

総説

高血糖病態が血管平滑筋機能に及ぼす影響

木下 浩之*

はじめに

古くから、高血糖は様々な組織障害による心血管系合併症を惹き起こすことが知られてきた。これまで高血糖や糖尿病に関して多くの研究結果が報告されてきたにも拘らず、高血糖による心血管障害の機序を一元的に説明するのは未だ困難である。高血糖をインスリン抵抗性と言い換えると、それを惹き起こす可能性がある病態は、妊娠、敗血症、ガン性悪液質、肥満、飢餓、末端肥大症、熱傷を含めた組織外傷、メタボリック症候群など様々であり、その機序の理解は一層困難を極める¹⁾。その中で、Brownlee は、高血糖に伴う糖尿病合併症発生の機序に関する仮説の変遷を分かりやすく記している^{2,3)}。本稿では、高血糖が惹き起こす病態の元となるこれら各種仮説について提唱された年代順に解説を加え、最後に、最近注目されている高血糖により惹き起こされる酸化ストレスの影響について言及する。本稿では、高血糖病態が特に血管平滑筋機能に及ぼす影響に着目して概説させていただきます。

ポリオール経路

最初に提唱された高血糖による細胞障害の経路はポリオール経路であり、実に 1966 年に Science 誌に報告されている⁴⁾。この経路で鍵を握るのはアルドース還元酵素である。アルドース還元酵素は、健常時には細胞毒であるアルデヒドをアルコールへ変換する作用を持つが、細胞内グルコース濃度が高くなりすぎるとグルコースをソルビトールに還元してしまう性質があり、その際には最終的にフルクトースが生成される(図1)³⁾。図1に示すよう

にソルビトールが生成される過程で NADPH が消費されるが、NADPH は細胞内の抗酸化物質の一つである還元型グルタチオンレベルを一定以上に保つのに役割を果たしており、NADPH の細胞内レベルの低下が結果として酸化ストレスを増大させるとされている(図1)³⁾。しかしながら、この仮説については議論がある。すなわち、ヒト組織中のアルドース還元酵素活性には個人差があり、本酵素に対応する遺伝子型が存在するなど普遍性に乏しい可能性がある点、アルドース還元酵素が逆説的に抗酸化作用を持つことを示唆する報告がある点、マウスでは本酵素活性が極めて低く遺伝子操作動物を用いた研究に遅れがある点などにより、ポリオール経路が高血糖によるヒト心血管病態発生に大きく関与するかは現時点では断定できない⁵⁾。一方で、糖尿病患者に対するアルドース還元酵素阻害薬投与が、腎臓を保護したり角膜上皮バリア機能を維持したりする可能性が示唆されているのも事実であり、今後は副作用のない本酵素阻害薬の開発と大規模な無作為化対照試験の実施が望まれる^{5,6)}。

高濃度グルコース暴露(360~900mg/dl)はポリオール経路を活性化し、血管内膜や中膜のソルビトールおよびフルクトースレベルを上昇させることは古くから知られている⁷⁾。これらの研究結果は、アルドース還元酵素を含むポリオール経路の制御が、高血糖病態時の血管機能の保護に寄与する可能性を示唆するものである。しかし、血管平滑筋に関しては、糖尿病動物の血管内皮障害部位における平滑筋増生へのアルドース還元酵素活性の関与が指摘されるにとどまっている。さらに、内因性、外因性を問わず一酸化窒素はアルドース還元酵素活性を抑制するとされているが⁸⁾、一酸化窒素活性が高血糖で惹起された血管病変の予後に影響

*和歌山県立医科大学医学部麻酔科学教室

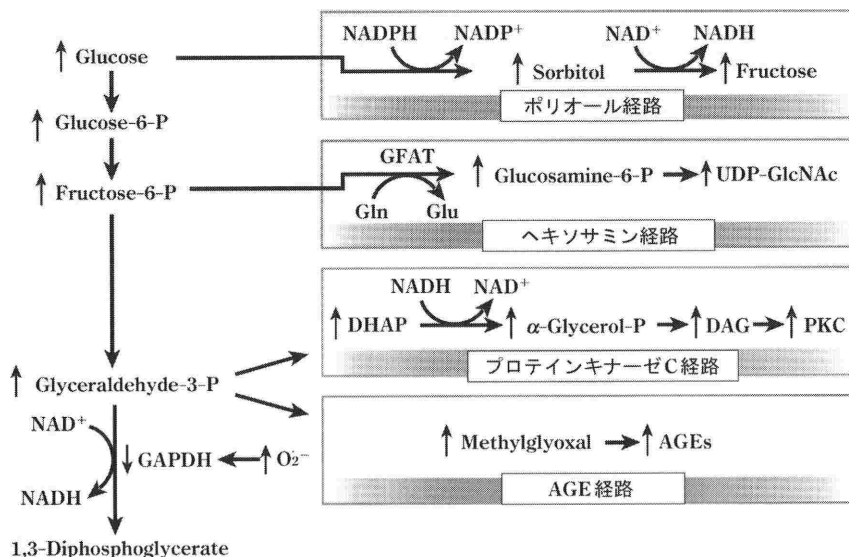


図1 高血糖による組織障害に関与すると考えられる4つの経路(Nature 2001; 414: 813-20 より一部改変)

Glucose-6-P: グルコース-6-リン酸, Fructose-6-P: フルクトース-6-リン酸, Glycerinaldehyde-3-P: グリセルアルデヒド-3-リン酸, GAPDH: グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素, 1,3-Diphosphoglycerate: 1,3-ジホスホグリセリン酸, GFAT: グルタミン フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ, Glucosamine-6-P: グルコサミン-6-リン酸, Gln: グルタミン, Glu: グルタミン酸, UDP-GlcNAc: ウリジン2リン酸-Nアセチルグルコサミン, DHAP: ジヒドロキシアセトンリン酸, α -Glycerol-P: α グリセロールリン酸, DAG: ジアシルグリセロール, PKC: プロテインキナーゼC, Methylglyoxal: メチルグリオキサール, AGEs: advanced glycation end product(終末糖化産物)

を及ぼすか否かは明らかでない⁹⁾。

Advanced glycation end product (AGE, 終末糖化産物)経路

AGE 経路は、1970 年代に提唱された(図1)³⁾。AGE は糖化を受けた蛋白や脂質であり、糖尿病病態時の血管に存在し動脈硬化の進展に関与すると考えられている¹⁰⁾。過剰な細胞内グルコース濃度上昇により、その代謝中間産物であるグリセルアルデヒド-3-リン酸レベルが上昇、次いで AGE 経路が活性化されて AGE 前駆体メチルグリオキサールの細胞内レベルが増大する(図1)³⁾。血管内皮細胞での AGE の作用機序として、細胞内で産生された AGE 前駆体が拡散で細胞外に至りマトリックスと直接反応する場合と、AGE 前駆体が一旦細胞外に出たあとアルブミン等の蛋白と反応し安定した AGE を形成する場合の大きく2つのパターンがあるとされている³⁾。このうち、細胞外で産生された安定 AGE は、各種細胞表面に存在するその受容体(The receptor for advanced glycation end products: RAGE)と結合し、細胞内の核内因子 κ B(nuclear

factor- κ B)を活性化して、各種蛋白の合成促進を介し様々な細胞内カスケードに影響を及ぼすと考えられている¹⁰⁾。RAGE の特徴として、血管を含め正常組織へのその分布は極めて粗であるのに対し、一度周辺に AGE が産生されるとポジティブフィードバックにより組織に発現することが知られており、その分布は特に、血管内皮細胞、平滑筋細胞や単核球などに多いとされる¹⁰⁾。

先に述べたように、AGE は血管では動脈硬化の発生に影響を及ぼしていると考えられるが、血管平滑筋細胞でも内皮細胞と同様に核内因子 κ B や MAP(mitogen-activated protein)キナーゼのような細胞内カスケードを活性化することが明らかにされている^{10,11)}。最近の知見として、高血圧動物の血管平滑筋にも AGE が蓄積していることが報告されており、高血糖病態以外でも AGE 経路の制御が心血管系予後に寄与する可能性が示唆される¹²⁾。各種抗 AGE 薬などを用いて現在まで基礎研究が進められてきているものの、AGE 経路の制御が糖尿病患者の予後を改善するか否かは未だ不明である¹⁰⁾。

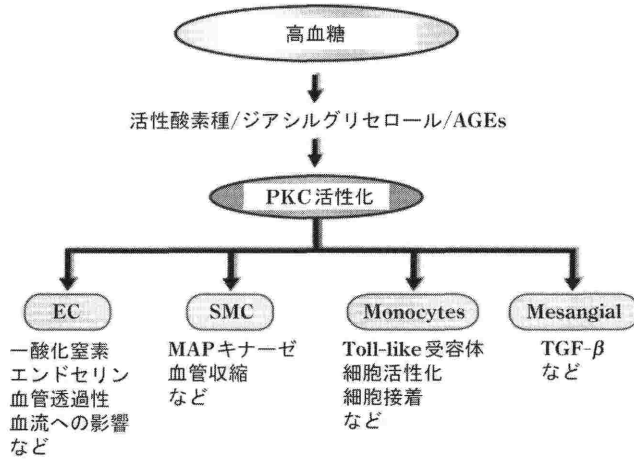


図2 高血糖によるプロテインキナーゼ C 活性化と影響を受ける細胞内カスケード
(Circ Res 2010; 106: 1319-31 より一部改変)

AGEs: advanced glycation end product (終末糖化産物), PKC: プロテインキナーゼ C, EC: 血管内皮細胞, SMC: 血管平滑筋細胞, TGF-β: トランスフォーミング増殖因子ベータ

プロテインキナーゼ C (PKC) 経路

PKC 経路は、高血糖病態における細胞障害の経路として 1980 年代後半から 1990 年代にかけて提唱された(図1)³⁾。高血糖および糖尿病では、高濃度グルコースの存在により解糖系中間産物であるグリセルアルデヒド-3-リン酸レベルが上昇することを AGE 経路の項で述べたが、この中間産物は、PKC 経路も活性化することが知られている(図1)³⁾。増大したグリセルアルデヒド-3-リン酸は、ジヒドロキシアセトンリン酸(DHAP)を經由し、PKC 産生の *de novo* 経路でジアシルグリセロール(DAG)レベルを上昇させる(図1)^{3,13)}。現在までのところ、高血糖により活性化される PKC のサブタイプは、 α , β_1 , β_2 , δ の 4 種類とされており、 α , β_1 , β_2 は conventional PKC, δ は novel PKC と分類されるが、これらはいずれも DAG で活性化が可能である¹³⁾。本キナーゼは、DAG のほか活性酸素種や AGE によっても活性化され、血管内皮細胞、平滑筋細胞、単核球やメサンギウムなど各所で種々の細胞内カスケードを惹き起こし、動脈硬化、心機能障害、網膜症、腎機能障害、ニューロパチー等の高血糖、糖尿病に伴う各種合併症の原因の一つと考えられている(図2)¹³⁾。

ヒト由来を含め血管平滑筋細胞については、315 ~ 360mg/dl グルコースへの 48 時間暴露による PKC- α および- β_2 の活性化や 297mg/dl グルコース

への 24 時間以上暴露による PKC- β_2 および- δ の活性化が報告されている^{14,15)}。現在までのところ、PKC 下流経路では MAP キナーゼ等が重要な役割を果たすと考えられている(図2)¹⁵⁾。

これまでの様々な研究結果を総合すると、高血糖病態に伴う細胞障害には PKC- β サブタイプの関与が最も大きいと考えられる¹³⁾。臨床研究では、本サブタイプの特異的拮抗薬ルボキシスタウリン(ruboxistaurin)が、腎障害、網膜症、内皮機能障害などの糖尿病性血管障害に対してある程度の改善効果を示しているものの決定的な有効性は得られていない¹³⁾。その有効性については今後の更なる検討が必要である。

ヘキサミン経路

1990 年代になり、糖尿病に伴う合併症の発生にヘキサミン経路が関与する可能性が示唆されるようになった(図1)³⁾。高濃度グルコース存在下では、解糖系中間産物フルクトース-6-リン酸は、ヘキサミン経路に入りグルタミン フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)の作用を介してグルコサミン-6-リン酸に変換され、最終的に、ウリジン 2 リン酸-N アセチルグルコサミン(UDP-GlcNAc)が産生される(図1)³⁾。本物質は、各種蛋白のセリンあるいはスレオニン残基の改変を介して、TGF(トランスフォーミング増殖因子)- β_1 やプラスミノゲン活性化因子インヒビター 1 を

活性化し糖尿病を悪化させると考えられている^{3,16)}。このように、高血糖や糖尿病によるヘキサミン経路活性化は、細胞内の各種転写因子の改変を発生させることで各種の合併症を惹き起こすと考えられるが、それについての臨床研究は十分行われていないのが現状である¹⁶⁾。

ヒト由来を含め血管平滑筋細胞については、540mg/dl グルコースへの4時間以上の暴露が、グルコサミン5~10mMと同様な小胞体ストレスを発生させることが明らかとなった¹⁷⁾。さらに、糖尿病動物モデルにおける動脈硬化発生にヘキサミン経路が関与していることが示唆されている¹⁷⁾。

酸化ストレス

A. 血管での酸化ストレス総論

活性酸素種の異常発生とそれに対抗する抗酸化機構とのバランスが破綻した状態を酸化ストレスと呼ぶ^{18~20)}。活性酸素種は、炎症細胞のほか、血管内皮細胞や平滑筋細胞からも産生される¹⁸⁾。このうちスーパーオキシドは、各種活性酸素種の前駆体となる点で重要である。スーパーオキシドは、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)により過酸化水素となり、次いでこの活性酸素種は鉄イオン存在下にヒドロキシラジカルに変換される(図3)²¹⁾。その他、スーパーオキシドは、一酸化窒素と結合しペロキシナイトライトと呼ばれる反応性の強いラジカルを発生する(図3)^{19,20)}。

血管での主なスーパーオキシド産生機序は、ミトコンドリア、シクロオキシゲナーゼとリポキシゲナーゼ、NADPH オキシダーゼ、キサンチンオキ

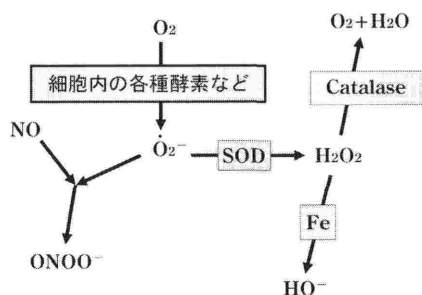


図3 血管病態に関与する活性酸素種と関連物質
(麻酔 2009; 58: S101-8 より一部改変)

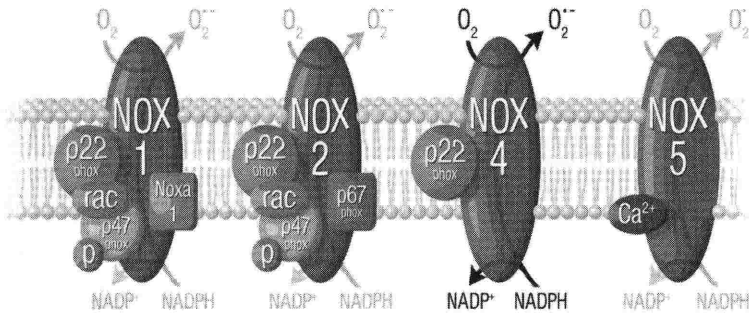
O_2^- : スーパーオキシド, SOD: スーパーオキシドディスムターゼ, H_2O_2 : 過酸化水素, $ONOO^-$: ペロキシナイトライト, HO^- : ヒドロキシラジカル

シダーゼ、および機能不全の一酸化窒素合成酵素の5種類である¹⁸⁾。ミトコンドリアでは電子伝達系の副産物として、シクロオキシゲナーゼやリポキシゲナーゼによるアラキドン酸代謝ではその際のNADPH酸化によって、細胞膜あるいは小胞体膜上のNADPHオキシダーゼ活性化でもNADPH(NADH)酸化によって、キサンチンオキシダーゼ活性化ではヒポキサンチンをキサンチンへ、さらに尿酸へ代謝するプロセスで、機能不全一酸化窒素合成酵素では余剰電子と酸素の反応によって、それぞれスーパーオキシドが産生される¹⁸⁾。

血管での主なスーパーオキシド除去系は、SODである。すなわち、ミトコンドリア内のマンガネーズSOD(MnSOD)、細胞質内の銅亜鉛SOD(CuZnSOD)そして細胞外から細胞膜に結合する形で存在するタイプのかつてはextracellular SODと呼ばれていたCuZnSODの3種類の除去系が、細胞内外のスーパーオキシドを代謝して過酸化水素へ代謝する²¹⁾。

B. 糖尿病の発症と酸化ストレス

2000年代になり、高血糖による酸化ストレス増大が指摘されるようになった。Brownleeとその共同研究者らは、ウシ培養血管内皮細胞に540mg/dlグルコースを7日間適用後に細胞内活性酸素種レベルが増大し、ポリオール経路、AGE経路およびPKC経路が同時に活性化することを明らかにした²²⁾。一方、これら経路の活性化はミトコンドリア電子伝達系複合体II阻害薬、酸化的リン酸化阻害薬およびMnSOD処置で抑制されたことから、高血糖による合併症発生の機序として、ミトコンドリア電子伝達系を介するスーパーオキシド発生が重要であることを示唆した²²⁾。酸化ストレスマーカーの一つ8-イソプロスタンの尿中レベルを2型糖尿病患者で評価した研究では、持続する高血糖の絶対値よりも血糖上昇率の方が、生体への酸化ストレスと強い相関があるとされた²³⁾。また、培養脂肪細胞を用いサイトカインあるいはステロイド惹起性インスリン抵抗性の影響を比較した研究では、これら機序が異なるインスリン抵抗性の発生はいずれも同様な細胞内の酸化ストレスレベルの上昇を伴っており、遺伝子操作による細胞質内およびミトコンドリア内のカタラーゼ、CuZnSODおよびMnSOD発現の増大はこれらインスリン抵抗性を



アゴニストによる活性化	必要	必要	不要(常に活性化)	必要
サブユニット	要	要	要	不要
特徴	細胞質サブユニット	細胞質サブユニット 顆粒球タイプ	過酸化水素を産生	Ca ²⁺ 依存性

図4 血管に存在する NADPH オキシダーゼの各種サブタイプ (J Am Col Cardiol 2008; 52: 1810-2 より一部改変)

抑制することが報告されている¹⁾。サイトカインは炎症反応惹起性であるのに対しステロイドは抗炎症性であることから、この研究結果は、発症機序が全く異なるインスリン抵抗性でも酸化ストレスがその発症に強く関与する可能性を示唆している。以上より、高血糖、特に、食後などの血糖値のサージは、ヒトを含め生体への酸化ストレスを増大させること、および、その生体への酸化ストレスは、糖尿病(インスリン抵抗性)発症の原因となるのみならず、その病態に伴う合併症の主因であることが推察される。

C. 血管への酸化ストレスと NADPH オキシダーゼ

NADPH オキシダーゼは、細胞質内の NADPH から電子を受け取り、酸素分子を一電子還元してスーパーオキシドを産生する²⁴⁾。血管における NADPH オキシダーゼのアイソフォームとしては、NOX1, NOX2, NOX4 と NOX5 の 4 種類が知られている(図4)^{25,26)}。血管の NADPH オキシダーゼは、細胞膜サブユニットである NOX および p22phox と細胞質サブユニットである p67phox, p47phox, Noxa1(NOX activator)などから構成される(図4)^{25,26)}。このうち、NOX4 はいわゆる構成的酵素の一種であり、常に活性化しており血管での過酸化水素の発生に関与する^{25,26)}。NOX1 や顆粒球に存在するタイプと類似している NOX2 は、細胞質サブユニットである rac-GTPase, p47phox および p67phox などが細胞膜上に移動し、細胞膜サブユニットの NOX および p22phox と複合体を形成し酵

素活性を発現する^{25,26)}。NOX5 はカルシウム依存性で正常では内皮細胞のみに存在するが、最近、動脈硬化病変を持つ血管平滑筋にその分布が認められ注目されている²⁵⁾。現在まで、高血圧、高血糖および糖尿病、高コレステロール血症、メタボリック症候群、高サイトカイン血症(炎症反応)、心不全、ホモシステイン血症あるいは動脈硬化などに伴う血管病態では、NADPH オキシダーゼを介する酸化ストレスがその発症機序として示唆されている²¹⁾。

D. 高血糖、糖尿病に伴う NADPH オキシダーゼ活性化とヒト血管平滑筋機能

心血管危険因子のないヒトから摘出した内皮除去大網動脈を 378mg/dl 以上のグルコースに 1 時間暴露すると血管平滑筋細胞内でスーパーオキシドが産生される^{27,28)}。一方で、培養ヒト血管平滑筋細胞を 396mg/dl グルコースに 24 時間暴露すると、細胞内の過酸化水素産生が増強する²⁹⁾。これらの研究結果の相違は、主にグルコースへの暴露時間の差による可能性がある。459mg/dl グルコースへの 1 時間暴露によりスーパーオキシド産生が増大した内皮除去ヒト大網動脈では、NADPH オキシダーゼサブユニット p47phox, rac-1 および p22phox の細胞膜での蛋白発現が増大しており、高血糖への急性暴露時に血管平滑筋細胞で NOX2 タイプの NADPH オキシダーゼが活性化することが示された(図4 および 5)²⁸⁾。

2 型糖尿病患者では健常人に比し血清中 AGE レ

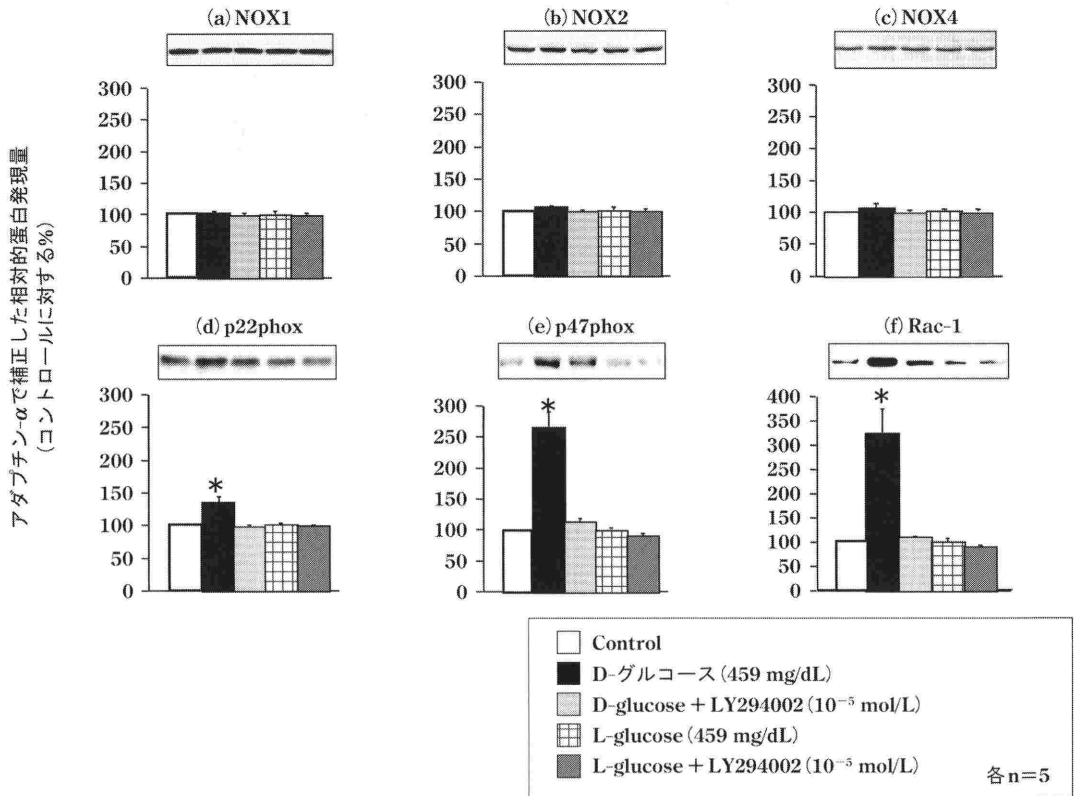


図5 D-グルコース (459mg/dL) に 1 時間暴露した摘出ヒト大網動脈平滑筋での細胞膜分画 NADPH オキシダーゼサブユニット Nox1 (a), Nox2 (b), Nox4 (c), p22phox (d), p47phox (e) および Rac-1 (f) 蛋白の発現 (Kinoshita, et al. Hypertension 2008; 52: 507-13 一部改変)

ベルが約 1.5 倍上昇しており, AGE レベルは上腕動脈の内皮機能障害と相関していることが明らかとなった³⁰⁾. 冠動脈バイパス手術を受ける糖尿病患者から摘出した大伏在静脈および内胸動脈では, スーパーオキシドは血管内皮で産生されており, その発生に NADPH オキシダーゼサブユニット p67phox, p47phox および p22phox の細胞膜発現の増大が示された³¹⁾. これらの研究結果は, ヒト 2 型糖尿病では酸化ストレスは血管内皮から発生しており, 特に NOX2 サブタイプが関与していること, 糖尿病での AGE を含む慢性的な酸化ストレスへの暴露は血管内皮機能障害を惹き起こすことを示唆している.

まとめ

これまでに提唱された高血糖病態時の血管障害発生の機序は, ポリオール, AGE, PKC およびヘキソサミンの各経路と酸化ストレスである. ヒト

血管平滑筋では, 急性の高血糖暴露は, NADPH オキシダーゼ活性化を介してスーパーオキシドを産生させ酸化ストレスによる血管障害を惹き起こすと考えられる. したがって, 酸化ストレスの制御は高血糖病態時の血管平滑筋機能保持に寄与する可能性がある. しかし, 軽度の酸化ストレスは逆に生体の抗酸化機構を増強させる働きがあり³²⁾, 酸化ストレス制御の部位やそのレベルの調節が生体を高血糖病態から保護してその予後を改善させる鍵を握ると考えられる.

文献

- 1) Houstis N, Rosen ED, Lander ES: Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 2006; 440: 944-8.
- 2) Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-20.
- 3) Brownlee M: The pathobiology of diabetic complications - A unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54: 1615-25.
- 4) Gabbay KH, Merola LO, Field RA: Sorbitol pathway:

- Presence in nerve and cord with substrate accumulation in diabetes. *Science* 1966; 151: 209–10.
- 5) Ramasamy R, Goldberg IJ: Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model. *Circ Res* 2010; 106: 1449–58.
 - 6) Nakahara M, Miyata K, Otani S, et al: A randomised, placebo controlled clinical trial of the aldose reductase inhibitor CT-112 as management of corneal epithelial disorders in diabetic patients. *Br J Ophthalmol* 2005; 89: 266–8.
 - 7) Morrison AD, Clements RS Jr, Winegrad AI: Effects of elevated glucose concentrations on the metabolism of the aortic wall. *J Clin Invest* 1972; 51: 3114–23.
 - 8) Ramana KV, Chandra D, Srivastava S, et al: Nitric oxide regulates the polyol pathway of glucose metabolism in vascular smooth muscle cells. *FASEB J* 2003; 17: 417–25.
 - 9) Srivastava S, Ramana KV, Tammali R, et al: Contribution of aldose reductase to diabetic hyperproliferation of vascular smooth muscle cells. *Diabetes* 2006; 55: 901–10.
 - 10) Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, et al: Advanced glycation end products: Sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 2006; 114: 597–605.
 - 11) Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, et al: Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21^{ras}-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 17810–4.
 - 12) Shapiro BP, Owan TE, Mohammed SF, et al: Advanced glycation end products accumulate in vascular smooth muscle and modify vascular but not ventricular properties in elderly hypertensive canines. *Circulation* 2008; 118: 1002–10.
 - 13) Geraldes P, King GL: Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res* 2010; 106: 1319–31.
 - 14) Hall JL, Matter CM, Wang X, et al: Hyperglycemia inhibits vascular smooth muscle cell apoptosis through a protein kinase C-dependent pathway. *Circ Res* 2000; 87: 574–80.
 - 15) Igarashi M, Wakasaki H, Takahara N, et al: Glucose or diabetes activates p38 mitogen-activated protein kinase via different pathways. *J Clin Invest* 1999; 103: 185–95.
 - 16) Buse MG: Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: Current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E1–8.
 - 17) Werstuck GH, Khan MI, Femia G, et al: Glucosamine-induced endoplasmic reticulum dysfunction is associated with accelerated atherosclerosis in a hyperglycemic mouse model. *Diabetes* 2006; 55: 93–101.
 - 18) Rojas A, Figueroa H, Re L, et al: Oxidative stress at the vascular wall. Mechanistic and pharmacological aspects. *Arch Med Res* 2006; 37: 436–48.
 - 19) Chrissobolis S, Faraci FM: The role of oxidative stress and NADPH oxidase in cerebrovascular disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 495–502.
 - 20) Faraci FM: Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J Appl Physiol* 2006; 100: 739–43.
 - 21) 木下浩之: 血管への酸化ストレスと麻酔薬. *麻酔* 2009; 58: S101–8.
 - 22) Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–90.
 - 23) Monnier L, Mas E, Ginet C, et al: Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA* 2006; 295: 1681–7.
 - 24) 八木秀介, 佐田政隆: 酸化ストレスと循環器疾患. *循環制御* 2008; 29: 231–40.
 - 25) Schulz E, Münzel T: NOX5, a new “radical” player in human atherosclerosis? *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1810–2.
 - 26) Bedard K, Krause KH: The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2007; 87: 245–313.
 - 27) Kinoshita H, Azma T, Nakahata K, et al: Inhibitory effect of high concentration of glucose on relaxations to activation of ATP-sensitive K⁺ channels in human omental artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2290–5.
 - 28) Kinoshita H, Matsuda N, Kaba H, et al: Roles of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt and NADPH oxidase in adenosine 5'-triphosphate-sensitive K⁺ channel function impaired by high glucose in the human artery. *Hypertension* 2008; 52: 507–13.
 - 29) Peiró C, Lafuente N, Matesanz N, et al: High glucose induces cell death of cultured human aortic smooth muscle cells through the formation of hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol* 2001; 133: 967–74.
 - 30) Tan KC, Chow WS, Ai VH, et al: Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1055–9.
 - 31) Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, et al: Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: Role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002; 105: 1656–62.
 - 32) Gao L, Mann GE: Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: A double-edged sword in redox signaling. *Cardiovasc Res* 2009; 82: 9–20.