

Deoxycorticosterone Acetate 食塩高血圧 ラットにおける一酸化窒素の役割

石井利明 大塚雄司 岡部龍也 上松瀬勝男

The role of nitric oxide in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats

Toshiaki ISHII, Yuji OTSUKA, Tatsuya OKABE, and Katsuo KANMATSUSE

Department of Cardiology, Surugadai Nihon University Hospital, Tokyo, Japan

The relationship between nitric oxide(NO) and blood pressure(BP) in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats(DOC) was investigated. Although urinary $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ (NO_x) excretion ($\text{U}_{\text{NO}_x\text{V}}$) increased 2 weeks after surgery(2W-DOC), $\text{U}_{\text{NO}_x\text{V}}$ decreased 4 weeks after surgery(4W-DOC) compared with that of the control. BP and $\text{U}_{\text{NO}_x\text{V}}$ did not change in DOC after treatment with L-arginine(Arg-DOC). Aorta from 4W-DOC and Arg-DOC had significantly decreased relaxation responses to acetylcholine. Deendothelialized aorta from 4W-DOC and Arg-DOC had significantly decreased relaxation responses to lipopolysaccharide.

These data suggest that : 1) transient increase of NO synthesis is accompanied by elevation of BP, but long-term elevation of BP decreases NO synthesis in endothelium and smooth muscle cells ; 2) L-arginine supplement has no effect on the development of hypertension nor on NO production by endothelium and smooth muscle cells in DOC.

Jpn J Nephrol 1999 ; 41 : 43-48.

Key words : deoxycorticosterone acetate, nitric oxide, L-arginine

はじめに

内皮細胞由来血管拡張因子の本体は一酸化窒素(NO)と考えられているが^{1,2)}, その高血圧における役割は明らかでない。内皮細胞ではずり応力などの物理的的刺激や acetylcholine(Ach), bradykinin, substance Pなどがそれぞれの受容体を刺激することによって、内皮細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加を介し内皮型 NO 合成酵素(eNOS)が活性化され、L-arginine を基質として NO が産生され遊離する^{3,4)}。遊離した NO は血管平滑筋の soluble guanylate cyclase を活性化し、cyclic GMP (cGMP) を増加させ血管弛緩が生じる^{5,6)}。また、平滑筋細胞でも誘導型 NO 合成酵素(iNOS)が存在し NO が産生される。高血圧では末梢血管抵抗の増加があることから NO 産生の障害が高血圧の発症や維持に関与している可能性がある。

実験的高血圧モデルにおいて内皮依存性血管弛緩が減弱し、高血圧を改善することによってその弛緩反応も正常化することが報告されている⁷⁾。ヒトにおいても本態性高血圧患者の Ach による前腕の血流量増加が低下しており、sodium nitroprusside(SNP)による血流量増加は正常血圧者と差がないことが報告されている⁸⁾。これらは高血圧によって内皮細胞が障害され、内皮細胞からの NO 放出が何らかの機序によって減少している可能性を示している。また、ヒトや実験的高血圧モデルで NO 合成酵素阻害剤の N^G -monomethyl-L-arginine(L-NMMA)の投与によって血圧が上昇することや⁹⁾, eNOS ノックアウトマウスで血圧が上昇することが報告されており¹⁰⁾, NO は高血圧の発症にも関与している可能性がある。

健常者に L-arginine を投与すると前腕の血流量が増加することや、Ach による内皮依存性血管弛緩が増大する

こと¹¹⁾, Dahl 食塩感受性ラット(Dahl-S)では L-arginine の慢性投与が高血圧発症を阻止することより¹²⁾, 高血圧発症と高血圧による内皮依存性血管弛緩低下の原因に L-arginine-NO pathway の変容が関与している可能性も考えられる。

今回, われわれは高血圧と NO の関係を明らかにするため, deoxycorticosterone acetate(DOCA) 食塩高血圧ラットを用い高血圧の進展に伴う NO の産生量, Ach による内皮依存性血管弛緩, iNOS を介する血管弛緩を測定し検討を行った。

方 法

7~8 週齢の雄性の Wistar-Kyoto rats(WKY) 36 匹を実験に用いた。エーテル麻酔下で 200 mg/kg の DOCA を含んだ silastic strip を皮下に植え込んだ後, 左腎を摘出し, 0.9% の食塩水を与え DOCA 食塩高血圧ラットを作成した。5% の L-arginine を含有した飼料を 4 週間与えた群を Arg-DOC 群とし, 標準飼料を与えた群を DOC 群とした。対照群として WKY を用いた。ラットは室温 25°C の条件下に自由摂食, 自由飲水とした。

1. 実験 1

DOCA 投与前, 投与 2 週間後, 投与 4 週間後の DOC 群(n=8), Arg-DOC 群(n=8)および対照群(n=8)の体重, 収縮期血圧を Rat Tail Manometer-Tachometer System (KN-210; 夏目製作所, 東京)により測定後, NO の代謝産物である NO₂⁻+NO₃⁻(NO_x)排泄量(U_{NO_xV})と尿中 cGMP 排泄量(U_{cGMPV})測定のため, 代謝ケージを用い 24 時間尿を採取した。尿中 NO_x の測定は autoanalyser (TCL-NOX1000; 東京化成工業, 東京)を用い Green らの方法で測定した¹³⁾。尿中 cGMP は radioimmunoassay 法で測定した。

2. 実験 2

実験 1 終了後, DOCA 投与 4 週間後の DOC 群(n=8), Arg-DOC 群(n=8), 対照群(n=8)を実験 2 に供した。ラットの胸部大動脈を摘出し, 顕微鏡下で螺旋状条片を作製した。さらにその条片を 2 分割し, 一方は内皮細胞を温存し Ach(Sigma, St. Louis, Missouri, USA)による内皮依存性血管弛緩と SNP(Sigma)による内皮非依存性血管弛緩を, 他方は内皮細胞を除去した後 *Escherichia coli* lipopolysaccharide(LPS; serotype O127:B8; Sigma)による iNOS を介する血管弛緩を測定した。螺旋状条片は 37 °C, 95% O₂, 5% CO₂ 通気下で, physiological salt solu-

tion [組成(mM/L): NaCl 130; KCl 4.7; KH₂PO₄ 1.18; MgSO₄ · 7H₂O 1.17; CaCl₂ · 2H₂O 1.6; NaHCO₃ 14.9; dextrose 5.5; CaNa ethylenediaminetetraacetic acid 0.03] を満たした tissue bath に L 字型フックを用いて装着し, force displacement transducer (UL-10GR; 日本電気三栄, 東京)を用い, 等尺性に張力の変化をレクチホリー(8K51; 日本電気三栄, 東京)に記録した。螺旋状条片は 1,500 mg の負荷にて 1 時間安定後, phenylephrine(PE; 10⁻⁵M; Sigma)を用い最大収縮を求めた。次いで PE を用い 50% 収縮させた状態で, 内皮細胞を温存した螺旋状条片を用いて Ach(10⁻⁹M~10⁻⁵M)あるいは SNP(10⁻¹⁰M~10⁻⁶M)を累積投与し血管弛緩反応を測定した。同様に, 内皮細胞を除去した螺旋状条片を用い PE により 50% の前収縮させ, LPS(100 ng/ml)を投与し 4 時間血管弛緩反応を測定した。Ach, SNP, LPS による弛緩反応は PE による収縮後の弛緩反応で評価し, Ach, SNP, LPS 投与前の PE による収縮張力に対する%で表した。

3. 実験 3

DOCA 投与 4 週間後の DOCA 食塩高血圧ラット(n=6)と WKY(n=6)の収縮期血圧を測定後, エーテル麻酔下で頸動脈にカテーテルを挿入し, 意識下で採血を行い, 心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の測定に供した。ANP は radioimmunoassay 法で測定した。結果は mean ± SEM で表した。有意差の検討は Mann-Whitney's U test を用い, 危険率が 5%未満を統計学的有意差とした。

結 果

各ラットの体重, 飼料摂取量を Table に示した。体重と飼料摂取量は各群間で差を認めなかった。

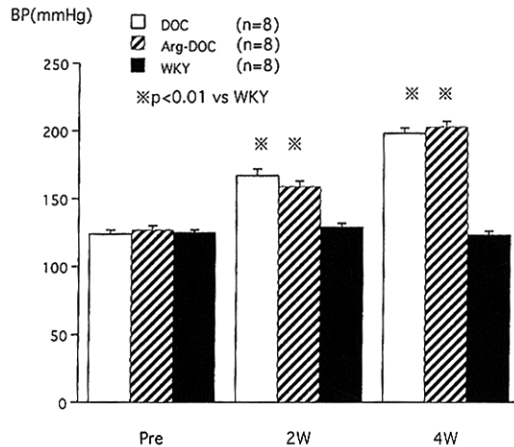
各ラットの収縮期血圧を Fig. 1 に示した。収縮期血圧は DOC 群と Arg-DOC 群では術後 2 週間には対照群に比較して有意(p<0.01)に上昇し, 術後 4 週間で両群ともにさらに上昇した。

各ラットの U_{NO_xV} を Fig. 2 に示した。DOC 群の U_{NO_xV} は対照群に比較して術後 2 週間には有意に増加したが(13.8±0.6 vs 10.9±0.6 μmol/day, p<0.01), 術後 4 週間には対照群に比較して有意に減少した(7.1±0.5 vs 11.2±1.1 μmol/day, p<0.01)。Arg-DOC 群も DOC 群と同様に対照群に比較して, 術後 2 週間には有意に増加したが(14.2±0.6 vs 10.9±0.6 μmol/day, p<0.01), 術後 4 週間には有意に減少した(7.3±0.9 vs 11.2±1.1 μmol/day, p<0.01)。Arg-DOC 群と DOC 群間では術後 2 週間, 4 週間

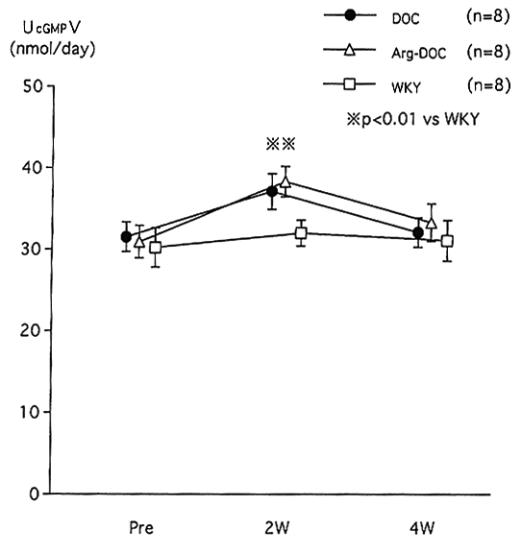
Table Body weight(BW) and food intake(FI) in DOC, Arg-DOC, and WKY

n	DOC 8			Arg-DOC 8			WKY 8		
	Pre	2W	4W	Pre	2W	4W	Pre	2W	4W
BW (g)	184 ± 2	247 ± 4	285 ± 4	178 ± 2	249 ± 5	288 ± 3	181 ± 2	255 ± 3	295 ± 4
FI (g/day)	17.1 ± 0.6	18.4 ± 0.6	16.5 ± 0.5	17.9 ± 0.5	16.6 ± 0.6	17.3 ± 0.6	16.7 ± 0.6	17.0 ± 0.5	17.5 ± 0.5

Values are expressed as mean ± SEM.

**Fig. 1. Blood pressure (BP) in DOC, Arg-DOC, and WKY**

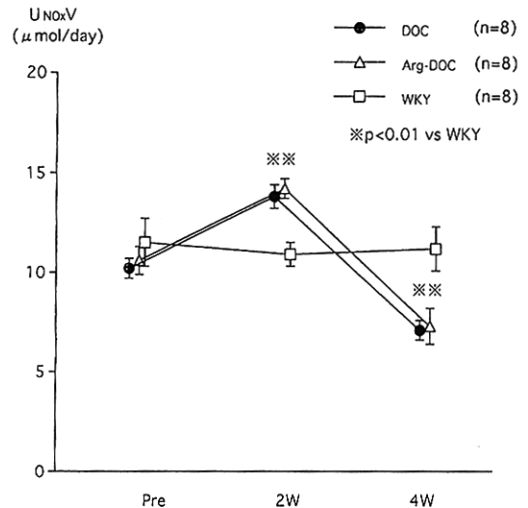
Values are expressed as mean ± SEM.

**Fig. 3. Urinary cyclic GMP (cGMP) excretion (UcGMPV) in DOC, Arg-DOC, and WKY**

Values are expressed as mean ± SEM.

ともに有意差を認めなかった。対照群の UNOXV は変化を認めなかった。

各ラットの UcGMPV を Fig. 3 に示した。DOC 群の UcGMPV は対照群に比較して術後 2 週後には有意に増加したが (37.1 ± 2.2 vs 32.0 ± 1.6 μmol/day, p < 0.01), 術後 4 週後には対

**Fig. 2. Urinary NO₂⁻ and NO₃⁻ (NOx) excretion (UNOXV) in DOC, Arg-DOC, and WKY**

Values are expressed as mean ± SEM.

照群と比較し有意差はなかった (32.1 ± 1.8 vs 31.1 ± 2.5 μmol/day, NS)。Arg-DOC 群も DOC 群と同様に対照群に比較して、術後 2 週後には有意に増加したが (38.3 ± 1.9 vs 32.0 ± 1.6 μmol/day, p < 0.01), 術後 4 週後には有意差を認めなかった (33.3 ± 2.3 vs 31.1 ± 2.5 μmol/day, NS)。Arg-DOC 群と DOC 群間では術後 2 週後, 4 週後ともに有意差を認めなかった。対照群の UcGMPV は変化を認めなかった。

Ach による血管弛緩反応を Fig. 4 に示した。DOC 群と Arg-DOC 群の胸部大動脈標本に対する Ach の血管弛緩反応は対照群に比較して有意に低下していた。Arg-DOC 群と DOC 群間では有意差を認めなかった。SNP による血管弛緩反応は、対照群と DOC 群間に差がなく、SNP が 10⁻⁸M でそれぞれ 46 ± 6%, 41 ± 5% であり、SNP が 10⁻⁷M でそれぞれ 98 ± 2%, 97 ± 2% であった。

LPS による血管弛緩反応を Fig. 5 に示した。DOC 群と Arg-DOC 群の胸部大動脈標本に対する LPS の血管弛緩反応は対照群に比較して有意に低下していた。Arg-DOC 群と DOC 群間では有意差を認めなかった。

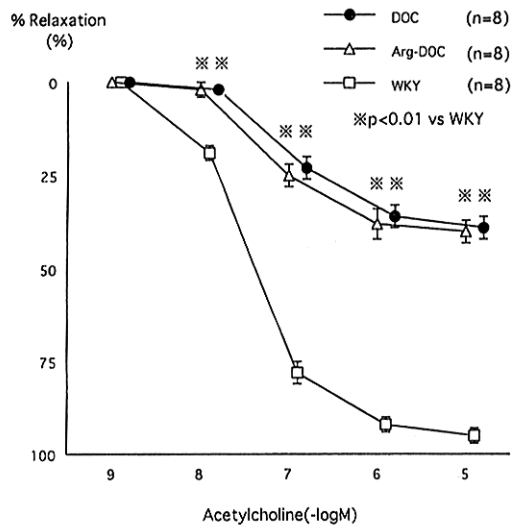


Fig. 4. Relaxation responses to acetylcholine in the thoracic aorta of DOC, Arg-DOC, and WKY

Values are expressed as mean \pm SEM.

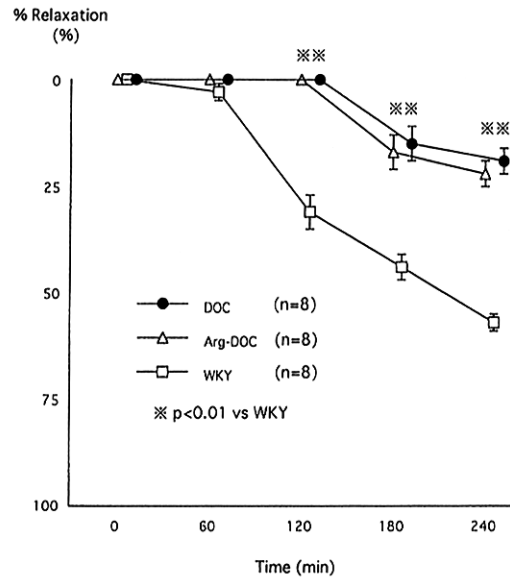


Fig. 5. Relaxation responses to lipopolysaccharide (100ng/ml) in the thoracic aorta of DOC, Arg-DOC, and WKY

Values are expressed as mean \pm SEM.

ANP は WKY が 41 ± 6 pg/ml, DOCA 食塩高血圧ラットが 647 ± 57 pg/ml であり WKY に比べ DOCA 食塩高血圧ラットが有意に ($p < 0.01$) 増加していた。

考 察

本研究では DOCA 食塩高血圧ラットを用い、血圧と NO の関連性について検討した。今回の結果より、DOCA 食塩高血圧ラットの U_{NOxV} は術後 2 週後は増加し、術後 4 週後は減少したが、L-arginine は DOCA 食塩高血圧ラットの血圧と U_{NOxV} に影響を及ぼさなかったこと、DOCA 食塩高血圧ラットの Ach による内皮依存性血管弛緩と iNOS を介する血管弛緩は低下していたが、L-arginine はこれらの血管弛緩に影響を及ぼさなかったことが示された。

多くの実験的高血圧モデル動物において NO 産生の低下が報告されているが、高血圧自然発症ラットでは NO 産生は低下していないという報告が多く、高血圧モデルにより報告は異なる^{14,15)}。DOCA は鉍質コルチコイドとしての作用により循環血液量の増加をきたすため、DOCA 食塩高血圧ラットは体液過剰型の高血圧モデルとされている。DOCA 食塩高血圧ラットにおける高血圧発症と維持の機序は様々な検討が行われているが、循環血液量の増加のみで高血圧発症を説明することは困難である。過去、末梢血管抵抗の増大や一時的な心拍出量の増加などの血行動

態の変化、交感神経系の関与、arginine-vasopressin の増加、圧受容体反射の異常などが指摘されてきたが詳細は明らかでない。最近では内皮依存性血管弛緩の低下と関連した全末梢血管抵抗の上昇、endothelin-1 の関与¹⁶⁾、腎臓内での NO 産生の低下も指摘されている¹⁷⁾。

NO は化学的に非常に不安定であり半減期も数秒と短いため直接測定することは困難である。したがって、NO の作用を検討するため代謝産物である NO_2^- と NO_3^- や産生される cGMP の測定、Ach などの agonist を用いた血管弛緩反応の測定、L-NMMA などの NOS 阻害剤を用いた方法などが行われている。生体内で産生された NO は速やかに NO_2^- と NO_3^- に代謝されるため、代謝産物である NO_2^- と NO_3^- の測定は生体内の NO 産生量を反映する有用な方法と考えられている¹⁸⁾。しかし、尿中の NOx は体内で産生された NO 以外に、飼料に由来するものも含まれるが¹⁸⁾、今回の研究では U_{NOxV} 測定時、各ラット間で飼料摂取量に差がなかったことから U_{NOxV} をラット間で比較することは、体内で産生された NO を比較することを意味している。

今回の検討では DOCA 食塩高血圧ラットの術後 2 週後は U_{NOxV} と U_{cGMPV} が増加したことから、高血圧の進展に伴い NO 産生が増加したと考えられるが、どの NOS 由来の NO が増加したかは明らかでない。しかし、eNOS 以外の iNOS、神経型 NOS ノックアウトマウスでは血圧が上昇しないことや^{10,19,20)}、eNOS が脈流や血流によるずり応

力によって活性化され、NOの産生が増加した可能性が考えられる。このことはNOが血圧や血流の恒常性を維持するため必ず応力や伸展刺激に対し拮抗的に働いている可能性を示唆している。

一方、DOCA食塩高血圧ラットの術後4週後は U_{NOxV} が減少し、AchあるいはLPSによる血管弛緩が低下したのは、SNPによる血管弛緩が対照と差がなかったことより血管平滑筋のNOに対する反応性の低下でなく、血管壁におけるNOの産生が低下したことによると考えられる。このNOの産生の減少は主にeNOSとiNOS由来と考えられ、高血圧の持続によって生じた血管壁の障害によるものと思われる。これは、術後4週後のDOCA食塩高血圧ラットの摘出血管を用いた場合、内皮依存性血管弛緩が低下していることや血管壁のcGMPが減少しているとする報告と一致する^{14,15,21)}。

U_{cGMPV} はDOCA投与2週後に増加したが4週後には減少しなかった。これはcGMPがNO以外にANPなどによって産生されること、DOCA投与4週後のDOCA食塩高血圧ラットでANPが増加したという報告があることから²²⁾、DOCA投与4週後の U_{cGMPV} の増加はANPによる可能性が考えられる。実際、今回DOCA食塩高血圧ラットのANPが増加していたことから、DOCA投与4週後の U_{cGMPV} の増加はANPによるものと考えられる。

高血圧の発症や進展に伴うNO産生の低下の原因の一つとしてL-arginineの不足が想定されている。eNOSに対するL-arginineの K_m 値は $2.9 \mu\text{mol/L}$ であるのに対し、内与細胞内のL-arginineは約 $100\sim 800 \mu\text{mol/L}$ 、最大 $2,200 \mu\text{mol/L}$ という報告があること²³⁾、L-arginineが細胞内でリサイクルされることよりL-arginineが不足することは考えにくい。また、われわれの検討でも正常血圧ラットに対し5%のL-arginineを含有した飼料を4週間経口投与した場合、血漿L-arginine濃度は対照群に比べ上昇したが(132.8 ± 4.8 vs $403.0 \pm 13.5 \text{ nmol/ml}$, $n=6$)、 U_{NOxV} や U_{cGMPV} は増加しなかった。これは血管内のL-arginine量が増加してもNO産生は増加しない可能性を示している。しかし、小腸切除と無arginine食によりL-arginineの欠乏状態が生じるとNO産生が低下し高血圧が発症するという報告や²⁴⁾、Dahl-SではL-arginineの投与にて高血圧の発症が阻止されるとの報告があり¹²⁾、L-arginineの血圧に対する作用については一定の見解が得られておらず、高血圧に対するL-arginineの影響は興味深い。今回の検討ではL-arginineを含有した飼料を慢性経口投与し、L-arginineが血圧、AchやLPSによる血管弛緩に

影響せず、DOCA食塩高血圧ラットの高血圧症と高血圧による血管弛緩の低下にL-arginineの不足が関与しないことが示された。

従来より内皮依存性血管弛緩は種、性、週齢、伝導血管と抵抗血管といった血管による差があることが明らかにされている。DOCA食塩高血圧ラットにおいても伝導血管と抵抗血管ではAchによる内皮依存性血管弛緩が異なることが報告されている。伝導血管ではAchによる内皮依存性血管弛緩が低下しているが、抵抗血管では低下している²⁵⁾、あるいは低下していないという報告がある²⁶⁾。また、L-arginineの少量長期投与が単離した腎臓においてNO産生を改善するという報告もある²⁷⁾。これらはラットの週齢、L-arginineの投与量、投与期間、投与方法、使用した血管などによりL-arginine-NO pathwayに差がある可能性を示しており、今後さらに詳細な検討が必要と考えられる。

まとめ

1) 血圧はDOC群とArg-DOC群で対照群に比較して有意に上昇したが、両群間に差を認めなかった。

2) U_{NOxV} はDOC群とArg-DOC群ともに対照群に比較して術後2週後には有意に増加したが、術後4週後には対照群に比較して有意に減少した。Arg-DOC群とDOC群間に差を認めなかった。

3) U_{cGMPV} はDOC群とArg-DOC群ともに対照群に比較して有意に増加した。Arg-DOC群とDOC群間に差を認めなかった。

4) AchとLPSによる血管弛緩反応はDOC群とArg-DOC群ともに対照群に比較して有意に低下していた。Arg-DOC群とDOC群間に差を認めなかった。

以上の成績はDOCA食塩高血圧ラットにおいて血圧の上昇に伴いNOの産生は増加するが、高血圧の持続によって内皮細胞と平滑筋細胞が障害されNO産生が低下すること、L-arginineの慢性経口投与が高血圧の発症と血管内皮および平滑細胞のNO産生に影響を及ぼさないことを示唆している。

なお本論文の要旨は、第37回日本腎臓病学会およびThe International Symposium on Endothelium-Derived Factors and Vascular Protectionにおいて発表した。

文 献

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-376.
2. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987 ; 327 : 524-526.
3. Ranjan V, Xiao Z, Diamond SL. Constitutive NOS expression in cultured endothelial cells is elevated by fluid shear stress. *Am J Physiol* 1995 ; 269 : H550-H555.
4. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988 ; 333 : 664-666.
5. Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ Res* 1983 ; 52 : 352-357.
6. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986 ; 250 : H1145-H1149.
7. Lüscher TF, Vanhoutte PM, Raji L. Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in rats with salt induced hypertension. *Hypertension* 1987 ; 9(Suppl III) : III 193-III 197.
8. Linder L, Kiowski W, Buhler FR, Luscher TF. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. *Circulation* 1990 ; 81 : 1762-1767.
9. Haynes WG, Noon JP, Walker BR, Webb DJ. Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans. *J Hypertens* 1993 ; 11 : 1375-1380.
10. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995 ; 377 : 239-242.
11. Imaizumi T, Hirooka Y, Masaki H, Hirada M, Momohara T, Takeshita A. Effect of L-arginine on forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension* 1992 ; 20 : 511-517.
12. Chen PY, Sanders PW. L-Arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1559-1567.
13. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982 ; 126 : 131-138.
14. Van de Voorde J, Leusen I. Endothelium-dependent and independent relaxation of aortic rings from hypertensive rats. *Am J Physiol* 1986 ; 250 : H711-H717.
15. Lockette W, Otsuka Y, Carretero O. The loss of endothelium-dependent vascular relaxation in hypertension. *Hypertension* 1986 ; 8(Suppl II) : II 61-II 66.
16. Larivière R, Day R, Schiffrin EL. Increased expression of endothelin-1 gene in blood vessels of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension* 1993 ; 21 : 916-920.
17. Hirata Y, Hayakawa H, Suzuki E, Kimura K, Kikuchi K, Nagano T, Hirobe M, Omata M. Direct measurements of endothelium-derived nitric oxide release by stimulation of endothelin receptors in rat kidney and its alteration in salt-induced hypertension. *Circulation* 1995 ; 91 : 1229-1235.
18. Granger DL, Hibbs JB Jr, Broadnax LM. Urinary nitrate excretion in relation to murine macrophage activation. *J Immunol* 1991 ; 146 : 1294-1302.
19. MacMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, Stevens K, Xie Q, Sokol K, Hutchinson N, Chen H, Mudgett JS. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell* 1995 ; 81 : 641-650.
20. Haug PL, Dawson TM, Brecht DS, Snyder SH, Fishman MC. Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. *Cell* 1993 ; 75 : 1273-1286.
21. Otsuka Y, Dipiero A, Hirt E, Brennaman B, Lockette W. Vascular relaxation and cGMP in hypertension. *Am J Physiol* 1988 ; 254 : H163-H169.
22. Tikkanen T, Tikkanen I, Fyhrquist F. Plasma atrial natriuretic peptide in DOCA-NaCl-treated rats. *Acta Physiol Scand* 1987 ; 129 : 151-155.
23. Baydoun AR, Emery PW, Pearson JD, Mann GE. Substrate-dependent regulation of intracellular amino acid concentrations in cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990 ; 173 : 940-948.
24. Wakabayashi Y, Yamada E, Yoshida T, Takahashi H. Deficiency of endogenous arginine synthesis provokes hypertension by exhausting substrate arginine for nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1994 ; 205 : 1391-1398.
25. Diederich D, Yang Z, Buhler FR, Luscher TF. Impaired endothelium-dependent relaxations in hypertensive resistance arteries involve cyclooxygenase pathway. *Am J Physiol* 1990 ; 258 : H445-H451.
26. White RM, Rivera CO, Davison CB. Differential contribution of endothelial function to vascular reactivity in conduit and resistance arteries from deoxycorticosterone-salt hypertensive rats. *Hypertension* 1996 ; 27 : 1245-1253.
27. Hayakawa H, Hirata Y, Suzuki E, Kimura K, Kikuchi K, Nagano T, Hirobe M, Omata M. Long-term administration of L-arginine improves nitric oxide release from kidney in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension* 1994 ; 23(part 1) : 752-756.