

Title	高血糖が腎系球体血行動態に与える影響の検討
Sub Title	Effect of hyperglycemia in renal glomerular hemodynamics
Author	本間, 康一郎(Honma, Koichiro) 猿田, 享男(Saruta, Ikuo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.295- 308
JaLC DOI	
Abstract	Elevated renal perfusion pressure (RPP) elicits constriction of renal afferent arterioles (AFF), which comprises two mechanisms, myogenic response and tubuloglomerular feedback (TGF). This study examined whether pressure-induced AFF constriction was impaired in acute and chronic hyperglycemia. Intravital CCD camera was used to visualize the renal microcirculation. In normoglycemic rats, elevated RPP caused 17.5±2.0% AFF constriction. Acute hyperglycemia by infusion of high glucose solution elicited AFF vasodilation, and blunted the pressure-induced constriction(−8.7±1.0%). In contrast, the same elevation in plasma osmolality with mannitol failed to alter the basal diameter or the pressure-induced constriction of AFF. In acute hyperglycemic rats, both gadolinium (a myogenic response inhibitor)and furosemide la TGF inhibitor) inhibited the pressure-induced AFF constriction. During the inhibition of myogenic tone by gadolinium, the inhibition of nNOS by S-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC) restored the acute hyperglycemia-induced impaired AFF constriction, but this ameliorating action was absent during the TGF inhibition by furosemide, suggesting selective activity of nNOS-associated NO on TGF. Similarly, in chronic hyperglycemic (Zucker obese) rats, myogenic response and TGF were blunted, and L-SMTC ameliorated the blunted TGF response. In conclusion, hyperglycemia causes impaired pressure response in both acute and chronic hyperglycemia. The blunted response is attributed to impairment in myogenic and TGF-mediated AFF constriction; the latter effect is caused by enhanced activity of nNOS.
Notes	原著
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041200-0295

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

原 著

高血糖が腎系球体血行動態に与える影響の検討

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導：猿田享男教授)

ほん ま こういちろう
本 間 康一郎

(平成 16 年 8 月 6 日受付)

ABSTRACT

Effect of hyperglycemia in renal glomerular hemodynamics

Koichiro Homma

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University

Elevated renal perfusion pressure (RPP) elicits constriction of renal afferent arterioles (AFF), which comprises two mechanisms, myogenic response and tubuloglomerular feedback (TGF). This study examined whether pressure-induced AFF constriction was impaired in acute and chronic hyperglycemia. Intravital CCD camera was used to visualize the renal microcirculation. In normoglycemic rats, elevated RPP caused $17.5 \pm 2.0\%$ AFF constriction. Acute hyperglycemia by infusion of high glucose solution elicited AFF vasodilation, and blunted the pressure-induced constriction ($-8.7 \pm 1.0\%$). In contrast, the same elevation in plasma osmolality with mannitol failed to alter the basal diameter or the pressure-induced constriction of AFF. In acute hyperglycemic rats, both gadolinium (a myogenic response inhibitor) and furosemide (a TGF inhibitor) inhibited the pressure-induced AFF constriction. During the inhibition of myogenic tone by gadolinium, the inhibition of nNOS by S-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC) restored the acute hyperglycemia-induced impaired AFF constriction, but this ameliorating action was absent during the TGF inhibition by furosemide, suggesting selective activity of nNOS-associated NO on TGF. Similarly, in chronic hyperglycemic (Zucker obese) rats, myogenic response and TGF were blunted, and L-SMTC ameliorated the blunted TGF response. In conclusion, hyperglycemia causes impaired pressure response in both acute and chronic hyperglycemia. The blunted response is attributed to impairment in myogenic and TGF-mediated AFF constriction; the latter effect is caused by enhanced activity of nNOS.

Key Words : afferent arterioles, myogenic response, tubuloglomerular feedback (TGF), hyperglycemia, nNOS

近年、わが国では慢性腎不全のために維持透析を受ける患者は増加の一途をたどっている。それに伴い、透析に要する医療費は膨大な額となり、費用総額は年間1兆2千億円に達し、わが国の総医療費の約3%を占めるようになった¹⁾。なかでも糖尿病性腎症による透析導入患者が顕著に増加しており、透析導入患者の原疾患のなか

で、糖尿病性腎症の比率は1998年以降慢性糸球体腎炎を抜き第一位となっている²⁾。このような糖尿病性腎症患者数の増加のみならず、糖尿病性腎症による透析導入患者の予後は不良であること、ならびに高齢者が多く生活の質の低下が認められ、医療面、医療経済面のみならず社会的な面からも重要な課題とされている。したがっ

て、糖尿病による透析導入を回避あるいは遅延させることが急務であり、その目的のためには糖尿病性腎症の成因ならびに進展機序を明らかにすることが極めて重要であると考えられる。

糖尿病による臓器障害の成因には、血糖上昇に伴う代謝異常が直接あるいは間接的にプロテインキナーゼC、酸化ストレスなどの因子を活性化させたり^{3,4)}、内皮由来一酸化窒素の合成低下⁵⁾を介して、血管収縮による血流障害や血圧上昇ならびに血管肥厚などをきたすことが示されている。一方、他の臓器と異なり、腎臓では血流増加が認められ糸球体濾過機能が亢進していることが知られている。このような腎特異的な血流異常反応は、主として血液濾過の場である糸球体の前に存在する輸入細動脈の拡張ならびに腎灌流圧の上昇に伴う細動脈収縮の不全によることが、糖尿病モデル動物や⁶⁾、人⁷⁾において確認されており、その結果過剰の腎灌流圧が加わり腎障害を増悪させることが示唆されている。すなわち、大動脈から糸球体にいたる循環経路において、輸入細動脈が血管抵抗の重要な役割を担っていることより⁸⁾、輸入細動脈の拡張が糸球体過剰濾過をもたらすのみならず糸球体内圧の上昇をきたし、メサングウム細胞など糸球体固有細胞が機械的に伸展され transforming growth factor- β などの各種サイトカインの発現を亢進させると考えられている⁹⁾。さらに、上皮に障害が及ぶと高分子物質に対する選択的透過性が亢進し蛋白尿の出現や、内皮障害により血管作動物質の異常や血管壁への脂質沈着、毛細血管内血栓を生じることが報告されている¹⁰⁾。この結果、糸球体硬化が進行し機能ネフロン数が次第に減少する。一方、残存ネフロンは失われたネフロンの機能を代償する反応が起こり、糸球体高血圧がさらに増悪しネフロン数が次第に減少する結果、末期腎不全に至ると考えられている¹¹⁾。したがって、血行動態面から見て、輸入細動脈の抵抗調節障害が糖尿病性腎症の進展に重要な役割を果たしていることが推察されるが、いかなる機序が輸入細動脈の拡張反応をもたらすか、他の臓器における細動脈との差異を形成するかは明らかでない。さらに、慢性高血糖で代表される糖尿病の腎輸入細動脈の異常が、血糖自体により影響するか否かについては検討されていない。

腎輸入細動脈の抵抗調節には、他の臓器細動脈にも共通する筋原性収縮反応と、腎に特異的な尿管系糸球体フィードバック機構（以下、TGFと略）が関与しており、この両者が腎灌流圧の変化に呼応して腎血流量を一定に保持する腎自動調節能を維持している。とくに、TGFはヘンレ尿管に流れる塩化ナトリウム（以下、NaClと

略）の量により輸入細動脈の血管抵抗調節を行い、糸球体濾過量を一定の値に維持しようとする機序であるが、この機序はヘンレ上行脚に存在する緻密班が管腔内のNaClの変化を感知することが重要な因子とされている。しかしながら緻密班と輸入細動脈とを連絡する介在因子について一酸化窒素（以下、NOと略）などの因子が想定されているが、いまだ一定の見解が得られていない。さらに、糖尿病などの高血糖状態がこれらの機序に与える影響の詳細な検討はなされていない。

以上の背景を鑑みて、本研究では急性ならびに慢性高血糖状態が腎輸入細動脈の圧収縮に与える影響を、その収縮機序である筋原性収縮ならびにTGFの二つの機序の観点から検討を加えた。さらに緻密班に密に分布する神経型一酸化窒素合成酵素（以下、nNOSと略）¹²⁾の影響を評価した。これらの作用を生体内で直接観察する目的で、生体内 charge-coupled device（以下、CCDと略）カメラ¹³⁻¹⁶⁾を用い、輸入細動脈の動態を、正常血糖ラットに急性高血糖状態を作成した状況下、ならびに慢性高血糖状態である Zucker 肥満ラットにおいて検討を行った。

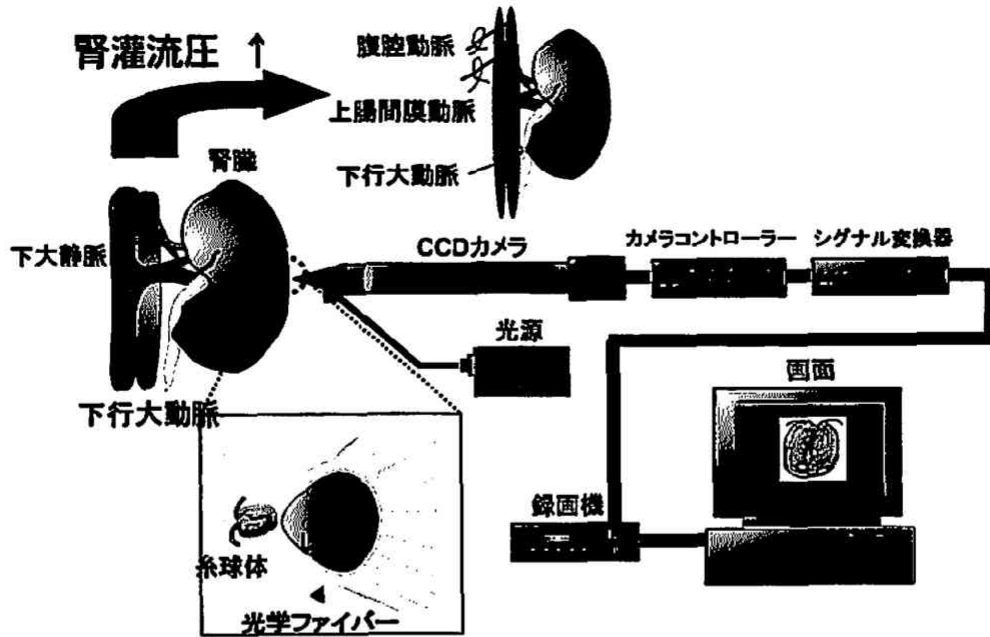
方 法

本研究では生体内ペンシルプローブ型 CCD カメラを用いて、生体内における腎輸入細動脈の血管特性を検討した（第1図）。雄性 Sprague-Dawley ラット（以下、SD ラットと略；Charles-River Japan）ならびに Zucker 肥満ラット（Charles-River Japan）を用いペントバルビタール麻酔、気管内挿管、右内頸動脈、両側大腿静脈にカテーテルを挿入した。十分な麻酔を確認後開腹し、腎皮質部に直接 CCD カメラプローブの先端を接触させることにより腎糸球体に隣接する輸入細動脈の直径を評価観察した^{15, 16)}。得られた画像はビデオカセットレコーダー（ソニー、EVO-9850）にて録画し、後日コンピューターにて輸入細動脈径の自動解析を行った。内頸動脈から弓部大動脈に挿入したカテーテルの先端の圧を圧トランスデューサー（日本光電、TP-4009）を用いて測定し、その圧を腎灌流圧と見なした。

実験プロトコール

1. 腎灌流圧上昇に伴う輸入細動脈の圧収縮反応の検討
9-11 週齢の SD ラット (n=10) を用い、以下の検討を行った。

1) 腎輸入細動脈の灌流圧上昇に対する変化
腹腔動脈、上腸間膜動脈の2箇所を同時にクランプす



第1図 実験システム模式図。Charge-coupled device (CCD) カメラのプロープ先端を腎皮質に挿入し腎微小循環の画像を評価する。得られた画像はアナログ・デジタル信号変換器を通してコンピュータに入力される。腹腔動脈、上腸間膜動脈、腎動脈より末梢レベルの下行大動脈をクランプすることにより腎灌流圧を上昇させる。

ること、ならびに腹腔動脈、上腸間膜動脈、腎動脈より末梢レベルの下行大動脈の3箇所を同時にクランプすることにより、腎灌流圧を段階的に上昇させた。腎灌流圧上昇前、上昇後2分後の時点で、輸入細動脈径を測定した。

2) 筋原性収縮ならびに TGF の直接的観察

収縮における筋原性収縮ならびに TGF の役割を検討する目的で、おのおのの抑制薬であるガドリニウムクロライド (Sigma Chemical, Co), およびフロセミド (Sigma Chemical, Co) を用いて評価した。すなわち、血圧に影響を与えない用量 (ガドリニウム 5, 10 mg/kg; フロセミド 10, 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) を静脈内に投与し、5分後に基礎輸入細動脈血管トーンに与える影響を検討したのち、腎灌流圧を上昇させ輸入細動脈の圧上昇に対する収縮反応を評価した。さらにガドリニウム 10 mg/kg, フロセミド 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 同時投与5分後に、腎灌流圧を上昇させ輸入細動脈径を測定した。

2. 急性高血糖状態における検討

9-11週齢の雄性SDラット (n=10) を用い、以下の検討を行った。

1) 急性高血糖に伴う腎輸入細動脈の収縮に与える影響

50%グルコースを2 ml/時の速度で40分間大腿静脈より持続投与することにより、急性高血糖の状態を作成した。血糖値上昇前後で輸入細動脈径を測定し、高血糖による影響を評価した。血糖値は尾静脈血より簡易血糖測定器 (三和科学研究所, グルテストエース) を用いて測定した。

次に、急性高血糖状態を作成後、腎灌流圧を上昇させ2分後に輸入細動脈径を測定した。さらに急性高血糖が筋原性収縮反応ならびに TGF に与える影響を個別に検討するため、急性高血糖状態下でおのおのフロセミド (16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) あるいはガドリニウム (10 mg/kg) を投与後、腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈反応を検討した。

2) 腎輸入細動脈収縮反応に対する浸透圧の影響

急性高血糖状態での腎灌流圧上昇における輸入細動脈の反応性の変化が血漿浸透圧の上昇と関連しているか否かを検討した。すなわち、20%マニトールを経静脈的に投与し浸透圧を上昇させた状態において、腎灌流圧の上昇に対する輸入細動脈の反応を評価した。血漿浸透圧

の測定にはマイクロ浸透圧計 (Advanced Instrument, Inc. model 3MO) を使用した。

3) 急性高血糖下における圧収縮反応に対する nNOS の役割

急性高血糖状態での圧収縮反応の変化に対する nNOS の関与を検討する目的で、nNOS の阻害薬である S-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC; Sigma Chemical) の持続投与下 (0.3 mg/時) で圧収縮反応の変化を検討した。さらに筋原性収縮反応、TGF における nNOS の関与を個別に検討するため、おのおのフロセミド (16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) あるいはガドリニウム (10 mg/kg) 投与下で L-SMTC (0.3 mg/時) を同時投与し、腎灌流圧上昇前後で輸入細動脈径を測定した。

3. 慢性高血糖状態における検討

慢性高血糖モデルラットである 13 週齢の雄性 Zucker 肥満ラットを用いて検討した。まず、腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈の反応を評価した後、ガドリニウム (10 mg/kg) あるいはフロセミド (16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) 投与下で同様の圧収縮反応を検討した。

次に、ガドリニウム (10 mg/kg) あるいはフロセミド (16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) に加え、L-SMTC (0.3 mg/時) を同時投与し、腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈収縮反応を評価した。

4. 統計解析

各結果は平均±標準誤差で表した。統計学的検討は、1 群あるいは 2 群分散分析法を用いて行い、有意差を認めた場合には Fisher's post hoc tests を用いて各項目間における有意差につき検討した。p<0.05 をもって有意差ありと考えた。

結 果

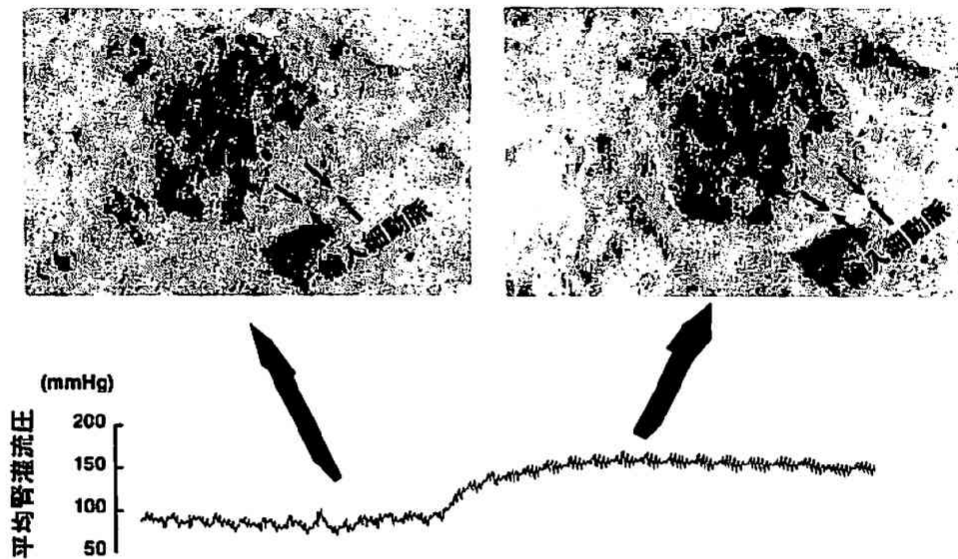
1. 輸入細動脈圧収縮反応における検討

1) 腎輸入細動脈の灌流圧上昇に対する変化

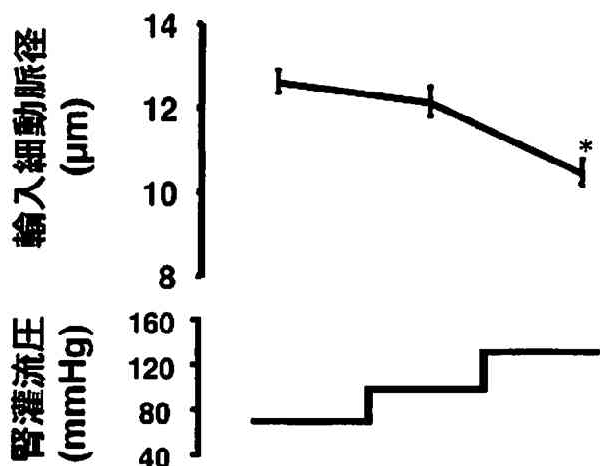
第2図に、SD ラットにおける腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈の反応の代表例を示す。腎灌流圧を 80 から 140 mmHg に上昇させると、輸入細動脈はただちに 12.8 から 10.2 μm へと血管径の減少を示した。合計 10 匹のラットにおける検討では、腎灌流圧を 70 ± 4 から 104 ± 6 mmHg へと上昇させることにより、輸入細動脈径は 12.6 ± 0.5 μm (n=10) から 12.0 ± 0.5 μm へと収縮傾向にとどまったが、さらなる灌流圧の上昇 (132 ± 4 mmHg) により 10.6 ± 0.4 μm (p<0.05 vs.灌流圧上昇前) へと、17.5 \pm 2.0%の収縮反応を示した (第3図)。

2) 筋原性収縮反応ならびに TGF の直接的観察

輸入細動脈基礎血管径はガドリニウム (5, 10 mg/kg)、フロセミド (10, 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) 投与後共に有意な変



第2図 Charge-coupled device カメラを用いた腎微小循環の観察。平均腎灌流圧 (下段) を変化させると腎輸入細動脈の収縮反応が観察される (上段)。



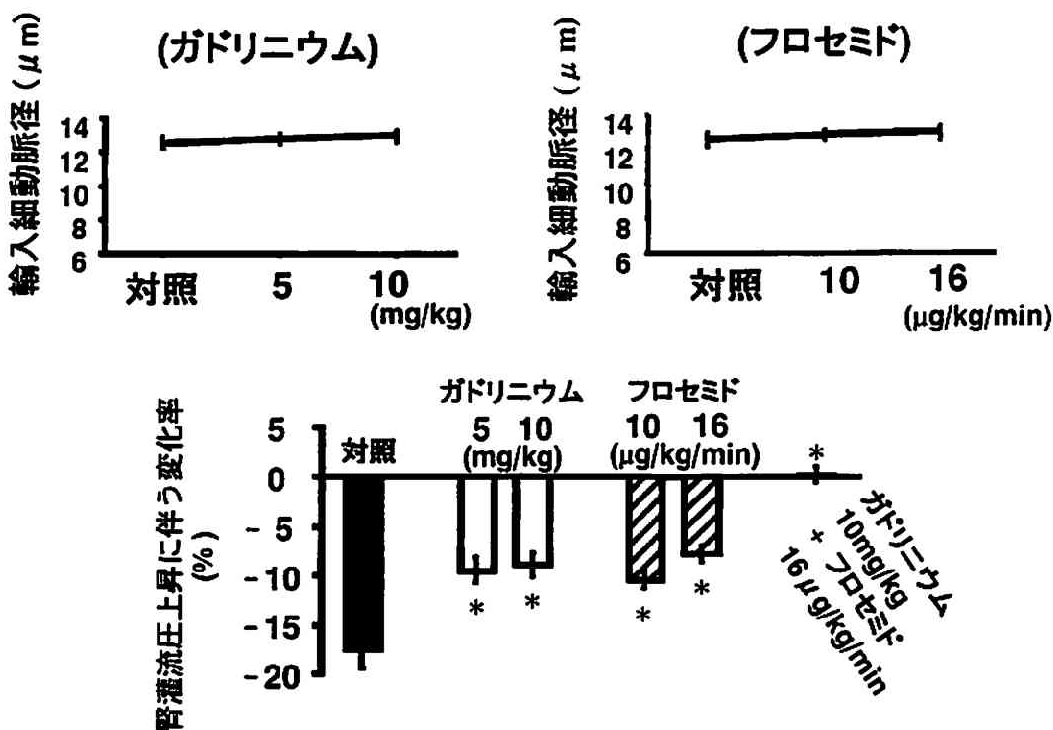
第3図 腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈の収縮反応。上図は輸入細動脈径の変化，下図は腎灌流圧の変化を示す。結果は平均±標準誤差で示す。*、 $p < 0.05$ vs. 腎灌流圧上昇前。

化を示さなかった(第4図, 上段)。その後腎灌流圧を上昇させると、ガドリニウム(5 mg/kg, $-9.0 \pm 1.2\%$; 10 mg/kg, $-9.5 \pm 1.2\%$)、フロセミド(10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, $-10.4 \pm 0.9\%$; 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, $-7.8 \pm 0.8\%$)ともに圧収縮反応の減弱をもたらした(第4図, 下段)。なお、ガドリニウム 10 mg/kg、フロセミド 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の同時投与により、圧収縮反応は完全に消失した。

2. 急性高血糖状態における検討

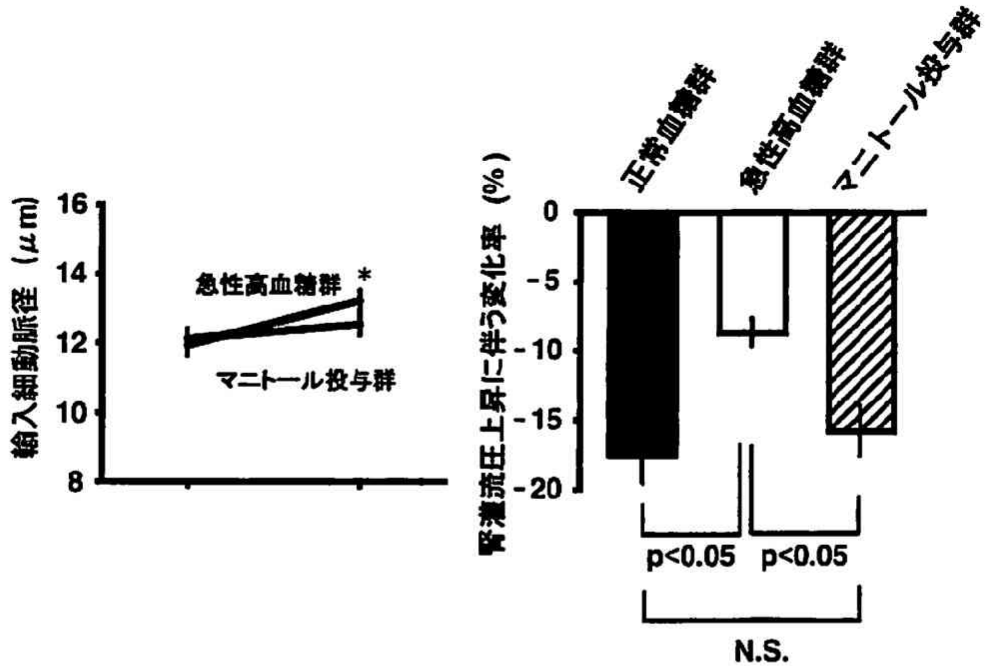
1) 急性高血糖に伴う腎輸入細動脈の圧収縮に与える影響

50%グルコースを大腿静脈より持続投与することにより血糖値は 98 ± 8 より $445 \pm 6 \text{mg}/\text{dl}$ に上昇し($p < 0.05$, $n = 10$)、血漿浸透圧も $283 \pm 5 \text{mOsm}/\text{kg}$ より $300 \pm 6 \text{mOsm}/\text{kg}$ に上昇した。これに伴い基礎輸入細動脈径はグルコース投与前 $11.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$ より、血糖上昇後 $13.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ と有意の拡張反応を示した($11.7 \pm 1.6\%$, $n = 10$, $p < 0.05$, 第5図左)。一方、20%マニトールの投与でも同程度の浸透圧の上昇が認められ



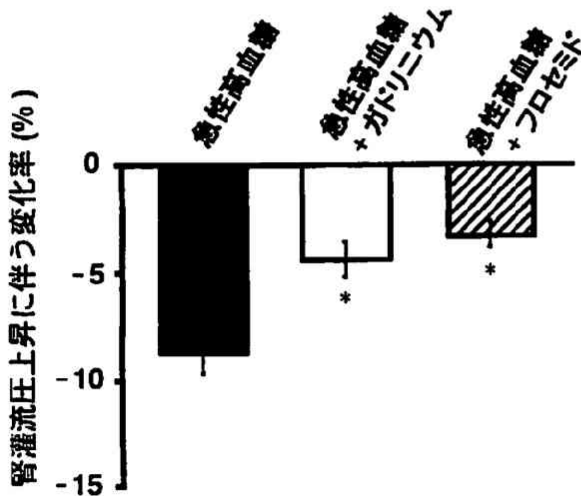
第4図 ガドリニウムならびフロセミドの輸入細動脈基礎血管径および圧収縮反応に与える影響。上段はガドリニウムならびにフロセミド投与時の輸入細動脈基礎血管径の変化を示す。下段はガドリニウムならびにフロセミドの圧収縮反応に与える抑制作用を基礎血管径からの変化率で示す。結果は平均±標準誤差で示す。

* ; $p < 0.05$ vs. 対照。



第5図 急性高血糖およびマニトールの基礎輸入細動脈径、圧収縮反応に与える影響。血糖値を 98 ± 8 より 445 ± 6 mg/dl へ上昇させると血漿浸透圧は 283 ± 5 から 300 ± 6 mOsm/kg に上昇した。その際、輸入細動脈は $8.7 \pm 1.0\%$ の収縮を示した。一方、マニトールにて同様の血漿浸透圧上昇 (281 ± 7 から 296 ± 2 Osm/kg) を誘発したが、細動脈収縮を抑制しなかった。結果は平均±標準誤差で示す。

* ; $p < 0.05$ vs 血糖上昇前。N.S.、有意差なし。



第6図 急性高血糖の筋原性収縮反応、尿細管系球体フィードバックに与える影響。急性高血糖時におけるガドリニウム、フロセミド投与後における輸入細動脈収縮反応の比較を基礎血管径からの変化率で示す。結果は平均±標準誤差で示す。

* ; $p < 0.05$ vs 急性高血糖。

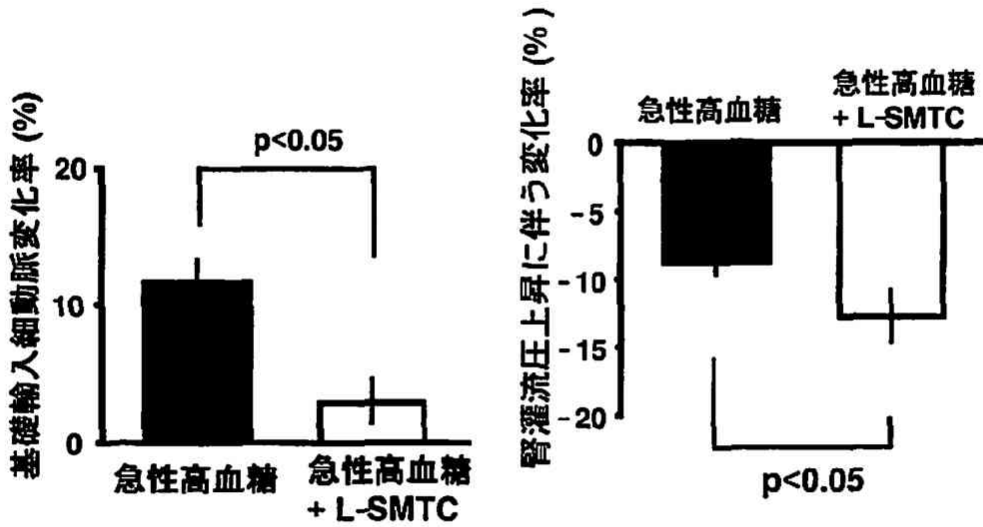
たが (281 ± 7 mOsm/kg から 296 ± 2 mOsm/kg)、輸入細動脈径は有意な変動を示さなかった。

血糖上昇後腎灌流圧を上昇させると、輸入細動脈は $-8.7 \pm 1.0\%$ の収縮にとどまり、正常血糖群の反応 ($-17.5 \pm 2.0\%$) に比し有意に減弱していた ($p < 0.05$, $n = 10$) (第5図右)。マニトールによる浸透圧上昇では、輸入細動脈の圧収縮は正常血糖群と有意差を認めなかった。

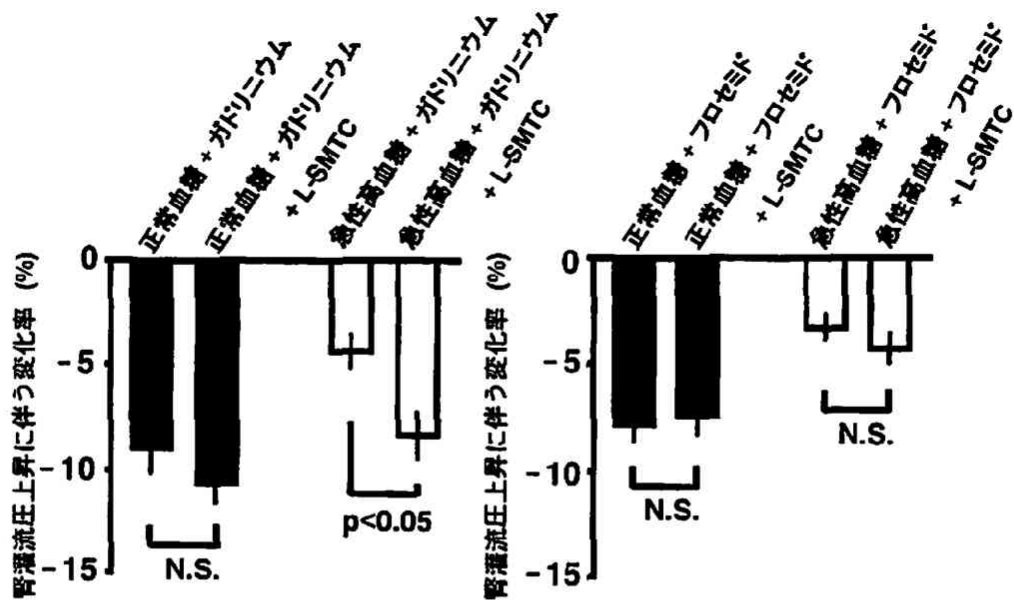
さらに、ガドリニウム (10 mg/kg) 存在下では、圧収縮反応は減弱した ($-4.4 \pm 0.8\%$, $p < 0.05$ vs. 急性高血糖群) (第6図)。同様の結果が、フロセミド (16 μg/kg/min) 存在下においても観察された ($-3.3 \pm 0.6\%$, $p < 0.05$ vs. 急性高血糖群)。

2) 急性高血糖状態における圧収縮反応に対する nNOS の関与

全身血圧は、nNOS の抑制薬である L-SMTC の投与により有意な変動を認めなかった。一方、急性高血糖に伴う輸入細動脈の血管径の増加 ($11.7 \pm 1.6\%$) は、L-SMTC により著明に抑制された ($2.9 \pm 1.7\%$, $p < 0.05$, $n = 10$) (第7図左)。さらに、高血糖により減弱した腎



第7図 急性高血糖の基礎輸入細動脈径、圧収縮反応の変化に対する神経型一酸化窒素合成酵素の関与。左図は急性高血糖による基礎輸入細動脈拡張に与える神経型一酸化窒素合成酵素の阻害薬である S-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC) の作用を示す。右図は急性高血糖による腎輸入細動脈圧収縮反応の抑制に与える L-SMTC の作用を示す。基礎血管径からの変化率を示す。結果は平均±標準誤差で示す。



第8図 尿細管糸球体フィードバック、筋原性収縮反応に対する神経型一酸化窒素合成酵素の影響の正常血糖、急性高血糖における比較。ガドリニウム存在下で灌流圧を上昇させることにより、尿細管糸球体フィードバック機構を介する輸入細動脈収縮を誘発した（左図）。神経型一酸化窒素合成酵素阻害薬である S-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC) は急性高血糖による圧収縮反応の減弱を改善した。一方、フロセミド存在下での圧収縮反応は主として筋原性収縮を示すが、急性高血糖による抑制は L-SMTC で回復しなかった。基礎血管径からの変化率で示す。結果は平均±標準誤差で示す。N.S., 有意差なし。

灌流圧の上昇に伴う輸入細動脈の圧収縮反応 ($-8.7 \pm 1.0\%$) は、L-SMTC により増強した ($-12.8 \pm 1.9\%$, $p < 0.05$, $n=10$) (第7図右)。

L-SMTC による圧収縮の回復作用が、筋原性収縮あるいは TGF のいずれかに作用しているかを検討するため、フロセミドあるいはガドリニウム存在下で評価を行った。まず、ガドリニウムを投与することにより TGF による圧収縮機序に対する影響を検討した。その結果、L-SMTC は正常血糖下では有意な影響を与えなかったが ($-9.0 \pm 1.2\%$ vs. $-10.6 \pm 1.0\%$, $p > 0.2$, $n=10$)、高血糖下では減弱した収縮反応を回復させた。 ($-4.4 \pm 0.8\%$ vs. $-8.4 \pm 1.1\%$, $p < 0.05$, $n=10$) (第8図左)。

次に筋原性収縮に対する L-SMTC の作用を評価するため、フロセミド存在下での反応を検討したが、正常血糖状態ならびに高血糖状態のいずれにおいても L-SMTC は輸入細動脈の変化率に有意な変動を与えなかった (第8図右)。

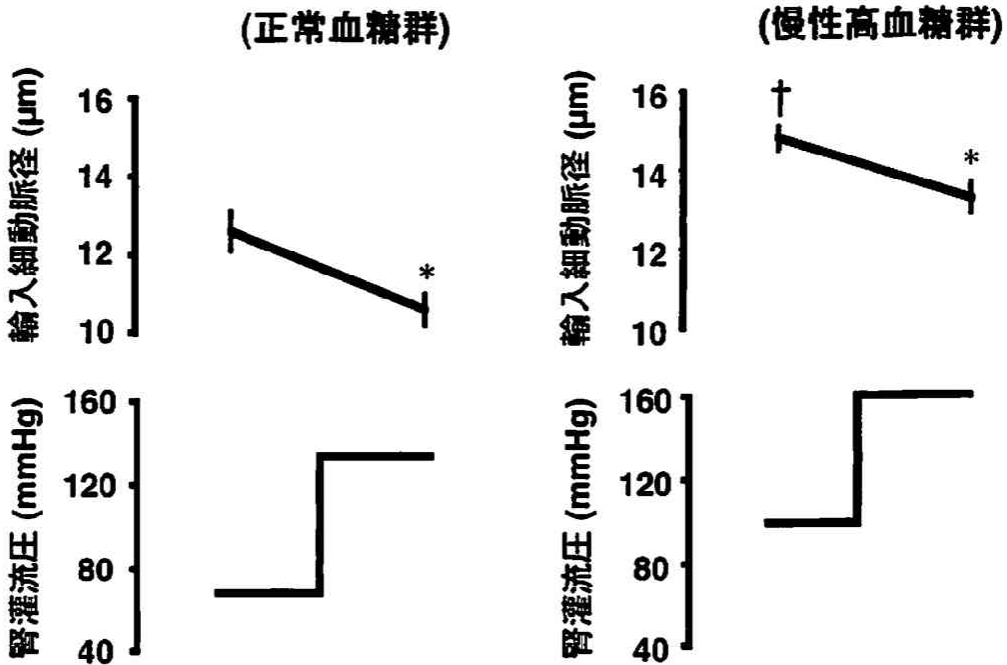
3. 慢性高血糖状態における検討

Zucker 肥満ラットの血糖値は、SD ラットに比し有

意に高値であった (161 ± 7 mg/dL, $n=10$ vs. 98 ± 8 mg/dL, $n=10$, $p < 0.01$)。基礎輸入細動脈径は $14.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ($n=10$, $p < 0.05$ vs. 正常血糖群) であり、SD ラットに比し有意に増大していた ($p < 0.01$) (第9図)。腎灌流圧上昇に伴い、Zucker 肥満ラットの輸入細動脈は有意に収縮したが (14.8 ± 0.3 より $13.3 \pm 0.4 \mu\text{m}$, $p < 0.05$, $n=10$)、SD ラットに比し収縮率は減弱していた (SD ラット, $-17.5 \pm 2.0\%$; 肥満ラット, $-10.6 \pm 1.1\%$, $p < 0.05$)。

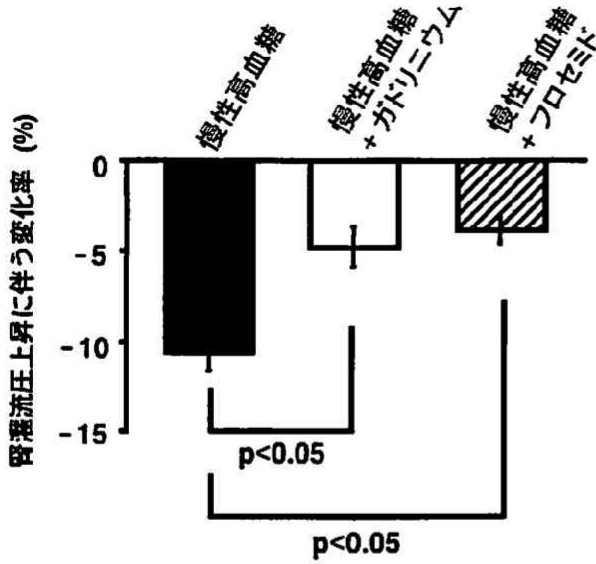
ガドリニウム (10 mg/kg) ならびにフロセミド ($16 \mu\text{g/kg/min}$) の投与は、基礎輸入細動脈径に影響を与えなかった。一方、ガドリニウム存在下での腎灌流圧上昇による細動脈収縮は減弱し ($-4.8 \pm 1.1\%$, $n=10$) (第10図)、その程度は正常血糖ラットのガドリニウム存在下での反応よりも低値であった ($-9.5 \pm 1.2\%$, $p < 0.05$)。同様にフロセミド存在下における圧収縮は抑制され ($-3.9 \pm 0.7\%$, $n=10$)、正常血糖ラットのフロセミド存在下の反応よりも低値であった ($-7.8 \pm 0.8\%$, $p < 0.05$)。

つぎに、ガドリニウムと L-SMTC を同時投与した後、



第9図 輸入細動脈圧収縮反応の正常血糖、慢性高血糖における比較。左図は正常血糖群、右図は慢性高血糖群における腎灌流圧上昇に対する輸入細動脈径の変化を示す。結果は平均±標準誤差で示す。

* : $p < 0.05$ vs. 腎灌流圧上昇前。 † : $p < 0.05$ vs. 正常血糖群腎灌流圧上昇前。

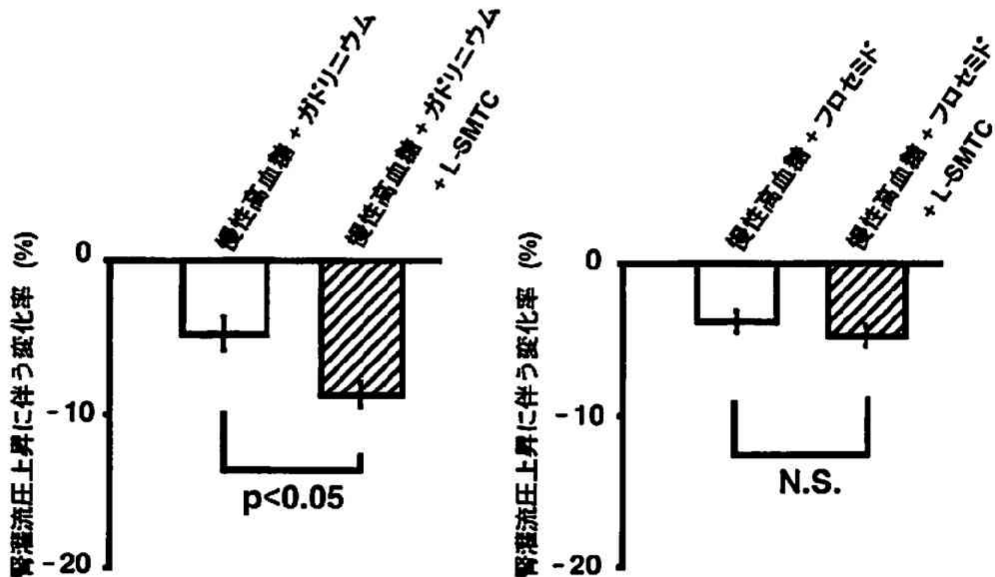


第 10 図 慢性高血糖における筋原性収縮反応ならびに尿細管糸球体フィードバックの変化。慢性高血糖状態における腎灌流圧上昇に対する筋原性収縮（フロセミド存在下）、尿細管糸球体フィードバックの反応（ガドリニウム存在下）を示す。基礎血管径からの変化率を示す。結果は平均±標準誤差で示す。

腎灌流圧を上昇させた際の輸入細動脈収縮率はガドリニウム単独投与群に比し有意に増強した（ガドリニウム単独投与群 $-4.8 \pm 1.1\%$ 、ガドリニウム、L-SMTC 同時投与群 $-8.7 \pm 0.8\%$ 、 $n=10$ ）（第 11 図左）。一方、フロセミドと L-SMTC 同時投与後腎灌流圧を上昇させると輸入細動脈の収縮率は L-SMTC 非存在下と比し有意差を認めなかった（フロセミド単独投与群 $-3.9 \pm 0.7\%$ 、フロセミド、L-SMTC 同時投与群 $-4.8 \pm 0.7\%$ 、 $n=10$ ）（第 11 図右）。

考 察

腎臓は灌流圧の変化にも関わらず、腎血流量を一定に保持する自動調節能を有している。この恒常性を維持する機構の大部分は、糸球体の前に存在する輸入細動脈の灌流圧に対する収縮が関与しており、その機序として血管壁に内在する筋原性収縮反応と尿細管からのシグナルを介する TGF の両者が協力しながら作動すると考えられている。しかしながら、両機序の作用を生体内で直接観察することは極めて困難であり、従来腎臓や^{17, 18)}血管を単離するなどの比較的侵襲的な手法^{19~21)}が用いられていた。本研究で用いた生体内 CCD カメラは、麻酔下



第 11 図 慢性高血糖状態における筋原性収縮、尿細管糸球体フィードバックに対する神経型一酸化窒素合成酵素の関与。図は慢性高血糖状態での尿細管糸球体フィードバックの反応および神経型一酸化窒素合成酵素の関与。右図は慢性高血糖状態での筋原性収縮反応の反応および神経型一酸化窒素合成酵素の関与を示す。L-SMTC, S-methyl-L-thiocitrulline。基礎血管径からの変化率を示す。結果は平均±標準誤差で示す。

で腎臓に挿入するのみで観察可能であり、比較的非侵襲的に反応を評価できる手技と考えられる^{15, 16)}。実際、Yamamotoら¹⁶⁾はイヌ腎動脈内に高張食塩水を注入することにより、輸入細動脈が収縮することを報告している。本研究では、腎灌流圧の上昇が輸入細動脈収縮をもたらすことを生体内で観察し得た(第2, 第3図)。さらに、おのおの筋原性収縮、TGF抑制薬であるガドリニウムならびにフロセミドを用いることにより、両機序がともに作動していることを明らかにした(第4図)。

興味深いことに、SDラットの基礎輸入細動脈径はガドリニウム、フロセミドともに有意な変化を与えなかった。この結果より、定常状態では筋原性収縮反応、TGFともに輸入細動脈緊張に大きな影響を与えていないことが推察された。一方、高血圧モデルラットのひとつである高血圧自然発症ラットでは、筋原性収縮反応、TGF共に亢進していることが報告されており²²⁻²⁴⁾、著者らも高血圧自然発症ラットでガドリニウム、フロセミド投与により輸入細動脈基礎血管径が拡張反応を示し、圧収縮反応も増強していることを報告した²⁵⁾。したがって、筋原性収縮反応ならびにTGFの反応性の亢進が、全身血圧高値にも関わらず糸球体高血圧を生じにくい一因と考えられる。

本研究では、腎臓の微小循環系で重要な役割を担っている輸入細動脈が急性高血糖状態で拡張し、さらに圧上昇に伴う細動脈収縮反応が障害されていることが明らかになった(第5図)。一方、高血糖に伴う浸透圧の変化自体が血管反応に影響を与えるか否かをマニトールにより同程度の浸透圧上昇を誘発することにより検討したが、血管拡張反応は認められなかった。さらに、灌流圧上昇に伴う収縮機序として筋原性収縮とTGFの二つの機序が関与しているが、高血糖状態では両者ともに障害を受ける事が示唆された(第4図、第6図)。

血管緊張の調節にNOが重要な役割を果たしていることが多くの研究により明らかにされている。本研究では急性高血糖による細動脈拡張の機序として、腎ヘンレ尿管に密に存在するnNOS由来のNOが関連するかを評価した。その結果、L-SMTCの前処置により、高血糖による輸入細動脈拡張反応が抑制され(第7図左)、さらに高血糖による圧収縮の減弱が回復した(第7図右)。これらの結果より、nNOS由来のNOが高血糖に伴う輸入細動脈異常に関与することが明らかとなった。つぎに、nNOS由来のNOが急性高血糖による輸入細動脈の圧収縮異常をもたらす機序として、筋原性収縮あるいはTGFのいずれの機序に作用しているかを、ガドリニウムならびにフロセミドを用いて検討した。すなわち、

ガドリニウムにより筋原性収縮を抑制した状況ではTGFによる輸入細動脈が、逆にフロセミドによりTGFを抑制した状況では筋原性収縮が圧収縮を誘発させると考えられるが、急性高血糖による圧収縮抑制作用に対するL-SMTCの作用が、ガドリニウム存在下で回復した(第8図)。一方、フロセミドの存在下では、L-SMTCの回復作用は認めなかった(第9図)。これらの結果より、急性高血糖による輸入細動脈の圧収縮障害は、nNOS由来のNOが主としてTGF機序を抑制することにより生じるものと考えられた。この点に関して、Arimaらは高血糖により内皮由来NOはむしろ減少し、輸入細動脈が収縮反応を示すことをウサギ腎から取り出した単離輸入細動脈を用いて示した²⁶⁾。これらの結果の差異は明らかでないが、実験系の相違などが考えられる。すなわち、本研究では高血糖誘発とともに比較的早期に輸入細動脈の拡張反応が見られたのに対し、Arimaらの検討では時間単位での経過を要した。さらに、本研究で用いた生体内CCDカメラは筋原性収縮ならびにTGFの両者の収縮機序が作動するが、単離輸入細動脈モデルではTGFの関与がなく主として血管壁に内在する反応と考えられた。

本研究は、さらに慢性高血糖モデルであるZucker肥満ラットにおける輸入細動脈の圧収縮の検討を行い、糖尿病における腎微小循環異常を評価した。その結果、急性高血糖における結果と同様に慢性高血糖を示すZucker肥満ラットの腎細動脈においても基礎血管緊張の減弱が見られ、腎灌流圧上昇に対する圧収縮反応も低下していた(第10図)。古くより糖尿病状態では腎血流量が増加しており、糸球体濾過率も増大することが示されている。その機序として、輸入細動脈の比較的選択的な拡張が腎血行動態の異常に関与することが単離輸入細動脈²⁷⁾や単離水腎症モデル⁶⁾などの*in vitro*の実験系で示されており、その結果糸球体高血圧をきたし、糸球体硬化へと導くことが推察されている。本研究は急性高血糖と同様、慢性高血糖においても、糸球体血行動態の異常が輸入細動脈を中心とした細動脈抵抗調節障害に由来することを生体内で明らかにした。

さらに本研究では、慢性高血糖による圧収縮反応の減弱を、筋原性収縮とTGFによる収縮に分けて評価した。その結果、慢性高血糖状態では両機序とも障害されていることが明らかとなった(第10図)。慢性高血糖における筋原性収縮の異常に関連して、Hayashiら⁶⁾はTGFによる反応が欠落した単離水腎症モデルを用いて、Zucker肥満ラットの輸入細動脈における圧収縮反応が減弱しており、本研究結果と合致する結果であった。さ

らに、streptozotocin 誘発糖尿病ラットにおいても、輸入細動脈の収縮反応が障害されており、その機序として血管拡張性のプロスタグランジンが関与することが報告されている²⁸⁾。一方、Carmines ら²⁹⁾は streptozotocin 誘発糖尿病ラットの輸入細動脈では、電位依存性カルシウムチャネルのアゴニストである BAYK8644 による輸入細動脈収縮が減弱していることを報告しており、輸入細動脈の筋原性収縮反応が電位依存性カルシウムチャネルを刺激して血管収縮をもたらすことを考え合わせると、糖尿病におけるカルシウムチャネルの異常が慢性高血糖による収縮障害の成因に一部関与することが示唆される。さらに、Ikenaga ら³⁰⁾は糖尿病ラットから取り出した単離傍髄質ネフロンにおいて、ATP 感受性カリウムチャネルの刺激薬である pinacidil もしくは PCO-400 による輸入細動脈の拡張が正常血糖ラットに比し増強しており、逆に ATP 感受性カリウムチャネル抑制薬である glibenclamide が輸入細動脈の収縮を起こすが正常血糖ラットでは有意な変化をもたらさないことを報告している。したがって、慢性高血糖状態では ATP 感受性カリウムチャネルの活性化に伴う輸入細動脈の膜電位の過分極が電位依存性カルシウムチャネルの抑制の一因として推測される。

本研究では、慢性高血糖状態では TGF の抑制も輸入細動脈の収縮反応の障害に関与することを明らかにした (第 10 図)。糖尿病では近位尿管におけるナトリウム再吸収が亢進していることがヒト³¹⁾ならびに動物³²⁾で報告されており、 Na^+ /glucose co-transport の増加と関連する可能性が示唆されている³³⁾。その結果、緻密斑に達する NaCl が減少し TGF が減弱することが推測される。一方、本研究では上記の機序以外に TGF の作用を調節する因子³⁴⁾である NO の役割について検討を行った。その結果、nNOS 抑制薬である L-SMTC により慢性高血糖に伴う TGF の抑制が解除された (第 11 図左)。したがって、慢性高血糖では緻密斑で過剰産生される NO が TGF の機構に抑制的に作用していることが示唆された。近年、緻密斑には nNOS が豊富に存在し TGF を介する輸入細動脈の収縮に対し抑制的に働く事が報告されており³⁵⁾、糖尿病では nNOS 由来の NO 活性が亢進し糸球体濾過量を増加させているとの報告がされている³⁶⁾。本研究では、nNOS による NO 活性亢進の結果 TGF を選択的に抑制することが示された。一方、筋原性収縮に対しては NO の作用は認められず (第 11 図右)、筋原性収縮が NO ならびにサイクリック GMP を介する拡張作用に抵抗性を示すと従来の結果と合致した^{37, 38)}。以上の結果より、慢性高血糖による輸入細動脈の抵抗調

節異常ならびにその病態機序が、急性高血糖に伴う変化とおおむね一致しており、糖尿病に伴う高血糖自体がその一因と考えられた。

慢性高血糖では、血糖値の変化以外にも種々のホルモンやサイトカインなどの変化をきたすことが知られている。心房性ナトリウム利尿ペプチド (以下、ANP と略) は糖尿病動物³⁹⁾ならびにヒト⁴⁰⁾において上昇することが知られており、輸入細動脈を拡張させ輸出細動脈を収縮させる⁴¹⁾ことにより、糸球体濾過率を増加させることが推測される。実際、Zhang ら⁴²⁾は ANP 受容体に特異的な拮抗薬を投与することにより、糖尿病ラットの糸球体過剰濾過を改善することを報告し、糖尿病における輸入細動脈の拡張作用に ANP が寄与している可能性を示した。さらに、ANP は TGF を抑制することが報告されている^{43, 44)}反面、筋原性収縮を抑制しないことも示されている⁴⁵⁾。したがって、ANP が糖尿病における腎微小循環異常のすべてを説明できないが、少なくとも一部に関与している可能性が考えられる。また、糖尿病ラットでは TGF- β 産生が亢進し⁴⁶⁾、さらに糸球体高血圧によりメサンギウム細胞が過伸展刺激を受けることよって TGF- β 産生が亢進する事が報告されている³⁾。加えて、Sharma ら⁴⁷⁾の傍髄質ネフロンを用いた研究では、灌流液に TGF- β を加えることにより輸入細動脈の収縮反応を抑制することを報告している。したがって、本研究で確認された高血糖による輸入細動脈自動調節能の障害の原因の一部に TGF- β の作用が関与している可能性も考えられた。

高血糖に代表される糖尿病の腎微小循環異常は、全身高血圧を認めない状況においても糸球体高血圧が存在することが示されており、糸球体内圧の程度と全身血圧とは必ずしも相関しないことが報告されている⁴⁸⁾。本研究での慢性高血糖のみならず急性高血糖状態において既に輸入細動脈の収縮反応は障害されていることを考慮すると、より早期からの適切な血糖コントロール、厳格な血圧の管理が糸球体高血圧、糸球体硬化を伴う糖尿病性腎症進展の阻止に極めて重要なことが示唆される。しかしながら、糸球体内圧を決定するもう一つの抵抗血管である輸出細動脈の検討は十分ではない。輸出細動脈には筋原性収縮反応が存在しないことが示されているが⁴⁹⁾、TGF に関しては一定の見解が得られていない⁵⁰⁾。したがって、急性高血糖、慢性高血糖状態における輸出細動脈の反応については今後の検討が必要である。

総 括

生体内 CCD カメラを用いてラット腎輸入細動脈を直接観察し、急性ならびに慢性高血糖状態における腎輸入細動脈の圧収縮反応を、筋原性収縮反応ならびに尿細管糸球体フィードバック機構 (TGF) の二つの面から検討し、以下の結果を得た。

1. 急性高血糖状態では、輸入細動脈の拡張反応が認められ、この反応は nNOS 抑制により消失した。
2. 急性高血糖状態では、腎灌流圧上昇に対する腎輸入細動脈の圧収縮反応は有意に減弱していた。この変化は浸透圧非依存性であり、nNOS の抑制により一部回復した。
3. 急性高血糖状態において、筋原性収縮反応、TGF の作用が共に減弱していた。nNOS の抑制薬は筋原性収縮反応の減弱には影響を与えなかったが、TGF の減弱反応を改善した。
4. 慢性高血糖状態においても、筋原性収縮反応、TGF による収縮反応が共に減弱していた。
5. 慢性高血糖状態における TGF の減弱には、一部 nNOS による NO の産生亢進が関与することが示唆された。

以上の結果より、急性高血糖状態においても、慢性高血糖状態においても腎微小循環異常が認められ、その機序として輸入細動脈における筋原性収縮反応の低下ならびに緻密斑 nNOS 由来の NO の過剰産生による TGF の抑制が関与することが示唆された。これらの異常が糸球体高血圧を誘発することになり、長期的には糸球体障害の一因あるいは増悪因子となりうる事が考えられた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、懇切な御指導と御校閲を賜りました。慶應義塾大学医学部内科学教室埴田享男教授に深謝いたします。また、本研究に際して直接御指導いただきました。慶應義塾大学医学部内科林晃一講師に心より感謝いたします。さらに御協力いただいた研究室員各位に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 飯野 靖彦：腎疾患の予後とプライマリケアの意義。日本内科学会雑誌, 90 ; 1220-1223, 2001
- 2) 日本透析医学会統計調査委員会：わが国の慢性透析療法の実況。(2002年12月31日現在) 透析医学会雑誌, 37 ; 1-24, 2004
- 3) Sharma K, Danoff TM, DePiero A, Ziyadeh FN : Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase in murine macrophages and glomerular mesangial cells by elevated glucose levels : possible median via protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun* 207 ; 80-88, 1995
- 4) Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS : Oxidative stress and nitric oxide synthase in the rat diabetic nephropathy : effect of ACEI or ARB. *Kidney Int* 61 ; 186-194, 2002
- 5) Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M : Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest* 108 ; 1341-1348, 2001
- 6) Hayashi K, Kanda T, Homma K, Tokuyama H, Okubo K, Takamatsu I, Tatematsu S, Kumagai H, Saruta T : Altered renal microvascular response in Zucker obese rats. *Metabolism* 51 ; 1553-1561, 2002
- 7) Osterby R, Hartmann A, Bangstad HJ : Structural changes in renal arterioles in Type I diabetic patients. *Diabetologia* 45 ; 542-549, 2002
- 8) Maddox DA, Bennett CM, Deen WM, Glasscock RJ, Knutson D, Daugharty TM, Brenner BM : Determinants of glomerular filtration in experimental glomerulonephritis in the rat. *J Clin Invest* 55 ; 305-318, 1975
- 9) Riser BL, Cortes P, Heilig C, Ladson-Wofford S, Patterson D, Narins RG : Cyclic stretching force selectively up-regulates transforming growth factor-beta isoforms in cultured rat mesangial cells. *Am J Pathol* 148 ; 1915-1923, 1996
- 10) Chavers BM, Bilous RW, Ellis EN, Steffes MW, Mauer SM : Glomerular lesions and urinary albumin excretion in type I diabetes without overt proteinuria. *N Engl J Med* 320 ; 966-970, 1989
- 11) Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DE, Brown DM, Goetz FC : Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 74 ; 1143-1155, 1984
- 12) Wilcox CS, Welch WJ, Murad F, Gross SS, Taylor G, Levi R, Schmidt MHHW : Nitric oxide synthase in macula densa regulates glomerular capillary pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 ; 11993-11997, 1992
- 13) Hiramatsu O, Goto M, Yada T, Kirnura A, Tachibana H, Ogasawara Y, Tsujioka K, Kajiyama F : Diameter of subendocardial arterioles and venules during prolonged diastole in canine left ventricles. *Circ Res* 5 ;

- 393-397, 1994
- 14) Yada T, Hiramatsu O, Kimura A, Goto M, Ogasawara Y, Tsujioka K, Yamamori S, Ohno K, Hosaka H, Kajiya F : In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe videomicroscope with a CCD camera. *Circ Res* 72 ; 939-946, 1993
 - 15) Yamamoto T, Tomura Y, Tanaka H, Kajiya F : In vivo visualization of characteristics of renal microcirculation in hypertensive and diabetic rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 281 ; F571-577, 2001
 - 16) Yamamoto T, Hayashi K, Matsuda H, Kubota E, Tanaka H, Ogasawara Y, Nakamoto H, Suzuki H, Saruta T, Kajiya F : In vivo visualization of angiotensin II-and tubuloglomerular feedback-mediated renal vasoconstriction. *Kidney Int* 60 ; 364-369, 2001
 - 17) Steinhausen M, Kucherer H, Parekh N, Weis S, Wiegman DL, Wilhelm KR : AngiotensinII control of the renal microcirculation : Effect of blockade by saralasin. *Kidney Int* 30 ; 56-61, 1986
 - 18) Loutzenhiser R, Epstein M, Hayashi K, Takenaka T, Forster H : Characterization of the renal microvascular effects of angiotensinII antagonist, DuP 753 : Studies in isolated perfused hydronephrotic kidneys. *Am J Hypertens* 4 ; 309S-314S, 1991
 - 19) Edwards RM : Segmental effects of norepinephrine and angiotensinII on isolated renal microvessels. *Am J Physiol* 244 ; F526-F534, 1983
 - 20) Yuan BH, Robinette JB, Conger JD : Effect of angiotensinII and norepinephrine on isolated rat afferent and efferent arterioles. *Am J Physiol* 258 ; F741-F750, 1990
 - 21) Ito S, Johnson CS, Carretero OA : Modulation of angiotensinII-induced vasoconstriction by endothelium-derived relaxing factor in the isolated microperfused rabbit afferent arteriole. *J Clin Invest* 87 ; 1656-1663, 1991
 - 22) Ito S and Juncos LA, Carretero OA : Pressure-induced constriction of the afferent arteriole of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 11 ; 11164-11167, 1992
 - 23) Brannstrom K, Morsing P, Arendshorst BM : Exaggerated tubuloglomerular feedback activity in genetic hypertension is mediated by ANGII and AT1 receptors. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 270 ; F749-F755, 1996
 - 24) Welch WJ, Tojo A, Lee JU, Kang DG, Schnackenberg CG, Wilcox CS : Nitric oxide synthase in the JGA of the SHR : expression and role in tubuloglomerular feedback. *Am J Physiol* 277 ; F130-F138, 1999
 - 25) Homma K, Hayashi K, Kanda T, Matsuda H, Wakino S, Okubo K, Takamatsu I, Tatematsu S, Saruta T : In vivo observation of myogenic and tubuloglomerular feedback mechanism in renal microcirculation by CCD video microscopy (Abstract) . *J Am Soc Nephrol* 13 ; 154A, 2002
 - 26) Arima S, Ito S, Omata K, Takeuchi K, Abe K : High glucose augments angiotensinII action by inhibiting NO synthesis in *in vivo* microperfused rabbit afferent arterioles. *Kidney Int* 48 ; 683-689, 1995
 - 27) Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM : Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77 ; 1925-1930, 1986
 - 28) Hayashi K, Epstein M, Loutzenhiser R, Forster H : Impaired myogenic responsiveness of the afferent arteriole in streptozotocin-induced diabetic rats : role of eicosanoid derangements. *J Am Soc Nephrol* 2 ; 1578-1586, 1992
 - 29) Carmines PK, Ohnishi K, Ikenaga H : Functional impairment of renal afferent arteriolar voltage-gated calcium channels in rat with diabetes mellitus. *J Clin Invest* 98 ; 2564-2571, 1996
 - 30) Ikenaga H, Bast JP, Fallet RW, Carmines PK : Exaggerated impact of ATP-sensitive K channels on afferent arteriolar diameter in diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 11 ; 1199-1207, 2000
 - 31) Hannedouche TP, Delgado AG, Gniosahe DA, Boitard C, Grufeld JP : Renal hemodynamics and segmental tubular sodium reabsorption in early type 1 diabetes. *Kidney Int* 37 ; 1126-1133, 1990
 - 32) Vallon V, Blantz RC, Thomason SC : Homeostatic efficiency of tubuloglomerular feedback is reduced in established diabetes mellitus in rats. *Am J Physiol* 269 ; F876-F883, 1995
 - 33) Bank N, Aynedjian HS : Progressive increases in luminal glucose stimulate proximal sodium absorption in normal and diabetic rat. *J Clin Invest* 86 ; 309-316, 1990
 - 34) Ren YL, Gravin JL, Carretero OA : Role of macula densa nitric oxide and cGMP in the regulation of tubuloglomerular feedback. *Kidney Int* 58 ; 2053-2060, 2000
 - 35) Ren YL, Gravin JL, Ito S, Carretero OA : Role of neuronal nitric oxide synthase in the macula densa. *Kidney Int* 60 ; 1676-1683, 2001
 - 36) Komers R, Lindsley JN, Oyama TT, Allison KM, Anderson S : Role of neuronal nitric oxide synthase (NOS1) in the pathogenesis of renal hemodynamic changes in diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* 279 ; F573-F583, 2000
 - 37) Hayashi K, Suzuki H, Saruta T : Nitric oxide modulates but dose not impair myogenic vasoconstriction of the afferent arteriole in spontaneously hypertensive rats : Studies in the isolated perfusion hydronephrotic kidney. *Hypertension* 25 ; 1212-1219, 1995
 - 38) Hoffend J, Caverape A, Endlich K, Steinhausen M : Influence of endothelium-derived relaxing factor on renal microvessels and pressure-dependent vasodila-

- tion. *Am J Physiol* 265 ; F285-F292, 1993
- 39) Ortola FV, Ballerman BJ, Anderson S, Mendez RE, Brenner BM : Elevated plasma atrial natriuretic peptide levels in diabetic rats. *J Clin Invest* 80 ; 670-674, 1987
- 40) Laragh JH, Atlas SA : Atrial natriuretic hormone : a regular of blood pressure and volume homeostasis. *Kidney Int* 34 ; S64-S71, 1988
- 41) Martin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M : Atrial natriuretic peptide causes preglomerular vasodilation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 324 ; 473-476, 1986
- 42) Zhang PL, Mackenzie HS, Troy JL, Brenner BM : Effect of an atrial natriuretic peptide receptor antagonist on glomerular hyperfiltration in diabetic rat. *J Am Soc Nephrol* 4 ; 1564-1570, 1994
- 43) Huang CL, Cogan MG : Atrial natriuretic factor inhibits maximal tubuloglomerular feedback. *Am J Physiol* 252 ; F825-828, 1987
- 44) Margulies KB, Burnett JC Jr : Atrial natriuretic factor modulates whole kidney tubuloglomerular feedback. *Am J Physiol* 259 ; R97-R101, 1990
- 45) Wang X, Salevsky FC, Cupples WA : Nitric oxide, atrial natriuretic factor, and dynamic renal autoregulation. *Can J Pharmacol* 77 ; 777-786, 1999
- 46) Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslahti E, Border WA : Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90 ; 1814-1818, 1993
- 47) Sharma K, Cook AK, Inscho EW : TGF- β inhibits pressure-induced afferent arteriolar autoregulatory behavior (Abstract) . *J Am Soc Nephrol* 13 ; 20A, 2002
- 48) Imanishi M, Yoshioka K, Konishi Y, Okumura M, Okada N, Sato T, Tanaka S, Fujii S, Kimura G : Glomerular hypertension as one cause of albuminuria in type II diabetic patient. *Diabetologia* 42 ; 999-1005, 1999
- 49) Steinhausen M, Blum M, Fleming JT, Holz FG, Parekh N, Wiegman DL : Visualization of renal autoregulation in the split hydronephrotic kidney of rats *Kidney Int* 35 ; 1151-1160, 1989
- 50) Ren Y, Garvin JL, Carretero OA : Efferent arteriole tubuloglomerular feedback in the renal nephron. *Kidney Int* 59 ; 222-229, 2001