

糖尿病における腎糸球体TGF- $\beta$ 発現増強機構の解明

研究課題番号 09470218

平成9年度～平成11年度科学研究費補助金  
基盤研究(B)(2)

平成12年3月

研究代表者 吉川隆一  
(滋賀医科大学医学部教授)

滋賀医科大学附属図書館



1999018536

研究組織

研究代表者：吉川隆一  
研究分担者：羽田勝計  
研究分担者：古家大祐  
研究分担者：前田士郎

研究経費

平成 9年度	6、900千円
平成10年度	3、600千円
平成11年度	2、800千円
計	13、500千円

協同研究者

戸川雅樹、杉本俊郎、荒木信一、磯野元秀、石田猛、猪木健、一色啓二、

滋賀医科大学附属図書館



1999018536

## 研究発表

### 英文原著

- (1) Ishida T, Haneda M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R. Stretch-induced overproduction of fibronectin in mesangial cells is mediated by the activation of mitogen-activated protein kinase. *Diabetes* 48:595-602,1999
- (2) Inoki K, Haneda M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R. TGF- $\beta$  1 stimulates glucose uptake by enhancing GLUT1 expression in mesangial cells. *Kidney Int.* 55;1704-1712, 1999
- (3) Koya D, Haneda M, Nakagawa H, Isshiki K, Sato H, Maeda S, Sugimoto T, Yasuda H, Kashiwagi A, Ways DK, King GL, Kikkawa R. Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC  $\beta$  inhibitor in diabetic dB/dB mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASIB J*, 14:439-447, 2000
- (4) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Sugimoto T, Kikkawa R. Troglitazone ameliorates glomerular dysfunction independent of its insulin sensitizing action in diabetic rats. *Diabetes*, in press

### 学会発表

- (1) Haneda M, Araki S, Togawa M, Kikkawa R  
Activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade in diabetic glomeruli.  
American society of nephrology 29th annual meeting, November 3-6,1996
- (1) 羽田 勝計、戸川雅樹、古家大祐、George L King、吉川隆一  
糸球体およびメサンギウム細胞異常  
第39回日本糖尿病学会年次学術集会、1996年5月15日～17日
- (2) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一、George L King  
糸球体代謝異常と糖尿病性腎症ープロテインキナーゼC (PKC) 活性化の重要性  
第40回日本糖尿病学会年次学術集会、1997年5月22日～24日
- (3) 磯野元秀、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、荒木信一、仲川孝彦、石田猛、猪木健一、色啓二、吉川隆一  
糖尿病ラット腎糸球体におけるMAPK活性化に対するPKC阻害剤の効果  
第40回日本糖尿病学会年次学術集会、1997年5月22日～24日
- (4) 石田猛、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、磯野元秀、吉川隆一  
高糖濃度条件下培養ラットメサンギウム細胞における周期的伸展刺激の細胞外基質産生に及ぼす影響  
第40回日本糖尿病学会年次学術集会、1997年5月22日～24日
- (5) 古家大祐、羽田勝計、George L King、吉川隆一  
糖尿病ラット腎障害に対する $\alpha$ -d-トコフェロール (ビタミンE) の有用性とその作用機序  
第40回日本糖尿病学会年次学術集会、1997年5月22日～24日

- (6) 古家大祐、羽田勝計、George L King、吉川隆一  
糖尿病ラット腎糸球体のTGF- $\beta$ ・細胞外基質産生亢進に対する選択的PKC $\beta$ 拮抗剤の有用性  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (7) 猪木健、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、吉川隆一  
培養ラットメサンギウム細胞におけるTGF- $\beta$ 1の糖取り込み促進作用  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (8) 石田猛、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、荒木信一、磯野元秀、吉川隆一  
培養メサンギウム細胞における周期的伸展刺激のMAPK cascadeに及ぼす影響  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (9) Ishida T, Haneda M, Isono M, Koya D, Maeda S, Araki S, Kikkawa R  
Pivotal role of mitogen-activated protein kinases in stretch-induced fibronectin synthesis in mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (10) Inoki K, Haneda M, Koya D, Togawa M, Maeda S, Kikkawa R  
TGF- $\beta$ 1 stimulates glucose uptake by enhancing the expression of GLUT1 in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (11) Ishida T, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Synergic effect of high glucose and mechanical stretch on extracellular matrix protein production in mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (12) Isono M, Haneda M, Araki S, Koya D, Ishida T, Kikkawa R  
Protein kinase C-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in vivo in diabetic glomeruli.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (13) 石田猛、羽田勝計、磯野元秀、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
周期的伸展刺激下培養メサンギウム細胞のフィブロネクチン産生増加機構  
第41回日本糖尿病学会年次学術集会、1998年5月20日～22日
- (14) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、磯野元秀、石田猛、猪木健、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット糸球体・高糖濃度培養メサンギウム細胞のPKC・MAPK活性化に対するTroglitazoneの効果  
第41回日本糖尿病学会年次学術集会、1998年5月20日～22日
- (15) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一、George L. King  
糖尿病性腎硬化症の発症におけるPKC $\beta$ 活性の重要性  
第95回日本内科学会講演会、1998年4月9日～11日
- (16) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一  
高血糖によるメサンギウム細胞PKC活性の増強に対するビタミンEの抑性機構

第41回日本腎臓学会学術総会、1998年5月11日～12日

- (17) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、磯野元秀、石田猛、猪木健、前田士郎、吉川隆一  
Troglitazoneは高糖濃度条件下培養メサンギウム細胞のPKC、MAPK活性化を抑制する。  
第41回日本腎臓学会学術総会、1998年5月11日～12日
- (18) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Troglitazone prevents the activation of protein kinase C (PKC) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) in diabetic glomeruli and mesangial cells cultured in high glucose media.  
American diabetes association 58th annual scientific sessions, June 13-16, 1998
- (19) Inoki K, Haneda M, Ishida T, Isono M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R  
Requirement of ERK activation for TGF- $\beta$  1-stimulated expression of fibronectin and PAI-1 in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (20) Ishida T, Haneda M, Inoki K, Maeda S, Koya D, Kikkawa R  
Characterization of the activation of extracellular signal-regulated kinase by high glucose and mechanical stretch in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (21) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Troglitazone prevents the increase in mRNA expression of TGF- $\beta$  and extracellular matrix proteins by inhibiting the activation of protein kinase C and mitogen-activated protein kinase in diabetic glomeruli.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (22) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一  
糖尿病血管合併症の発症・進展におけるPKC活性の異常とその制御  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (23) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット腎糸球体のTGF- $\beta$ ・細胞外マトリックス蛋白mRNA発現に対するtroglitazoneの効果とその作用機構  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (24) 石田猛、羽田勝計、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
ERK活性化機構におけるブドウ糖過剰状態および機械的伸展刺激の相互作用  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (25) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、杉本俊郎、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット腎障害に対するtroglitazoneの効果とその作用機構  
第42回日本腎臓学会学術総会、1999年6月26日～28日
- (26) 猪木健、羽田勝計、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
ラットメサンギウム細胞において、TGF- $\beta$ 1によるPAI-1遺伝子の発現にERKの活性化が必要である。  
第42回日本腎臓学会学術総会、1999年6月26日～28日

- (6) 古家大祐、羽田勝計、George L King、吉川隆一  
糖尿病ラット腎糸球体のTGF- $\beta$ ・細胞外基質産生亢進に対する選択的PKC $\beta$ 拮抗剤の有用性  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (7) 猪木健、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、吉川隆一  
培養ラットメサンギウム細胞におけるTGF- $\beta$ 1の糖取り込み促進作用  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (8) 石田猛、羽田勝計、戸川雅樹、前田士郎、荒木信一、磯野元秀、吉川隆一  
培養メサンギウム細胞における周期的伸展刺激のMAPK cascadeに及ぼす影響  
第40回日本腎臓学会学術総会、1997年5月14日～16日
- (9) Ishida T, Haneda M, Isono M, Koya D, Maeda S, Araki S, Kikkawa R  
Pivotal role of mitogen-activated protein kinases in stretch-induced fibronectin synthesis in mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (10) Inoki K, Haneda M, Koya D, Togawa M, Maeda S, Kikkawa R  
TGF- $\beta$ 1 stimulates glucose uptake by enhancing the expression of GLUT1 in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (11) Ishida T, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Synergic effect of high glucose and mechanical stretch on extracellular matrix protein production in mesangial cells.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (12) Isono M, Haneda M, Araki S, Koya D, Ishida T, Kikkawa R  
Protein kinase C-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in vivo in diabetic glomeruli.  
American society of nephrology 30th annual meeting, November 2-5, 1997
- (13) 石田猛、羽田勝計、磯野元秀、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
周期的伸展刺激下培養メサンギウム細胞のフィブロネクチン産生増加機構  
第41回日本糖尿病学会年次学術集会、1998年5月20日～22日
- (14) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、磯野元秀、石田猛、猪木健、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット糸球体・高糖濃度培養メサンギウム細胞のPKC・MAPK活性化に対するTroglitazoneの効果  
第41回日本糖尿病学会年次学術集会、1998年5月20日～22日
- (15) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一、George L. King  
糖尿病性腎硬化症の発症におけるPKC $\beta$ 活性の重要性  
第95回日本内科学会講演会、1998年4月9日～11日
- (16) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一  
高血糖によるメサンギウム細胞PKC活性の増強に対するビタミンEの抑性機構

第41回日本腎臓学会学術総会、1998年5月11日～12日

- (17) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、磯野元秀、石田猛、猪木健、前田士郎、吉川隆一  
Troglitazoneは高糖濃度条件下培養メサンギウム細胞のPKC、MAPK活性化を抑制する。  
第41回日本腎臓学会学術総会、1998年5月11日～12日
- (18) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Troglitazone prevents the activation of protein kinase C (PKC) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) in diabetic glomeruli and mesangial cells cultured in high glucose media.  
American diabetes association 58th annual scientific sessions, June 13-16, 1998
- (19) Inoki K, Haneda M, Ishida T, Isono M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R  
Requirement of ERK activation for TGF- $\beta$  1-stimulated expression of fibronectin and PAI-1 in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (20) Ishida T, Haneda M, Inoki K, Maeda S, Koya D, Kikkawa R  
Characterization of the activation of extracellular signal-regulated kinase by high glucose and mechanical stretch in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (21) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Troglitazone prevents the increase in mRNA expression of TGF- $\beta$  and extracellular matrix proteins by inhibiting the activation of protein kinase C and mitogen-activated protein kinase in diabetic glomeruli.  
American society of nephrology 31st annual meeting, October 25-28, 1998
- (22) 古家大祐、羽田勝計、吉川隆一  
糖尿病血管合併症の発症・進展におけるPKC活性の異常とその制御  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (23) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット腎系球体のTGF- $\beta$ ・細胞外マトリックス蛋白mRNA発現に対するtroglitazoneの効果とその作用機構  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (24) 石田猛、羽田勝計、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
ERK活性化機構におけるブドウ糖過剰状態および機械的伸展刺激の相互作用  
第42回日本糖尿病学会年次学術集会、1999年5月13日～15日
- (25) 一色啓二、羽田勝計、古家大祐、林和幸、杉本俊郎、前田士郎、吉川隆一  
糖尿病ラット腎障害に対するtroglitazoneの効果とその作用機構  
第42回日本腎臓学会学術総会、1999年6月26日～28日
- (26) 猪木健、羽田勝計、前田士郎、古家大祐、吉川隆一  
ラットメサンギウム細胞において、TGF- $\beta$  1によるPAI-1遺伝子の発現にERKの活性化が必要である。  
第42回日本腎臓学会学術総会、1999年6月26日～28日

- (27) 石田猛、羽田勝計、古家大祐、前田士郎、吉川隆一  
ベラプロストNaはmechanical stretchによるERK活性化およびfibronectin過剰産生を抑制する。  
第42回日本腎臓学会学術総会、1999年6月26日～28日
- (28) Ishida T, Haneda M, Koya D, Maeda S, Kikkawa R  
Beraprost sodium inhibits stretch-induced overproduction of fibronectin in glomerular mesangial cells.  
American society of nephrology 32nd annual meeting, November 5-8, 1999
- (29) Isshiki K, Haneda M, Koya D, Hayashi K, Kikkawa R  
Troglitazones prevent diabetes-induced glomerular dysfunction via inhibiting diacylglycerol-protein kinase C activation by enhancing diacylglycerol kinase activity.  
American society of nephrology 32nd annual meeting, November 5-8, 1999
- (30) 前田士郎、羽田勝計、古家大祐、石田猛、吉川隆一  
機械的伸展刺激によるフィブロネクチン産生増加とその分子機構  
第14回日本糖尿病合併症学会、1999年10月28日～30日

## 研究成果

本研究は糖尿病の腎糸球体およびブドウ糖過剰状態で培養したメサンギウム細胞におけるTGF- $\beta$ 発現増強機構を特に糖尿病に特有の代謝異常を中心に、分子レベルで解明する事を目的とした。

まず初めに、糖尿病状態でTGF- $\beta$ の発現が増加している事を糖尿病モデル動物から単離した腎糸球体を用いて確認した。このTGF- $\beta$ 発現の増加はmRNAレベルでも増加がみとめられ、さらに同時に検討した4型コラーゲンやフィブロネクチンも同様に増加がみられた<sup>1)</sup>。TGF- $\beta$ はコラーゲンやフィブロネクチンの発現、及び産生を増加させる事が知られており<sup>2)</sup>、したがって、糖尿病状態ではTGF- $\beta$ 発現の増加が糖尿病性腎症の発症進展に大きく関わっているものと考えられる。一方高ブドウ糖条件下で培養したメサンギウム細胞においてもTGF- $\beta$ の発現増加がみとめられ、この事はまず、高ブドウ糖条件そのものがなんらかの機序でTGF- $\beta$ 発現を増強させる事を示唆している。

我々は、過去に高ブドウ糖条件下で培養したメサンギウム細胞において、protein kinase C (PKC) やMitogen activated protein kinase (MAPK) が活性化される事を報告している<sup>3)4)</sup>。そこで、まずPKCの活性化が糖尿病性腎症の発症進展に関わるか否かを検討した。過去にビタミンEがPKC活性を抑制する事が知られており<sup>5)</sup>、研究分担者の古家らも糖尿病モデル動物においてビタミンE投与によりPKC活性化が阻止される事を報告している<sup>6)</sup>。最近開発されたインスリン抵抗性改善薬のtroglitazoneはビタミンE環をその構造内に有している事からビタミンE同様にPKC活性を抑制しうる可能性がある。そこで、糖尿病状態でみとめられるPKC活性上昇に対するtroglitazoneの効果を検討した。Streptozotocin誘発糖尿病ラットでは腎糸球体でのdiacylglycerol (DAG)量の増加及び、PKC活性、ERK活性の上昇がみとめられ、それらは、troglitazone投与により正常化した。さらに、troglitazoneは糖尿病ラットでみとめられた糸球体過剰濾過やアルブミン排泄の増加あるいはTGF- $\beta$ 、4型コラーゲン、フィブロネクチン発現の増加に関してもすべて正常化させた<sup>7)</sup>。これらの結果から糖尿病性腎症の発症進展にPKC-ERK経路の活性化が関与している事が考えられると共に、糖尿病糸球体におけるTGF- $\beta$ 発現増加にもPKC-ERK経路活性化が重要と考えられた。

現在までにPKCには12のisoformが存在する事が知られている。糖尿病状態ではそのうち $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の活性が増加しているとの報告がある<sup>3)8)</sup>。そこで特にPKC $\beta$  isoformに特異的な阻害薬であるLY333531の糖尿病性腎症の発症進展に及ぼす効果を検討した。2型糖尿病のモデルであるdB/dBマウスでは25週齢には腎糸球体メサンギウム領域の拡大がみとめられた。またTGF- $\beta$ や4型コラーゲン、フィブロネクチンの発現増加がみとめられ、これらの変化は16週間のLY333531の治療により改善した。さらにdB/dBマウスでは尿中アルブミン排泄の増加がみとめられたがLY333531の投与によりアルブミン排泄にも改善がみとめられた<sup>1)</sup>。したがって、糖尿病状態でみとめられる

TGF- $\beta$  発現増加にはPKC活性化が関与し、糖尿病性腎症の発症進展に結びつくものと考えられた。糖尿病モデル動物では以上のようにPKC-ERK経路を介してTGF- $\beta$  発現が増加し、4型コラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞外基質産生亢進がもたらされ腎症の発症進展につながるものと考えられた。次にin vitroでこのTGF- $\beta$  発現の増加がどのようなメカニズムで引き起こされるかを培養メサングウム細胞を用いて検討した。

糖尿病状態では高血糖と共に腎内血行動態の変化により糸球体高血圧が引き起こされる事が知られている9)。そこで、培養メサングウム細胞において高ブドウ糖条件および、糸球体高血圧のモデルと考えられている周期的伸展刺激のPKC-ERK経路あるいはTGF- $\beta$  や細胞外基質産生に対する効果を検討した。

高ブドウ糖条件下、および周期的伸展刺激は共にERK活性を上昇させた。高ブドウ糖条件下で上昇したERK活性はPKC阻害剤のGF109203やcalphostin Cで抑性された。一方、周期的伸展刺激で上昇したERK活性はこれらPKC阻害剤では抑性されず、tyrosin kinase阻害剤のherbimycin Aで抑性された。周期的進展刺激により、TGF- $\beta$  やフィブロネクチンの発現は増加しそれらはMEK阻害剤のPD98059で抑制された10)。また、高ブドウ糖条件下で周期的伸展刺激を加えるた細胞では、各々単独の刺激を加えた細胞に比しERK活性およびフィブロネクチン産生は有意に上昇が認められた。以上の事から、糖尿病状態の腎糸球体では高ブドウ糖条件のみならず糸球体高血圧によってもたらされる周期的伸展刺激が相加的に作用してTGF- $\beta$ 、および細胞外基質産生増加を介して糸球体硬化の進展に関与するものと考えられた。

以上の事から、糖尿病腎糸球体でみとめられるTGF- $\beta$  の発現増加のメカニズムとしては、高ブドウ糖条件下でのPKC活性増加に基づくERK活性上昇に、周期的伸展刺激によりもたらされるtyrosin kinase依存性のERK活性上昇が相加的に作用してTGF- $\beta$  発現増加をもたらすものと考えられた。

最後にこのTGF- $\beta$  の増加が糖代謝に与える影響に関して検討した。メサングウム細胞をTGF- $\beta$  で刺激した細胞では、無刺激の細胞に比しGLUT1の発現、並びに糖取込み増加が認められた。さらに高ブドウ糖条件下で培養した細胞では糖取込みの上昇がみとめられ、その増加はTGF- $\beta$  の中和抗体で細胞を処理する事により阻止された11)。したがって、糖尿病状態で増加したTGF- $\beta$  はさらに細胞内への糖取込みを促進し、高ブドウ糖条件によりもたらされる細胞内代謝異常をさらに助長する可能性が示唆された。

## References

1. Koya D, Haneda M, Nakagawa H, Isshiki K, Sato H, Maeda S, Sugimoto T, Yasuda H, Kashiwagi A, Ways DK, King GL, Kikkawa R. Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC  $\beta$  inhibitor in diabetic dB/dB mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASEB J*, 14, 439-447, 2000
2. Ignatz RA, Endo T, Massague J. Regulation of fibronectin and type1 collagen mRNA levels by transforming growth factor- $\beta$ . *J Biol Chem* 262: 6443-6446, 1987
3. Kikkawa R, Haneda M, Uzu T, Koya D, Sugimoto T, Shigeta Y. Translocation of protein kinase C  $\alpha$  and  $\zeta$  in rat glomerular mesangial cells cultured under high glucose conditions. *Diabetologia* 37:838-841, 1994
4. Haneda M, Araki S, Togawa M, Sugimoto T, Isono M, Kikkawa R. Mitogen-activated protein kinase cascade is activated in glomeruli of diabetic rats and glomerular mesangial cells cultured under high glucose conditions. *Diabetes* 46:847-853, 1997
5. Tasinato A, Boscoboinik D, Bartoli GM, Maroni P, Azzi A. d- $\alpha$ -tocopherol inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation occurs at physiological concentrations, correlates with protein kinase C inhibition, and is independent of its antioxidant properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 12190-12194, 1995
6. Koya D, Lee IK, Ishii H, Kanoh H, King GL. Prevention of glomerular dysfunction in diabetic rats by treatment with d- $\alpha$ -tocopherol. *J Am Soc Nephrol* 8, 426-435, 1997
7. Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Sugimoto T, Kikkawa R. Troglitazone ameliorates glomerular dysfunction independent of its insulin sensitizing action in diabetic rats. *Diabetes*, in press
8. Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman JR, Heath W, King GL. Preferential elevation of protein kinase C isoform  $\beta$  II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats. differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:11059-11063, 1992
9. Riser BL, Cortes P, Zhao X, Bernstein J, Dumlér F, Narins RG. Intraglomerular pressure and

mesangial stretching stimulate extracellular matrix formation in the rat. *J Clin Invest.* 90: 1932-1943, 1992

10. Ishida T, Haneda M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R. Stretch-induced overproduction of fibronectin in mesangial cells is mediated by the activation of mitogen-activated protein kinase. *Diabetes* 48:595-602,1999
11. Inoki K, Haneda M, Maeda S, Koya D, Kikkawa R. TGF- $\beta$  1 stimulates glucose uptake by enhancing GLUT1 expression in mesangial cells. *Kidney Int.* 55;1704-1712, 1999