性係数を使用し 37°C で拡散係数を 100 とすると、23°C では 71, 4°C では 54 となる。本研究では 4°C では完全に取り込みが阻害されていること。また、電子顕微鏡からアルブミンはコンパートメントで輸送される⁽¹⁰⁾ ことから、内皮細胞層へのアルブミンの取り込みは、単純な拡散現象ではなく、エネルギー消費を伴った能動的な輸送であると考えられた。また、FCCP を添加された細胞は細胞内での ATP 生産能を止める。FCCP の添加は直接 ATP の供給を止めることから、アルブミン取り込みのエネルギー依存性(ATP の利用)を示している。

温度の顆粒構造に対する影響は 4°C では完全に阻害されるので、23°C に関して論じると、アルブミンの取り込み総量の増減とコンパートメント総面積の増減が一致している [図 3(a), (b)] のに対して、単位面積当たりの取り込み量は変化していない [図 3(c)]。これは、温度の影響により取り込みの変化は単位面積当たりの量ではなく、コンパートメント総面積に対する影響が強いと考えられる。また、画像からコンパートメント総面積のうちコンパートメントの大きさより数が大きく変化していると考えられる(図 2)。O'morchoe ら⁽¹⁶⁾ はホースラディッシュペルオキシターゼを使用してリンパ管内皮細胞の透過性を調べており、4°C において透過率は半分に減少し、その時小胞の大きさは減少するが逆に数は増加すると報告している。このことは、温度が小胞に影響を与えるということを示している。

以上より本研究においてアルブミンは顆粒状に取り込まれる ATP を使用した活動であり、特に、取り込みが変化する際にはコンパートメント数の増減が大きく寄与していると考えられる。

4・3 壁せん断応力が取り込み量に及ぼす影響

本研究では、せん断応力によりアルブミン取り込みの増減がみられた [図 5(a)]。10 dyn/cm² のせん断

応力を負荷した細胞に関しては、コントロールに対して細胞下部では減少しているのに対して、細胞上部で取り込み量の増大が観測された。これら細胞上部での取り込み量の増大が全体の取り込み量の増大に寄与していると考えられ、特にその効果にはコンパートメント総面積の増大が大きく寄与しており [図 5(a), (b)], 画像からコンパートメント数が大きく寄与していると考えられた(図 4)。60 dyn/cm² のせん断応力を負荷した細胞に関しては、各層に関して取り込み量が低い。10 dyn/cm² のせん断応力を負荷した細胞と同様にその効果はコンパートメント総面積が大きく寄与しており、特に画像からコンパートメント数の寄与が大きいと考えられた(図 4)。

王ら⁽¹⁷⁾ は、ウサギに高脂肪食を投与すると内皮細胞の細胞質単位面積あたりの抗ホースラディッシュペルオキシターゼを有する小胞の数が平均せん断応力の高い部位よりも低い部位で有意に多いと報告している。このことから、本研究の結果は、内皮細胞はせん断応力の影響を受け、小胞などの数を増大させていることを示唆する。

内皮細胞がせん断応力の影響を受け取り込み能を変化させるメカニズムに関しては不明であるが、温度低下や FCCP 添加により細胞のエネルギー代謝を阻害するとアルブミン取り込みが抑制されることから(図 2, 3, 表 1), 内皮細胞のアルブミン取り込みはエネルギー依存的である。また、王ら⁽¹⁷⁾ は平均せん断応力の低い部位では高い部位よりも小胞の数が多くまたミトコンドリアが多くみられると報告している。ミトコンドリアの数の増大を代謝エネルギー利用の増大と考えると、せん断応力負荷により細胞内代謝エネルギー利用の変化が生じているものと考えられる。

5. ま と め

本研究では、内皮細胞内でのアルブミンは顆粒状の細胞内区画(コンパートメント)中に取り込まれて輸送され、その輸送はエネルギー依存的であることがわかった。せん断応力は内皮細胞のアルブミン取り込みのコンパートメントの個数や大きさに影響を及ぼし、特に個数への影響が大きかった。

本研究の一部は、平成 9 年度文部省科学研究費基盤研究 B 2(08455095)、および慶應義塾大学大形研究助成により行った。

文 献

- (1) 安藤譲二, シェアストレスと内皮細胞, (1996), 9-143, メディカルレビュー社。

- (2) Davies, P. F. ・ほか4名, *J. Clin. Invest.*, **73**(1984), 1121-1129.
- (3) Sprague, E. A. ・ほか3名, *Circulation*, **76**(1987), 648-656.
- (4) Jo, H. ・ほか3名, *Am. J. Physiol.*, **260**(1991), H1992-H1996.
- (5) Schnitzer, J. E. ・ほか2名, *Am. J. Physiol.*, **268**(1995), H48-H55.
- (6) Shasby, M. D. and Shasby, S. S., *J. Appl. Physiol.*, **60**(1986), 71-7910.
- (7) Voyta, J. C. ・ほか3名, *J. Cell. Biol.*, **99**(1984), 2034-2040.
- (8) Richik, G. N. ・ほか2名, *J. Cell. Sci.*, **107**(1994), 2177-2189.
- (9) Lisa, F. D. ・ほか6名, *J. Physiol.*, **486**(1995), 1-13.
- (10) Schnitzer, J. E. ・ほか3名, *J. Cell. Biol.*, **127**(1994), 1217-1232.
- (11) 市村孝雄, 生体の科学, **47**(1996), 268-275.
- (12) 堺立也・宮本宏, 生体の科学, **47**(1996), 276-281.
- (13) Schnitzer, J. E. and Oh, P., *J. Biol. Chem.*, **269**(1994), 6072-6082.
- (14) Ohsima, N. and Okawa, K., *Cell Mechanics and Cellular Engineering* (1994), 107-117, Springer-Verlag.
- (15) Thoumine, O. ・ほか2名, *Lab. Invest.*, **73**(1995), 565-576.
- (16) O'morchoe, C. C. C. ・ほか4名, *J. Cell. Biol.*, **98**(1984), 629-640.
- (17) 王速 ・ほか2名, 動脈硬化, **19**(1991), 1089-1100.
-