◆総説◆

C-peptide は腎にてナトリウム代謝に関わるホルモンである

大友 義之^{*1}・John Wahren^{*2}・Anita Aperia^{*3}

はじめに

insulin は膵臓の β -細胞の endoplasmic reticulum にて産生される proinsulin が、その後 insulin と C-peptide に分かれることにより作られ¹⁾²⁾、insulin と C-peptide は共に膵の β -細胞の secretory granule の中に蓄えられ、循環血中へ同モル放出される³⁾。C-peptide には、insulin の2つの鎖(A鎖とB鎖)を結合する働きがある⁴⁾が、生理学的作用は無いと考えられてきた。先ずラットの adipose tissue が用いられたが、C-peptide の insulin 様の代謝作用は見られなかった^{5)~8)}。ヒトにおいても同様に C-peptide の作用は見られなかった⁹⁾¹⁰⁾。

インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の患者の血中では insulin 並びに C-peptide がほとんど欠如していると考えられている。C-peptide は insulin と異なり肝臓でほとんど代謝されずに¹¹⁾¹²⁾その70%が腎臓にて代謝され²⁾、糸球体を濾過された C-peptide のほとんどは近位尿細管で再吸収が行われ、全体の4~5%が尿中に排泄される¹³⁾上、さらに血中と尿中の C-peptide の濃度は非常に良い相関が得られることより、尿中 C-peptide の評価が IDDM 患者における β -細胞の残存機能の指標として用いられている¹⁴⁾。

本報告の筆者の1人である Wahren らは、近年、C-peptide の生物学的活性の有無について再検討を進めてきた。ここではその結果を簡単に概説しておく。

IDDM の患者において、病初期より glomerular hyperfiltration が見られることは広く知られているが¹⁵⁾¹⁷⁾、そのメカニズムは判っていない。この hyperfiltration は insulin 治療を開始しても直ぐには是正されず¹⁸⁾、さらに、hyperfiltration 自体、IDDM 患者のみに認められ、NIDDM 患者では見られない。NIDDM 患者では、血中 C-peptide 値は保たれており、又、C-peptide の uptake と catabolism の大部分は腎臓にて成される^{19)~21)}ことより、C-peptide が腎臓で hyperfiltration 等に何らかの作用を有すると Wahren らは推察した。

実験1²²⁾：18~26歳の発症後15年以内で、さらに血中 C-peptide 値が測定限界以下の IDDM 患者を臨床研究の対象とした。これらの患者は glomerular hyperfiltration は認めるものの、他の糖尿病の合併症は有していない。彼らは、前夜より insulin を静注持続投与され、euglycemic な状態に置かれ、GFR と RPF は各タイムリン、パラアミノ馬尿酸を用いたクリアランスより算出された。11人の対象患者に、血清 C-peptide の前値を測定した後、biosynthetic human C-peptide (Eli Lilly 社、アメリカ)を最初の1時間5 pmol/kg/min で、次の1時間30 pmol/kg/min で静注した。コントロールの10人の患者には生食を2時間静注した。C-peptide を5 pmol/kg/min で静注することにより、血中濃度はほぼ

*1順天堂大学医学部 小児科

(〒113 東京都文京区本郷2-1-1)

C-peptide regulates sodium metabolism in the kidney

*1Yoshiyuki Ohtomo, *2John Wahren, *3Anita Aperia

*1Department of Pediatrics, Juntendo University School of Medicine

*2Department of Clinical Physiology, Karolinska Hospital

*3Department of Woman & Child Health, Karolinska Institute

Key Words : C-peptide

insulin

近位尿細管

Na⁺, K⁺-ポンプ (Na⁺, K⁺-ATPase)

signaling pathways

健常人の正常値である $0.8\text{nmol}/\ell$ となり、GFR は7% 減じ、RPF は3% 上昇したが、引き続き $30\text{pmol}/\text{kg}/\text{min}$ 静注して血中濃度を $2.1\text{nmol}/\ell$ としても、これ以上の GFR や RPF の変化は見られなかった。このことより C-peptide の補充により、IDDM 患者における glomerular hyperfiltration を改善しうることが示唆された。

実験 2²³⁾: Wahren らは、次に、IDDM の患者に C-peptide の1ヵ月間の補充を試みた。insulin 単独或いは insulin とその同モルの C-peptide の両者を皮下ポンプにて持続投与する double blind の randomized prospective study を施行した。全ての患者は実験前に GFR が $142\text{--}147\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ と glomerular hyperfiltration を呈し、尿中微量アルブミンは平均 $21\text{mg}/\text{ml}$ であった。insulin 単独投与群では GFR, 尿中微量アルブミン排泄に変化は見られなかったが、insulin と C-peptide の併用群では投与を開始して2週間目より GFR が6% 減じ、尿中アルブミンも約1/2に減少した。

実験 3²³⁾: 前実験の対象患者について同時に vitreous fluorophotometry を用いて、blood-retinal barrier に於ける fluorescein の漏出を観察した。本検査は糖尿病性網膜症の早期発見に有効とされている²⁴⁾。C-peptide 併用群では有意に漏出が減少したが、insulin 単独群では変化は見られなかった。

Wahren らは、これらの C-peptide の作用は、C-peptide の糸球体基底膜や網膜血管壁への直接的な働きによると推察した。そこで我々は C-peptide の細胞膜に対する作用のメカニズムを検討する目的で、ラットの近位尿曲細管 (proximal convoluted tubule; PCT) 細胞を用いた。PCT 細胞の基底側膜に有る Na^+, K^+ -ATPase (Na^+ -ポンプ; 以下 NKA と略す) は種々のホルモンによりその活性が調節されている²⁵⁾ことは良く知られている。

実験の方法

1) NKA 活性の測定: Doucet らの方法²⁶⁾に準じて施行した。日齢40日の成人 Sprague-Dawley (S-D) ラットを collagenase を含んだ buffer で灌流し、その左腎を摘出して皮質より顕微鏡下にて PCT を単離した。ATP の加水分解を利用して $\gamma\text{-}^{32}\text{P}$ を用いてウバイン感受性の NKA 活性を対象とする試薬の投与群と非投与群において測定した (詳細は文献²⁷⁾)。Rat C-peptide (I) は Ferring 社 (スウェーデン) より入手した。

2) 単一 PCT 細胞における細胞内カルシウム濃度

(Cai) の測定: Larsson らの方法に基づいて²⁸⁾行なった。日齢40日の成人 S-D ラットの腎皮質より得た PCT 細胞の初代培養を行ない、単一 PCT 細胞において fura-2 を用いて蛍光顕微鏡で Cai の測定を行なった。

結 果

1) C-peptide は、ラットの単離 PCT の NKA を亢進させた。亢進作用は NKA の V_{max} 下 ($\text{Na}^+=70\text{mM}$) では無く、non-saturating な状態でのみ見られた (図1²⁹⁾)。C-peptide は NKA に対して Na affinity を増すことによりその活性を亢進させると考えられたが、これは、既に我々が報告した α -adrenergic

図1 各種 Na 濃度下における C-peptide のラット近位尿細管 (PCT) Na^+-K^+ -ATPase 活性に及ぼす影響
40日齢の Sprague-Dawley ラットより microdissection した PCT segment に Rat C-peptide (I) ($5 \times 10^{-7}\text{M}$) を作用させる (黒丸) と、 Na^+ 濃度が $40\text{mEq}/\text{L}$ 以下の non-saturating な状況で有意に NKA 活性を亢進させた (白丸が control 群)。尚、 K^+ の濃度は $5\text{mEq}/\text{L}$ である。

図2 C-peptide の PCT Na^+-K^+ -ATPase 活性に於ける容量依存曲線

C-peptide は NKA 活性を容量依存性に亢進させ (黒丸), half-maximal activation は $5 \times 10^{-7}\text{M}$ で見られる。Neuropeptide Y は NKA の活性を亢進させるホルモンであるが、 $5 \times 10^{-9}\text{M}$ 濃度では単独で作用を有さない。しかし、C-peptide と同時に作用させることにより、synergistic に NKA の活性を亢進させ、容量依存曲線を右方に偏位させる (白丸)。

図3 百日咳毒素前処置下の C-peptide の PCT Na-K-ATPase 活性への作用

PTX は C-peptide の作用を完全に阻害したが、その後この PCT を buffer にて washout して、C-peptide のみを作用させると NKA 活性が亢進したことより、PTX の作用は可逆的であったと考えられる。

図4 FK 506 による C-peptide の NKA 活性亢進作用の阻害
FK 506 は単独では $\text{Na}^+=20\text{mM}$ にてラット PCT の NKA 活性を抑制しなかったが、C-peptide ($5 \times 10^{-7}\text{M}$) による NKA 活性亢進作用を完全に阻害した。

agonist³⁰⁾や neuropeptide Y (NPY)²⁷⁾と同様のメカニズムであった。以降の検討は、 $\text{Na}^+=20\text{mM}$ の条件で行った。

2) C-peptide は単離 PCT の NKA を容量依存性に亢進させた (図 2³¹⁾)。 10^{-8}M 以上の濃度で亢進作用が認められ、 10^{-5}M で最大作用が得られた。

3) C-peptide のレセプターは、ラットの膵β-細胞の培養細胞における検討でその存在が示唆されているのみ³²⁾である。我々は百日咳毒素 (pertussis toxin;

図5 ラット PCT 初代培養細胞における C-peptide の細胞内カルシウムに対する作用

thapsigargin を前処置することにより細胞内カルシウムのプールを枯渇させても C-peptide による Ca_i への効果は変化しなかったことより、C-peptide による Ca_i の上昇は細胞外からの流入によると考えられる。

PTX) を用いて、ラット PCT におけるレセプターの検討を行なった。PTX $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ を PCT に95% O_2 と5% CO_2 投与下にて37°C、4時間作用させた³³⁾後、C-peptide の NKA 活性に対する作用を検討した。PTX 自体はコントロール群の NKA を抑制しなかったが、PTX の前処置により C-peptide による亢進作用は阻害された (図 3²⁹⁾)。このことより、ラットの PCT における C-peptide のレセプターの存在が示唆され、これは PTX 感受性の G protein と coupling していると思われた。

4) ラットの PCT の NKA を亢進し、抗 Na 利尿作用を呈するホルモンのうち、oxymetazoline (α -adrenergic agonist), angiotensin II, NPY は細胞内カルシウム (Ca_i) を上昇させ、続いて Ca^{2+} /calmodulin 依存性 protein phosphatase 2B (PP2B; calcineurin) を活性化して作用を発現すること^{27/30/34)}を既に我々は報告してきた。C-peptide についても同様の signaling mechanism を想定して検討を行った。PP2B の阻害薬

表1 ラット PCT の NKA 活性亢進における NPY と各種ホルモンの協調作用

NPY ($5 \times 10^{-9}\text{M}$, NKA 活性を亢進させる subthreshold dose) を NKA 活性を亢進させる subthreshold dose の各種ホルモンと共に作用させると、angiotensin II 以外の combination にて synergistic interaction を認めた。

Addendum	Na- K-ATPase activity (% over basal)	
	- NPY	+ NPY
Oxymetazolin (10^{-8}M)	5.8 ± 0.9	$63.2 \pm 1.8^*$
Angiotensin II ($5 \times 10^{-12}\text{M}$)	-1.4 ± 2.7	7.0 ± 2.2
C-peptide (10^{-8}M)	1.4 ± 1.5	$60.0 \pm 3.0^*$
Insulin ($5 \times 10^{-11}\text{M}$)	3.7 ± 2.0	$41.2 \pm 1.2^*$

図6 各種ホルモンによるラット近位尿細管 Na-K-ATPase 活性の short-term regulation の仮説

である FK 506³⁵⁾を用いて PCT の NKA 活性を測定した。FK 506 (10^{-8} M) はそれ単独では NKA 活性を抑制させなかったが、C-peptide と共に作用させると、C-peptide の作用を阻害した (図 4²⁹⁾)。このことより、C-peptide も PP2B の活性化を介して NKA を亢進させることが推察された。

5) PP2B は Ca^{2+} の上昇により活性化されることより、その由来を検討した。L-type の Ca^{2+} チャンネルブロッカーの nifedipine (10^{-4} M) はそれ単独ではラットの NKA 活性を抑制しなかったが、C-peptide による NKA の亢進作用を完全に阻害した (data not shown)。ことより、C-peptide が細胞外よりの Ca^{2+} の流入を促すことが推察された。この仮説を、ラットの単一 PCT 細胞の Ca^{2+} の測定を行ない確認をした。C-peptide (10^{-9} M) は Ca^{2+} を上昇させたが、細胞外の Ca^{2+} を除去したり (図 5³¹⁾)、nifedipine にて予め前処置するとこの作用は認められなかった。

6) 最近我々は NPY は単独で PCT の NKA 活性を亢進させるだけでなく、oxymetazoline (α -adrenergic agonist) と協調することにより、より低濃度 (生理学的濃度) で効果を発現しうることを明らかにした²⁷⁾。そこで、C-peptide と NPY について同様の協調作用が有るか否か検討した。NPY がこの実験系で NKA 活性を亢進させる subthreshold 濃度 (5×10^{-9} M) と C-peptide を同時に作用させると、より低濃度で NKA の亢進作用が得られた (図 1)。C-peptide と共に膵臓の β -

細胞より放出される insulin はラット PCT の NKA を亢進させる³⁶⁾ことより、C-peptide と insulin の協調作用の有無を検討した。C-peptide と insulin との間には同様の協調作用は見られなかったが、NPY と insulin の間にも協調作用を認めた (表 1³⁷⁾)。

考 按

Proinsulin connecting peptide (C-peptide) は発見以来、生物学的作用は無いと考えられてきたが、近年、C-peptide の in vitro 及び in vivo での作用が明らかになってきた³⁸⁾。今回我々は、ラット PCT において C-peptide がその基底側膜に局在する NKA 活性を亢進させることを明らかにし、その細胞内伝達系の検討を行なった。C-peptide の NKA 亢進作用は、PTX の前処置により阻害されたことより、PCT の基底側膜に PTX 感受性の G protein と結合した C-peptide のレセプターが存在することが示唆された。C-peptide は L-type Ca^{2+} チャンネルよりの Ca^{2+} 流入を促進し、これによる Ca^{2+} の上昇が PP2B を活性化して、NKA を亢進させると考えられる。

C-peptide は PCT の NKA 活性を亢進することにより、腎において Na 保持に働くと思われるが、我々の実験系では、supraphysiological な濃度においてのみ NKA を亢進させた。しかしながら、より低濃度においても NPY と共存することにより NKA を亢進させることが出来た。ラットの C-peptide の血中濃度は 10^{-10}

-10^{-9}M であることより³⁹⁾, in vitro では C-peptide は他のホルモンと協調して腎の Na 代謝に関わっているものと考えられる。

C-peptide と共に膵の β -細胞より分泌される insulin も近年腎尿細管で Na 調節作用を有することが明らかになってきた。insulin は PCT で Na の再吸収を促すが⁴⁰⁾, これは管腔側の $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchanger⁴¹⁾ や基底側の NKA 活性³⁸⁾ を亢進させることによると考えられる。insulin の尿細管の NKA 活性を亢進させるメカニズムは現時点では明らかではないが, 我々の検討では PP2B の活性化は関与していない様である (未発表データ)。

糖尿病の病態下では PCT の Na^+ /glucose cotransporter が亢進しているため⁴²⁾ に NKA も高値を呈して^{43)~46)} おり, 糖尿病患者における C-peptide の尿細管 NKA の亢進作用は, あまり重要な意義は有しない様に思われる。しかし, 同症の患者では, 神経組織や糸球体では NKA の活性が低下しており^{47)~49)}, 神経組織における NKA の低下が糖尿病性神経障害の病因と推察されている⁴⁹⁾ ことより, これらの組織の NKA における C-peptide の検討を現在進めており, preliminary な結果であるが, 糖尿病ラットの糸球体や末梢神経組織の NKA 活性も C-peptide は亢進するようである (John Wahren, personal communication)。さらに, 糖尿病のモデルラットでの検討では, 神経組織中の NPY 濃度が高い⁵⁰⁾⁵¹⁾ ことが判っており, 同部位での C-peptide と NPY の協調作用についても検討が必要であろう。

最後に, 我々がこの10年間進めてきたラット PCT の NKA 活性の各種ホルモンによる short-term regulation のメカニズムの仮説を示す³⁷⁾ (図6)。

本報告の要旨の一部は, 第31回日本小児腎臓病学会 (1996年) において発表し, さらに文献29に掲載された。尚, 本研究は Swedish Medical Research Council (No. 03644) 及び平成8年度・文部省科研費奨励研究A (08770577) の助成により行われた。

文 献

- Steiner, D. F., Oyer, P. E. : The biosynthesis of insulin and a probable precursor of insulin by a human islet cell adenoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 57 : 473-480, 1967.
- Steiner, D. F., Cunningham, D., Spigelman, L., Aten, B. : Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 157 : 697-700, 1967.
- Rubenstein, A. H., Clark, J. L., Melani, F., Steiner, D. F. : Secretion of proinsulin C-peptide by pancreatic β cells and its circulation in blood. *Nature*. 224 : 697-699, 1969.
- Steiner, D. F., Kemmler, W., Howard, S., Peterson, T., Peterson, J. : Proteolytic processing in the biosynthesis of insulin and other proteins. *Fed Proc*. 33 : 2105-2115, 1974.
- Kitabchi, A. E. : The biological and immunological properties of pork and beef insulin, proinsulin, and connecting peptides. *J Clin Invest*. 49 : 979-987, 1970.
- Solomon, S. S., Brush, J. S., Kitabchi, A. E. : Antipolytic activity of insulin and proinsulin on ACTH and cyclic nucleotide-induced lipolysis in the isolated adipose cell of rat. *Biochim Biophys Acta*. 218 : 167-169, 1970.
- Yu, S. S., Kitabchi, A. E. : Biological activity of proinsulin and related polypeptides in the fat tissue. *J Biol Chem*. 248 : 3763-3761, 1973.
- Kitabchi, A. E. : Proinsulin and C-peptide: a review. *Metabolism*. 26 : 547-587, 1977.
- Hagen, C., Faber, O. K., Binder, C., Alberti KGMM : Lack of metabolic effects of C-peptide in normal subjects and juvenile diabetic patients. *Acta Endocrinol*. 85 [suppl 209] : 29A (abstr), 1977.
- Hoogwerf, B. J., Bantle, J. P., Gaenslen, H. E., Greenberg, B. Z., Senkske, B. J., Francis, R., Goetz, F. C. : Infusion of synthetic human C-peptide does not affect plasma glucose, serum insulin, or plasma glucagon in healthy subjects. *Metabolism*. 35 : 122-125, 1986.
- Katz, A. I., Rubenstein, A. H. : Metabolism of proinsulin, insulin and C-peptide in the rat. *J Clin Invest*. 52 : 1113-1121, 1973.
- Kuhl, C., Faber, O. K., Hornnes, P., Lindkear Jensen, S. : C-peptide metabolism in the liver. *Diabetes*. 27 [suppl 1] : 197-200, 1977.
- Meistas, M. T., Zadik, Z., Margolis, S., Kowarski, A. A. : Correlation of urinary excretion of C-peptide with the integrated concentration and secretion rate of insulin. *Diabetes*. 30 : 639-643, 1981.
- Madsbad, S. : Factors of importance for residual beta-cell function in type 1 diabetes. A review. *Acta Med Scand*. 671 : 61-67, 1983.
- Stadler, G., Schmid, R. : Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal hemodynamics in treated diabetes mellitus during childhood. *Ann Pediatr*. 193 : 129-138, 1959.
- Mogensen, C. E., Andersen, M. J. F. : Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes*. 22 : 706-712, 1973.
- Mogensen, C. E., Andersen, M. J. F. : Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes. Normalisation by insulin treatment. *Diabetologia*. 11 : 221-224, 1975.
- Sandahl-Christiansen, J., Frandsen, M., Parving, H. H. : The effect of intravenous insulin on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 20 : 199-204, 1981.
- Rabkin, R., Ross, B. D., Mako, M. E., Rubenstein, A. H. : The handling of insulin, proinsulin, and C-peptide by the isolated rat kidney. *Diabetes*. 27 [suppl 2] : 192-196, 1978.
- Henriksen, J. H., Tronier, B., Bülow, J. B. : Kinetics of circulating endogenous insulin, C-peptide, and proinsulin in fasting nondiabetic man. *Metabolism*. 35 : 463-468, 1987.
- Sjöberg, S., Johansson, B.-L., Östman, J., Wahren, J. : Renal and splanchnic exchange of human biosynthetic C-peptide in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 32 : 423-428, 1991.
- Johansson, B.-L., Sjöberg, S., Wahren, J. : The influence of

- human C-peptide on renal function and glucose utilization in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 35 : 121-128, 1992.
- 23) Johansson, B.-L., Kernell, A., Sjöberg, S., Wahren, J. : Influence of combined C-peptide and insulin administration on renal function and metabolic control in diabetes type 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 77 : 976-981, 1993.
- 24) Kernell, A., Larsson, Y., Ludvigsson, J., Tenland. : Vitreous fluorophotometry in juvenile diabetes. *Acta Endocrinol*. 94 [suppl 238] : 67-74, 1980.
- 25) Celsi, G., Aperia, A. : Sodium, chloride, and water excretion. In : Holliday M, et al. eds. *Pediatric Nephrology*. (3rd ed) pp 99-116, Williams & Williams, Baltimore.
- 26) Doucet, A., Katz, A., Morel, F. : Determination of Na-K-ATPase activity in single segments of the mammalian nephron. *Am J Physiol*. 237 : F105-F113, 1979.
- 27) Ohtomo, Y., Meister, B., Hökfelt, T., Aperia, A. : Coexisting NPY and NE synergistically regulate renal tubular Na⁺, K⁺-ATPase activity. *Kidney Int* 45 : 1606-1613, 1994.
- 28) Larsson, S., Aperia, A., Lechene, C. : Studies on final differentiation of rat renal proximal tubular cells in culture. *Am J Physiol*. 251 : C455-C464, 1986.
- 29) Ohtomo, Y., Aperia, A., Sahlgren, B., Johansson, B.-L., Wahren, J. : C-peptide stimulates rat renal tubular Na⁺, K⁺-ATPase activity in synergism with neuropeptide Y. *Diabetologia*. 39 : 199-207, 1996.
- 30) Aperia, A., Ibarra, F., Svensson, L.-B., Klee, C., Greengard, P. : Calcineurin mediates α -adrenergic stimulation of Na⁺, K⁺-ATPase activity in renal tubule cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89 : 7394-7397, 1992.
- 31) 大友義之, 福田 豊, 藪田敬次郎, Wahren, J., Aperia, A. : C-peptide のホルモンとしての作用についての検討. *発達腎研究会誌*. 4 : 46-49, 1996.
- 32) Flatt, P. R., Swanson-Flatt, S. K., Hampton, S. M., Bailey, C. J., Marks, V. : Specific binding of the C-peptide of proinsulin to cultured B-cells from a transplantable rat islet cell tumor. *Biosci Rep*. 6 : 193-199, 1986.
- 33) Takaichi, K., Kurokawa, K. : Inhibitory guanosine triphosphate-binding protein-mediated regulation of vasopressin action in isolated single medullary tubules of mouse kidney. *J Clin Invest*. 82 : 1437-1444, 1988.
- 34) Aperia, A., Holtbäck U., Syrén, M.-L., Svensson, L.-B., Fryckstedt, J., Greengard, P. : Activation/deactivation of renal Na⁺, K⁺-ATPase: a final common pathway for regulation of natriuresis. *FASEB J*. 8 : 436-439, 1994.
- 35) Liu, J., Farmer, J. J., Lane, W., Friedman, J., Weissman, I., Schreiber, S. : Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell*. 66 : 807-815, 1991.
- 36) Féraillie, E., Marsy, S., Cheval, L., Barlet-Bas, C., Khadouri, S., Farve, H., Doucet, A. : Sites of antinatriuretic action of insulin along rat nephron. *Am J Physiol*. 263 : F175-F179, 1992.
- 37) Ohtomo, Y. : The regulation of renal tubular Na⁺ transport is dependent on interaction between different hormones. *Karolinska Institute 学位論文集* (1996年).
- 38) Wahren, J., Johansson, B.-L., Wallberg-Henriksson, H. : Does C-peptide have a physiological role? *Diabetologia*. 37 [suppl 2] : S-99-S107, 1994.
- 39) Akpan, J. O., Weide, L. G., Gingerich, R. L. : A specific and sensitive radioimmunoassay for C-peptide. *Int J Pancreatol*. 13 : 87-95, 1993.
- 40) Baum, M. : Insulin stimulates volume absorption in the rabbit proximal convoluted tubule. *J Clin Invest*. 79 : 1104-1109, 1987.
- 41) Gesek, F., Schoolwerth, A. : Insulin increases Na⁺-H⁺ exchange activity in proximal tubules from normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol*. 260 : F695-F703, 1991.
- 42) Körner A., Eklöf, A.-C., Celsi, G., Aperia, A. : Increased renal metabolism in diabetes. Mechanism and functional implications. *Diabetes*. 43 : 629-633, 1994.
- 43) Ku, D., Meezan, E. : Increased renal tubular sodium pump and Na⁺-K⁺-adenosine triphosphatase in streptozotocin-diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther* 229: 664-670, 1984.
- 44) Wald, H., Popovtzer, M. M. : The effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on urinary excretion of sodium and renal Na⁺-K⁺-ATPase activity. *Pflügers Arch*. 401 : 97-100, 1984.
- 45) Wald, H., Scherzer, P., Popovtzer, M. M. : Enhanced renal tubular ouabain-sensitive ATPase in streptozotocin diabetes mellitus. *Am J Physiol*. 251 : F164-F170, 1986.
- 46) Khadouri, C., Barlet-Bas, C., Doucet, A. : Mechanism of increased tubular Na-K-ATPase during streptozotocin-induced diabetes. *Pflügers Arch*. 409 : 296-301, 1987.
- 47) Greene, D., Lattimer, A. A., Sima, A. A. F. : Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N Engl J Med*. 316 : 599-606, 1987.
- 48) Cohen, M. P., Klepser, H. : Glomerular Na⁺, K⁺ ATPase activity in acute and chronic diabetes and with aldose reductase inhibition. *Diabetes*. 37 : 558-562, 1988.
- 49) Greene, D. A., Sima, A. A. F., Pfeifer, M. A., Albers, J. W. : Diabetic neuropathy. *Annu Rev Med*. 41 : 303-317, 1990.
- 50) Williams, G., Gill, J. S., Lee, Y. C., Cardoso, H. M., Okpere, B. E., Bloom, S. R. : Increased neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*. 38 : 321-327, 1989.
- 51) White, J. D., Olchovsky, D., Kershaw, M., Berelowitz, M. : Increased hypothalamic content of preproneuropeptide-Y messenger ribonucleic acid in streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology*. 126 : 765-772, 1990.