◆ 総 説 ◆

内皮細胞の物質透過

恵 谷 誠 司* 高 野 達 哉*

Transcellular Transport of Macromolecules across
Endothelial Cell Monolayer

Seiji EYA* and Tatsuya TAKANO*

Key words: endothelial cell, macromolecular transport, transcytosis, junctional transport

はじめに

血管内皮細胞は、血中物質から血管壁を保護するとともに、血中から血管組織への物質の移行を制御しており生理的に重要な役割を担っている。また、動脈硬化時には血管壁にコレステロールの蓄積が観察されるが、このコレステロールの蓄積は高脂血症や高血圧症などの疾患にともなう内皮細胞を介したりポタンパク質の透過性亢進や、内皮細胞傷害による漏れ出しに起因すると推定される。しかし、その詳細は明らかでない。したがって、正常時および疾患時における内皮細胞を介した物質透過の機構ならびにその調節機構を解明することは、生理学的に、また動脈硬化発症の機構を理解する上で重要である。

本稿では、内皮細胞を介したりポタンパク質などの巨大分子 (macromolecule) の透過機構ならびに内皮細胞傷害時における血小板の粘着凝集と物質透過との関連性について概説する。

内皮細胞を介した巨大分子の透過

内皮細胞は、上皮細胞と同様に極性 (polarity) をもち、細胞の表側 (apical surface) と裏側 (basolateral surface) とに分布するタンパ

ク質や脂質などの組成が異なっている¹⁾。このため、それぞれの面の機能も異なっている。また、内皮細胞同士の間には密着帯 (tight junction) や接着斑 (desmosome) などが存在し、お互いを結合している。さらに、内皮細胞は臓器によってその性質を異にしており、たとえば脳血管と他の組織の血管とでは密着帯や有窓小孔 (fenestrated pore) などの形状、数や存在状態などが異なっている²⁾。このような内皮細胞の構造が物質透過の制御と深く関係していると考えられる。

Siminonescu や Palade らは、フェリチン、ヘモグロビン、ペルオキシダーゼなどの標識物質を内皮細胞に取り込ませ、一連の形態学的解析を行い、内皮細胞を介した巨大分子の透過機構には、以下に述べる2つが存在することを示唆した³⁾⁴⁾。

1つは、細胞に取り込まれた物質が小胞を介して細胞の表側から裏側 (あるいはその逆) に移行するトランスサイトーシス (transcytosis) と呼ばれる機構である (図1)。トランスサイトーシスは、細胞内への物質の取り込み過程によって、1) 細胞表面に存在する特異的な受容体を介する機構 (receptor mediated transcytosis)、2) 荷電等により物質と細胞膜の間に生じる非特

* 帝京大学薬学部病態生化学教室 [〒199-01 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐 1091-1] : Department of Microbiology and Molecular Pathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University.

図1 内皮細胞を介した巨大分子透過モデル

LDLは、受容体を介したトランスサイトーシスにより、フルオレッセイン・デキストランは細胞間隙を通過する。

異的な結合を介する機構 (adsorptive transcytosis), 3) 溶液の細胞内への取り込みを介する機構 (fluid phase transcytosis) などに分類できる。特に, 1) は血中ホルモンなどの微量物質を特異的に内皮細胞下に輸送できる点で重要である。

現在までに, 特異的な受容体を介してトランスサイトーシスされることが示唆されている物質としては, 低密度リポタンパク質 (LDL)^{5)~8)}, トランスフェリン-鉄複合体⁹⁾, セルロプラスミン¹⁰⁾, アルブミン¹¹⁾, インスリン¹²⁾, アンジオテンシン II (A-II)¹³⁾ などが知られている。

内皮細胞を介した巨大分子透過の2つ目の機構は, 細胞間隙 (あるいは有窓小孔) を物質が透過する細胞間透過 (junctional transport) である (図1)。脳血管以外の内皮細胞の密着帯結合は, 上皮細胞ほど強固でない⁸⁾¹⁴⁾。そのため, 物質によっては細胞間を透過する可能性が考えられる。イヌリンやデキストランなどが, この機構によって輸送されると考えられている。

これら2つの機構による巨大分子の透過性

は, 内皮細胞の種類および細胞表面の特異的な受容体の存在の有無に加えて, 透過物質の分子量, 荷電, さらには血管傷害や血中の血小板, 血球, 血流, 血圧などによっても影響されると推定される。

内皮細胞のトランスサイトーシス

筆者らは, 動脈硬化の発症に深く関与していると考えられている LDL, ならびに平滑筋細胞の収縮に関わりを持つ A-II の内皮細胞を介した透過に興味を持ち解析を行った⁸⁾¹³⁾。

a. LDL のトランスサイトーシス

内皮細胞が積極的に LDL の透過に関与していることは, LDL を血管に灌流し, 電子顕微鏡を用いて内皮細胞への LDL の取り込みを経時的に観察することによって示されてきた。筆者らの研究室では, I 型コラーゲンをゲル化したダクロン布上に培養したブタ大動脈内皮細胞を上室と下室に分かれたチャンバーに装着し, LDL や A-II の内皮細胞を介した透過を定量的に測定する系を独自に開発した。この装置上で, 内皮細胞は典型的な基盤の目状に培養され (図2A), 細胞間には密着帯が観察された (図

図 2A ダクロン布を支持体としたコラーゲンゲル上に生着したブタ大動脈内皮細胞の走査型電子顕微鏡像 (バーの長さ 10 μm)

図 2B 培養内皮細胞の透過型電子顕微鏡像
細胞間には、ほぼ一定間隔で密着帯 (tight junction) が観察される。

図 3 培養内皮細胞を介した RB-LDL 透過量の経時変化
ローダミン B 標識 LDL を上室に加え、下室に透過した RB-LDL 量を蛍光分光光度計にて定量した。
□: ダクロン布のみ, △: ダクロン布に支えられたコラーゲンゲルのみ, ●: 内皮細胞存在下 37°C, ○: 内皮細胞存在下 0°C, ▲: 内皮細胞存在下 37°C で 2 時間培養後 0°C にした場合。

2B)。

このモデル系を用いて, Hashida らは⁸⁾, ローダミン B 標識した LDL (RB-LDL) (分子量 1,000~1,500 kDa) の透過について検討し, RB-LDL は分解されることなく内皮細胞を介して透過することを明らかにした。また, 透過は温度依存的であり (図 3), RB-LDL の濃度に対して透過量は飽和曲線を描くこと (図 4) を明らかにした。さらに, 2-デオキシグルコース

(50 mM) とアジ化ナトリウム (10 mM) 共存下で ATP の産生系を抑制すると, 透過が阻害されることから, 透過にはエネルギーとして ATP が必要であることを示唆した。以上の知見から, LDL の透過は, 受容体を介し, エネルギーに依存したトランスサイトシスであると推定した。

LDL が特異的な受容体を介してトランスサイトシスされることは, 血管壁への ¹²⁵I-

LDL の取り込みが、変性 LDL では阻害されないが、正常 LDL によって強く阻害されること¹⁵⁾、さらに MDCK 細胞 (Mardin-Darby Canine Kidney epithelial cells) を介した LDL の透過が、抗 LDL 受容体抗体によって部分的に阻害されること¹⁶⁾ などから強く支持される。しかし、一方で、Siminonescu らは形態学的観察から、LDL は LDL 受容体とコーティッドピット (coated pit) を介さず、plasmalemm-

mal vesicle 上の LDL 低親和性部位を介してトランスサイトーシスされる可能性を指摘している¹⁷⁾。また、LDL 受容体の欠損した WHHL ウサギ (Watanabe Heritable Hyperlipodemic rabbit) の胸部大動脈をマイクロフィルター上に培養した系を用いて、Nabav らは LDL の透過には LDL 受容体は関与していないことを示唆している¹⁸⁾。

LDL のトランスサイトーシスに LDL 受容体が直接関与しているのか否か、また、ATP などのエネルギーは、どの段階で必要とされるかなど、今後明らかにしなければならない問題がある。

b. A-II のトランスサイトーシス

Mineo らは¹³⁾、A-II の内皮細胞を介した透過について検討し、¹²⁵I-AII は分解されことなく細胞の表側から裏側へ透過すること、また透過は濃度、温度ならびにエネルギー (表 1, B) に依存的であり、過剰量の非標識 A-II や A-II 類似化合物 (Sar-Ile-A-II) によって透過が阻害される (表 1, A) ことを明らかにした。A-II の透過も LDL の透過と同様に特異的な受容体を介したトランスサイトーシスであると考えられる。また、A-II の透過は、エンドサイトーシスの阻害剤である monensin²¹⁾ などによって阻害されることを明らかにした (表 1, C)。

図 4 RB-LDL 透過量と濃度の関係
各濃度の RB-LDL を添加し、37°C で 2 時間放置し透過量を測定した。

表 1 種々の基質類似物質や阻害剤の ¹²⁵I-A-II トランスサイトーシス活性に与える影響

	net transport (fmol/h/dish)	inhibition (%)
A. competitor		
none	5.1	0
unlabeled A-II (50 μM)	0.3	95
bradykinin (50 μM)	4.0	22
Sar-Ile-A-II (50 μM)	1.0	80
B. inhibitor of ATP generation		
none	4.7	0
2-deoxyglucose (50 mM) + NaN ₃ (10 mM)	0.0	100
C. inhibitor of endocytosis		
none	5.2	0
monensin (50 mM)	0.6	88
phenylalanyl oxido (10 μM)	3.0	42
NH ₄ Cl (10 mM)	2.1	60

net transport 量は、37°C における ¹²⁵I-A-II の輸送量から 4°C における輸送量を差し引いた値として示した。

このことから、A-II のトランスサイトーシスの機構の一部は、エンドサイトーシスと共通あるいは類似していることが示唆される。

A-II アンタゴニストを用いた解析から、A-II 受容体には I 型, II 型¹⁹⁾²⁰⁾ の少なくとも 2 種類が存在することが示唆されている。また、それ以外にも何種類かの A-II 結合タンパク質が存在すると推定され、いずれがトランスサイトーシスに関与しているか、たいへん興味深い問題である。

トランスサイトーシスの分子機構

トランスサイトーシスの分子機構の詳細な解析は、主に上皮細胞を用いて行われている。上皮細胞は極性をもつ上、内皮細胞に比較して密着帯の結合が強固であり、細胞間透過の影響が少ないと考えられる。さらに、上皮細胞にトランスサイトーシスが観察されることなどが多用される理由である。

現在、2 量体 IgA, IgM²²⁾, EGF²³⁾, サイログロブリン²⁴⁾ などが上皮細胞を介してトランスサイトーシスされることが知られているが、中でも 2 量体 IgA のトランスサイトーシスの分子機構の解析が最も進んでいる。

a. 2 量体 IgA のトランスサイトーシス

2 量体 IgA や IgM は形質細胞で合成された後、上皮細胞表面のポリマー免疫グロブリン受容体 (polymeric immunoglobulin receptor, pIg-R) を介してトランスサイトーシスされ、乳汁、胆汁や唾液中に分泌される。

Mostov らは、ウサギ肝および乳腺から、pIg-R をコードする cDNA を単離した²⁵⁾。cDNA の塩基配列から推定されるアミノ酸配列やタンパク質化学的な解析から、pIg-R は 733 残基からなる前駆体として合成された後、シグナルペプチド (アミノ末端 18 残基領域) が除去され成熟タンパク質となると考えられる。また、成熟タンパク質のアミノ末端から 629 残基の領域は、細胞の外側に突き出したポリ免疫グロブリン結合部位を形成し、つづく 23 残基の領域が細胞膜貫通部分を形成し、残るカルボキシル末端側の 103 残基領域は細胞質側に突き出して存在すると推定される。Mos-

tov らは、この cDNA を犬腎臓上皮細胞の一種、MDCK 細胞中に導入し、pIg-R を安定に合成させることで 2 量体 IgA のトランスサイトーシス解析のモデル系を構築した²⁶⁾。このモデル系の完成によって解析が飛躍的に進んだ。

pIg-R は、粗面小胞体で合成された後、ゴルジ装置を経て直ちに細胞の裏側に移行する。そこで 2 量体 IgA や IgM と結合し、コーティットピットから細胞内に取り込まれ小胞を介して (おそらくエンドサイトーシスと共通の機構によって) エンドソームへ移行する。エンドソームでは、通常リガンドと受容体の解離が起こるが、2 量体 IgA と pIg-R 複合体はそのままの形で存在し、リソソームに移行する他のリガンドや再利用される受容体と選別され、小胞を介して細胞の表側に移行する。受容体は、表側の細胞膜に組み込まれた後、細胞の外側に突き出したリガンド結合部分が分解され、リガンドーリガンド結合部位複合体 (secretory component) が分泌される。2 量体 IgA のトランスサイトーシスでは、受容体は 1 サイクルで分解され、その半減期は約 30 分である (図 5)。

b. pIg-R のトランスサイトーシスに必須な領域

pIg-R の合成直後の細胞の裏側への移行には、細胞質側に突き出したカルボキシル末端側の 655-668 残基の領域が必須であり、また受容体の細胞内の移行には 668 残基以降の領域が必要であること、さらに 664 番目のセリンの磷酸化の有無が細胞内への受容体の取り込み効率に影響することが、一連のカルボキシル末端の欠失変異やアミノ酸置換変異の解析から示されている^{27)~30)}。

pIg-R と同様に膜を一回貫く構造をした LDL, マンノース 6 磷酸, IgG Fc 部分やトランスフェリンなどの受容体においても、細胞質側に存在する部分が、細胞内への受容体の取り込みや生合成後の受容体の細胞内分布に重要な役割を持つことが示唆されている^{31)~34)}。それぞれの受容体の細胞質側の領域は、アミノ末端側であつたりカルボキシル末端側であつたりする上、アミノ酸残基数もまちまちである。さらに、アミノ酸配列上での共通性も乏しい。しか

図5 2量体IgAのトランスサイトーシスモデル

2量体IgA受容体(pIg-R)は小胞体で合成され、ゴルジ装置を経て細胞の裏側(basolateral)の細胞表面に移動する。そこでポリマーIgAと結合し、細胞内に取り込まれ小胞を介してエンドソームに運ばれる。エンドソームでトランスサイトーシス小胞は、リソソームへ移行する小胞と振分けられ細胞の表側(apical)へ移行する。この段階で、受容体の一部SC(secretory component)が切断され、2量体IgAとともに細胞外に放出される。

し、LDL、リソソームグリコプロテインlgp 120、トランスフェリン、アシアログリコプロテインなどの受容体などの場合、細胞質側領域に存在するチロシン残基が、受容体の細胞内への取り込みに重要であることが示されている³²⁻³⁶⁾。また、受容体の細胞質側に存在するセリン、チロシンやスレオニン残基の磷酸化がEGFなどの受容体のエンドサイトーシスやトランスフェリンやマンノース6磷酸受容体の細胞内での分布や取り込み効率に影響を与えることが報告されており³⁷⁻⁴⁰⁾、pIg-Rの664番目のセリン残基の磷酸化も含めて、受容体の磷酸化によってトランスサイトーシスやエンドサイトーシスが調節を受けている可能性がある。しかし、トランスフェリンやアシアログリコプロテインの場合、磷酸化とエンドサイトーシス活

性とは関係無いとの報告もあり(41, 42)、それぞれの受容体の細胞内への取り込みや分布過程に普遍的な機構が存在するの否か、今後の解析が待たれる。

c. トランスサイトーシス小胞と細胞骨格

一般に、トランスサイトーシスでは、透過物質を取り込んだ小胞はエンドサイトーシスと共通の機構によってエンドソームに移行し、そこでトランスサイトーシス小胞はリソソームに移行する小胞と分離され細胞の反対側に移行すると考えられている(図5)。細胞内での方向性を持った小胞の移行ならびに小胞の振り分け機構、さらに膜の陥入、小胞化、受取側の膜との融合機構は、たいへん興味深い問題である。

微小管形成阻害剤であるノコダゾールを用いた実験からMostovやMellmanらは、トラン

スサイトーシス小胞の細胞内での移行には微小管などの細胞内骨格が関与していることを示唆している⁴³⁾⁴⁴⁾。また Sztul らは、ラット肝マイクロソーム画分を不連続ショ糖密度勾配遠心し、粗膜小胞画分を得た後、pIg-R の細胞質側の部分に対する抗体を用いて免疫沈降を行い、エンドソームやゴルジ装置とは異なる pIg-R に富んだトランスサイトーシスに関与すると考えられる小胞を分離した。この小胞には、108 kDa のタンパク質が特異的に存在する⁴⁵⁾。この 108 kDa タンパク質を指標として、小胞と微小管などの相互作用を解析することで、小胞の振り分け機構ならびに方向性を持った小胞の移行機構が明らかになるものと期待できる。

また、細胞膜や細胞内膜系（ゴルジ装置など）の陥入、小胞化、受取側の膜との融合の際には、何種類かの低分子 GTP 結合タンパク質が関与していることが示唆されている。最近、それぞれの GTP 結合タンパク質の細胞内での分布などが明らかにされつつあり⁴⁷⁾、今後の展開が期待される。

内皮細胞を介した細胞間透過

Hashida らは⁴⁶⁾、分子量が4から150 kDa のフルオレッセイン・デキストラン (FD) を用いて、培養内皮細胞系での透過を検討し、FD は分子量が小さいほど透過性が大きくなること、透過は、温度ならびにエネルギーに依存しないこと、また透過量は添加した FD 量に比例して増大し、飽和しないことを明らかにした。さらに、内皮細胞間隙の広さなどに影響を及ぼすことが知られているサイトカラシン B、コルヒチン、EDTA などによって FD の透過量が増大することなどから、FD は細胞間隙を透過していると推定される。

興味あることに、FD の透過量は、生理的濃度 ($3 \mu\text{M}$) のプロスタサイクリン (PGI_2) によって約 50% 減少する (図 6)。同様の透過抑制効果は、ジブチリル cAMP によっても観察される。さらに、 PGI_2 による FD の透過抑制は、ホスホジエステラーゼ阻害剤である isobutylmethylxanthine によって増強される。一方、アデニラートシクラゼ阻害剤である

図 6 フルオレッセイン・デキストランの内皮細胞透過に及ぼすプロスタサイクリンの抑制効果

天然型プロスタサイクリン (PGI_2) および安定型プロスタサイクリン (PGI_2 deriv) は、 $30 \mu\text{M}$ でフルオレッセイン・デキストランの透過を約 50% 抑制する。 PGI_2 と同様に血小板凝集抑制効果の知られているプロスタグランジン E_1 (PGE_1) にも、同濃度の PGI_2 の約 1/3 の抑制効果が認められる。

dideoxyadenosine によって減弱される。これらの知見から PGI_2 による FD 透過抑制の機構には cAMP が関与していることが示唆される⁴⁸⁾。おそらく cAMP によって内皮細胞間隙の密着帯などの形成が促進されたため、あるいはタンパク質の磷酸化にともなって細胞骨格が伸展し細胞間隙が狭まったために、FD の透過性が減少したと推定される。

PGI_2 は、内皮細胞傷害時にその産生量が上昇することが知られており、内皮細胞傷害時の物質透過に対する PGI_2 の効果は如何なるものであるか興味深い。

内皮細胞傷害と物質透過

動脈硬化粥腫表層の内皮細胞剥離部分には、多数の血小板の粘着が観察される (図 7)。内皮細胞剥離と血小板粘着、凝集は動脈硬化発症時の血管内皮細胞を介した物質の透過性亢進と密接に関係していると考えられる。

Yagyu らは、フィブリノーゲン、フィブロンectinを含むコラーゲン上に予めテフロン製の O リングを置き内皮細胞を培養した後、O

図7 動脈硬化巣表層の走査電子顕微鏡像
内皮細胞の一部が剝離しており、血小板の粘着が観察される。(バーの長さ 20 μm)

リングを取り除くことで一定の剝離面積をもつ内皮細胞剝離モデルを作成した⁴⁹⁾。この系に、 ^{51}Cr 標識したウサギ血小板を加え、内皮細胞剝離による物質透過と血小板の影響について、FD の透過を指標として検討した。

内皮細胞を剝離した場合 (図8, denuded EC), FD の透過性は明らかに亢進した。血小板を加えた場合 (図8, denuded EC+plt), FD の透過は強く抑制された。この時、内皮細胞の剝離部分への血小板の凝集が観察されたことから、血小板の粘着凝集によって FD の透過性が抑制されたものと推定される。また、面白いことに PGI_2 の存在下では、血小板の内皮細胞剝離部分への結合量が著しく減少するが、FD の透過性は有意に抑制されることが明らかとなった。このことから、内皮細胞剝離部分を介した FD の漏れ出しは、一層の血小板の粘着によって十分に抑えることができると推定される。

おわりに

血管内皮細胞は、血管の内側を一層に覆い皮下の組織を守るための障壁として機能している。さらに、内皮細胞は組織によって、その性状が異なっており、それぞれの組織におけ

図8 剝離内皮細胞層におけるフルオレッセイン・デキストラン透過に及ぼす血小板の効果
内皮細胞を剝離することでフルオレッセイン・デキストランの透過性は上昇する (denuded EC). この系に、血小板を加えると透過性は抑制される (denuded EC+plt).

る生理活性物質などの透過性を制御している。このように生理的に重要な役割を果たしている内皮細胞が正常に機能しなくなった場合に、動脈硬化症などの重篤な疾患が発症すると考えられる。各種組織における内皮細胞の物質透過の機構やその調節の機構が、解明されることで血管病変を理解する上で有用な知見が得られると考えられる。最近ようやく、こうした内皮細胞

を介した, 物質透過機構の生化学的解析が始まりだしており, 今後の成果がおおいに期待される。

文 献

- 1) Herzlinger, D.A. and Ojakian, G.K.: Studies on development and maintenance of cell surface polarity with monoclonal antibodies. *J. Cell. Biol.*, **98**: 1777~1788, 1984.
- 2) 吉本智信, 佐々木富男: 脳血管. in: *Biomedica*, vol. 5, 北隆館, pp. 1496~1500, 1990.
- 3) Simionescu, N., Simionescu, M. and Palade, G. E.: Open junctions in the endothelium of the postcapillary venules of the diaphragm. *J. Cell. Biol.*, **79**: 27~44, 1978.
- 4) Simionescu, N.: Cellular aspects of transcapillary exchange. *Physiol. Rev.*, **63**: 1536~1579, 1983.
- 5) Vasile, E., Nistor, A., Nedelcu, S., Simionescu, M. and Simionescu, N.: Dual pathway of low density lipoprotein transport through aortic endothelium and vasa vasorum, in situ. *Eur. J. Cell. Biol.*, **22**: 181, 1980.
- 6) Vasile, E., Simionescu, M. and Simionescu, N.: Visualization of the binding, endocytosis and transcytosis of low-density lipoprotein in the arterial endothelium in situ. *J. Cell. Biol.*, **96**: 1677~1689, 1983.
- 7) Vasile, E. and Simionescu, N.: Transcytosis of low density lipoprotein through vascular endothelium. in: *Glomerular dysfunction and biopathology of vascular wall* (Copley, A.L., Hamasina, Y., Seno, S. and Venkatachalam, M.A., eds), Academic Press Japan, Inc. Tokyo, pp. 87~101, 1985.
- 8) Hashida, R., Anamizu, C., Kimura, J., Ohkuma, S., Yoshida, Y. and Takano, T.: Transcellular transport of lipoprotein through arterial endothelial cells in monolayer culture. *Cell Struct. Funct.*, **11**: 31~41, 1986.
- 9) Fishman, J.B., Andrahan, J.V., Conner, J., Dickey, B.F. and Fine, R.E.: Receptor mediated transcytosis of transferrin across the blood brain barrier. *J. Cell. Biol.*, **101**, No. 5, part 2, 423a, 1985.
- 10) Kataoka, M. and Tavsassoli, M.: The role of liver endothelium in the binding and uptake of ceruloplasmin: Studies with colloidal gold probe. *J. Ultra. Struct. Res.*, **90**: 194~202, 1985.
- 11) Ghitescu, L., Fixman, A., Simionescu, M. and Simionescu, N.: Specific binding site for albumin restricted to plasmalemmal vesicles of continuous capillary endothelium: receptor mediated transcytosis. *J. Cell. Biol.*, **102**: 1304~1311, 1986.
- 12) King, G.I. and Johnson, S.: Receptor-mediated transport of insulin across endothelial cells. *Science*, **227**: 1583~1586, 1985.
- 13) Mineo, C., Yagyu, Y., Imanaka, T. and Takano, T.: Transcellular transport of angiotensin II through a cultured arterial endothelial monolayer. *Exper. Cell. Res.*, **190**: 99~103, 1990.
- 14) Griep, E.B., Dolan, W.J., Robbins, E.S. and Sabatini, D.D.: Participation of plasma membrane proteins in the formation of tight junctions by cultured epithelial cells. *J. Cell. Biol.*, **96**: 693~702, 1983.
- 15) Smirnov, V.N., Repin, V.S., Tkachuk, V.A. and Chazov, E.I.: Vascular endothelium and atherosclerosis: A multidisciplinary approach. in: *Endothelial cells*. Vol. 3, (Ryan, U.S. ed), CRC Press, Inc. Florida, pp. 139~215, 1987.
- 16) Li, C., Stifani, S., Schneider, W.J. and Poznansky, M.T.: Low density lipoprotein receptors on epithelial cell (Madin-Darby Canine Kidney) monolayers. *J. Biol. Chem.*, **256**: 9263~9270, 1991.
- 17) Simionescu, M.: Receptor mediated transcytosis of plasma molecules by vascular endothelium. in: *Endothelial cell biology* (Simionescu, N., Simionescu, M. eds) Plenum Press, New York, pp. 69~104, 1988.
- 18) Navab, M., Hough, G.P., Berliner, J.A., Frank, J. A., Fogelman, A.M., Haberland, M.E. and Edwards, P.A.: Rabbit beta-migrating very low density lipoprotein increases endothelial macromolecular transport without altering electrical resistance. *J. Clin. Invest.*, **78**: 389~397, 1986.
- 19) Sasaki, K., Yamano, Y., Bardhan, S., Iwai, N., Murry, J.J., Hasegawa, M., Matsuda, Y. and Inagami, T.: Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature*, **351**: 230

- ~232, 1991.
- 20) Murphy, T.J., Wayne Alexander, R., Griendling, K., Runge, M.S. and Bernstein, K.E.: Isolation of a cDNA encoding the vascular type-I angiotensin II receptor. *Nature*, **351**: 232~236, 1991.
 - 21) Orci, L., Halban, P., Amhuds, M., Ravazzola, M., Vassalli, J.-D. and Perrelet, A.: A clathrin-coated, Golgi-related component of the insulin secreting cell accumulates proinsulin in the presence of monensin. *Cell*, **39**: 39~47, 1984.
 - 22) Mostov, K.E., Kraehenbuhl, J.-P. and Blobel, G.: Receptor-mediated transcellular transport of immunoglobulin: Synthesis of secretory component as multiple and larger transmembrane forms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **77**: 7257~7261, 1980.
 - 23) Maratos-Flier, E., Kao, C.-Y. Y., Verdin, E.M. and King, G.L.: Receptor-mediated transcytosis of epidermal growth factor by Madin-Darby canine kidney cells. *J. Cell. Biol.*, **105**: 1595~1601, 1987.
 - 24) Herzog, V.: Transcytosis in thyroid follicle cells. *J. Cell. Biol.*, **97**: 607~617, 1983.
 - 25) Mostov, K.E., Friedlander, M., and Blobel, G.: The receptor for transepithelial transport of IgA and IgM contains multiple immunoglobulin-like domain. *Nature*, **308**: 37~43, 1984.
 - 26) Mostov, K.E. and Deitcher, D.L.: Polymeric immunoglobulin receptor expressed in MDCK cells transcytoses IgA. *Cell*, **46**: 613~621, 1986.
 - 27) Mostov, K.E., de Bruyn Kops, A. and Deitcher, D. L.: Deletion of the cytoplasmic domain of the polymeric immunoglobulin receptor prevents basolateral localization and endocytosis. *Cell*, **48**: 359~364, 1986.
 - 28) Mostov, K.E., Breifeld, P. and Harris, J.M.: An anchor-minus form of the polymeric immunoglobulin receptor is secreted predominantly apically in Madin-Darby Canine Kidney cells. *J. Cell. Biol.*, **105**: 2031~2036, 1987.
 - 29) Casanova, J.E., Apodaca, G. and Mostov, K.E.: An autonomous signal for basolateral sorting in the cytoplasmic domain of the polymeric immunoglobulin receptor. *Cell*, **66**: 65~75, 1991.
 - 30) Casanova, J.E., Breitfeld, P.P., Ross, S.A. and Mostov, K.E.: Phosphorylation of the polymeric immunoglobulin receptor required for its efficient transcytosis. *Science*, **248**: 742~748, 1990.
 - 31) Davis, C.G., Van Driel, I.R., Russell, D.W., Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: The low density lipoprotein receptor. Identification of amino acids in cytoplasmic domain required for rapid endocytosis. *J. Biol. Chem.*, **262**: 4075~4082, 1987.
 - 32) Lobel, P., Fujimoto, K., Ye, R.D., Griffiths, G. and Kornfeld, S.: Mutations in the cytoplasmic domain of the 275 kd mannose 6-phosphate receptor differentially alter lysosomal enzyme sorting and endocytosis. *Cell*, **57**: 787~796, 1989.
 - 33) Hunziker, W., Harter, C., Matter, K. and Mellman, I.: Basolateral sorting in MDCK cells requires a distinct cytoplasmic domain determinant. *Cell*, **66**: 907~920, 1991.
 - 34) Jing, S., Spencer, T., Miller, K., Hopkins, C. and Trowbridge, I.S.: Role of the human transferrin receptor cytoplasmic domain in endocytosis: Localization of a specific signal sequence for internalization. *J. Cell. Biol.*, **110**: 283~294, 1990.
 - 35) Davis, C.G., Lehrman, M.A., Russell, D.W., Anderson, R.G.W., Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: The J.D. mutation in familial hypercholesterolemia: amino acid substitution in cytoplasmic domain impedes internalization of LDL receptor. *Cell*, **45**: 15~24, 1986.
 - 36) Fuhrer, C., Geffen, I. and Spiess, M.: Endocytosis of the ASGP receptor HI is reduced by mutation of tyrosine-5 but still occurs via coated pits. *J. Cell. Biol.*, **114**: 423~432, 1991.
 - 37) Sibley, D.R., Benovic, J.L., Caron, M.G. and Lefkowitz, R.J.: Regulation of transmembrane signaling by receptor phosphorylation. *Cell*, **48**: 913~922, 1987.
 - 38) Klausner, R.D., Harford, J., van Renswoude, J.: Rapid internalization of the transferrin receptor in K562 cells is triggered by ligand binding or treatment with a phorbol ester. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **81**: 3005~3009, 1984.
 - 39) Fallon, R.J. and Schwartz, A.L.: Regulation by phorbol ester of asialoglycoprotein and transferrin receptor distribution and ligand affinity in a hepatoma cell lines. *J. Biol. Chem.*, **261**: 15081~15089, 1986.
 - 40) Bräulke, T., Tippmer, S., Chao, H.-J. and von

- Figura, K. : Regulation of mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor distribution by activators and inhibitors of protein kinase C. *Eur. J. Biochem.*, **189** : 609~616, 1990.
- 41) Rothenberger, S., Iacopetta, B.J. and Kuhn, L.C. : Endocytosis of transferrin receptor requires the cytoplasmic domain but not its phosphorylation site. *Cell*, **49** : 423~431, 1987.
- 42) Geffen, I., Fuhrer, C. and Spiess, M. : Endocytosis by the asialoglycoprotein receptor is independent of cytoplasmic serine residues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88** : 8425~8429, 1991.
- 43) Breitfeld, P.P., Mckinnon, W.C. and Mostov, K. E. : Effect of nocodazole on vesicular traffic to the apical and basolateral surfaces of polarized MDCK cells. *J. Cell. Biol.*, **111** : 2365~2373, 1990.
- 44) Hunziker, W., Male, P. and Mellman, I. : Differential microtubule requirements for transcytosis in MDCK cells. *EMBO J.*, **9** : 3515~3525, 1990.
- 45) Sztul, E., Kaplin, A., Saucan, L. and Palade, G. : Protein traffic between distinct plasma membrane domains : Isolation and characterization of vesicular carriers involved in transcytosis. *Cell*, **64** : 81~89, 1991.
- 46) Hashida, R., Anamizu, C., Yagyu-Mizuno, Y., Ohkuma, S. and Takano, T. : Transcellular transport of fluorescein dextran through an arterial endothelial cell monolayer. *Cell Struct. Funct.*, **11** : 343~349, 1986.
- 47) Chavrier, P., Gorvel, J-P., Stelzer, E., Simon, K., Gruenberg, J. and Zerial, M. : Hypervariable C-terminal domain of rab protein acts as a targeting signal. *Nature*, **353** : 769~772, 1991.
- 48) Mizuno-Yagyu, Y., Hashida, R., Mineo, C., Ikegami, S., Ohkuma, S. and Takano, T. : Effect of PGI₂ on transcellular transport of fluorescein dextran through an arterial endothelial monolayer. *Biochem. Pharmacol.*, **36** : 3809~3813, 1987.
- 49) 柳生靖子 : 脂質生化学研究, **32** : 373~376, 1990.