

特集：腎構成細胞の細胞学的特性—新しい知見を含めて

腎系球体内皮細胞の細胞特性 —系球体疾患における系球体内皮細胞の役割—

森岡 哲夫

はじめに

内皮細胞は血管およびリンパ管の内腔面を覆い、血管壁の最内層を形成する細胞である。内皮細胞は決して不活性な細胞ではなく、むしろ活発に代謝をしている細胞であり、血管の緊張性の調節、血液細胞の移動、凝固線溶系のバランス、血管透過性、免疫など多くの重要な生理学的役割を果たしている。内皮細胞はその構造、機能において非常に多様性を示し、動脈、静脈、毛細血管といった違いだけではなく、同じ毛細血管においても臓器、組織によりさまざまな違いが認められる¹⁾。

系球体内皮細胞は、腎臓の一番重要な機能である系球体濾過の最前線の細胞であり、系球体疾患の主要な障害の場でもある。本稿では、系球体内皮細胞の特徴と系球体障害との関係について解説する。

系球体血管の発生—ポドサイトの重要性

系球体の形成過程は vesicle, comma-shaped body, S-shaped body, capillary loop stage, mature glomerulus に分けられる^{2,3)}。comma-shaped 期に血管芽細胞は分化中のネフロンの周りに散在している。S 期になると、円柱状のポドサイトになると思われる細胞と近位尿細管へ分化する細胞層の間に vascular cleft と呼ばれる部分が形成されてくるが、この部位から内皮細胞が系球体に流れ込むように系球体に侵入し、それに続きメサンギウム細胞が侵入してくる^{2,4)}。系球体内に侵入した内皮細胞は凝集し索状物を形成し、余分な細胞がアポトーシスにより除去されて内腔を形成する⁵⁾。系球体の初期の毛細血管は 6~8 の毛細血管に分割さ

れていくが、この間に内皮細胞は菲薄化し fenestrae を持つようになり、成熟系球体が完成されていく⁶⁾。

系球体への血管芽細胞の侵入はポドサイトが発現する血管新生因子に依存している。ポドサイトは VEGF-A, VEGF-C, angiopoietin1, ephrin B2 などの血管新生因子を発現し、内皮細胞はそれらの受容体を発現している^{7~11)}。S 期にポドサイトは VEGF のすべてのアイソタイプを発現し、成熟系球体になるまで発現を続ける。特に VEGF-A とその受容体である VEGFR2 が重要である。ポドサイト特異的に VEGF-A 遺伝子をノックアウトすると、系球体に内皮細胞が認められないか、認められたとしても fenestrae を持たず、また、ポドサイトでの VEGF の発現量を減少させると、内皮細胞の欠損あるいは endotheliosis などの表現形をとることが示された¹²⁾。他の血管新生因子も系球体形成に必須と思われるが、ノックアウトマウスは胎児期の早期で致死性になるものが多いため、系球体特異的遺伝子ノックアウトマウスによる検討が必要であろう。

系球体内皮細胞の由来についてはいまだに議論があるが、顕微鏡・電顕による連続切片からの再構築研究や後腎原器の器官培養などの実験から、3つの可能性が考えられている^{4,13,14)}。1つは系球体原器に含まれる細胞が angioblast を形成して微小血管に分化する、2番目は系球体原器の周囲の間葉系細胞から系球体へ侵入・分化する、3番目は後腎原器外の血管が腎内に侵入し、系球体内にまで侵入していく、との説である。現在では系球体原器の周囲間葉系細胞が系球体内へ侵入・分化するとの説が有力と考えられている^{15,16)}。

系球体内皮細胞の特徴

系球体内皮細胞はきわめて薄い細胞質と多くの fenestrae を持つことが特徴である。これが血漿を効率よく大量

に濾過するうえで有効であると考えられる。有窓内皮細胞は糸球体以外でもみられるが、3つのタイプに分類される。1つは内分泌臓器、消化管、腎尿細管の内皮細胞に認められるタイプで、各 fenestrae の大きさがほぼ一定(62~68 nm)で規則的に線状に並んでおり、diaphragm(隔膜)をもつものである^{17,18)}。隔膜の構成成分として PV-1 が同定されている¹⁹⁾。この fenestrae はカベオラの融合により形成されると考えられている²⁰⁾。2番目は肝類洞や骨髄の内皮細胞にみられるもので、より大きく(100~200 nm)大きさも不均一であり^{21,22)}、隔膜を持たず PV-1 も染色されない。3番目が糸球体内皮細胞で、形態学的には1つ目のものと似ており、60~80 nm の比較的均一な fenestrae が線状に並んでいるが、隔膜を持たず PV-1 も染色されない。また、カベオラ特異蛋白である caveolin-1 のノックアウトマウスでも糸球体内皮細胞では fenestrae が観察され、形成の面でも1番目のものとは異なると考えられる²³⁾。市村らはラット胎児期には糸球体内皮細胞に PV-1 が認められるが、成熟ラット糸球体では PV-1 を発現する糸球体内皮細胞は2%程度でほとんどは PV-1 と隔膜を欠くことを報告している。さらに ATS 腎炎モデルでは PV-1 の発現が上昇することから、糸球体内皮のリモデリングと PV-1 との関連を示唆している²⁴⁾。

内皮細胞の管腔側細胞表面は endothelial cell surface layer (ESL) で覆われている。60~300 nm の厚さで、糖蛋白質、糖脂質、プロテオグリカン、グリコサミノグリカンなどから成り、細胞表面に陰性荷電を与えている。他の毛細血管とは異なり糸球体毛細血管は輸出動脈と輸入動脈という2つの動脈の間にある。このためか、糸球体内皮細胞は表面分子などにおいてかなりユニークな発現パターンをとる。VEGF の受容体である VEGFR2(Flk-1) の発現は他の組織の内皮細胞では内皮の成熟とともに消失するが、糸球体内皮細胞では成体でも発現している²⁵⁾。タイト結合蛋白の claudin-5 は糸球体輸出・輸入動脈内皮細胞では発現しているが、糸球体内皮細胞には発現していない²⁶⁾。コネクシンの発現も部位によって異なっている。マウスでは Cx37, Cx40 は輸入細動脈の内皮には発現しているが、輸出細動脈の内皮には発現していない。Cx43 は輸出入細動脈内皮に発現が認められる。しかしながら、Cx37, 40, 43 は糸球体内皮細胞には発現していない^{27~31)}。受容体型チロシンフォスファターゼも内皮細胞に認められるが、糸球体内皮細胞では DEP-1 の発現が強く認められる³²⁾。現在までのところ、他の内皮細胞には発現するが糸球体内皮細胞には発現しない分子が多く知られているが(表)、臍帯静脈内皮細胞、皮

表 正常腎臓の各微小血管内皮細胞に発現する分子

	AA	Glomerular	EA	PTC	文献
VE-cadherin	(+)	(+)	(+)	(+)	[26] マウス
CD31	(+)	(+)	(+)	(+)	[72] ヒト
CD34	(+)	(+)	(+)	(+)	[72] ヒト
DEP-1	(+)	(+)	(+)	(+)	[32] ヒト
Flk-1	(-)?	(+)	(-)?	(+)	[25] マウス
PV-1	(+)	(-)	(+)	(+)	[24] ラット
CD39	(+)	(-)	(+)	(+)	[73] ヒト
CD14	(+)?	(-)	(+)?	(+)	[73] ヒト
Claudin-5	(+)	(-)	(+)	(-)	[26] マウス
Cx37	(+)	(-)	(-)	(-)?	[31] マウス
Cx40	(+)	(-)	(-)	(-)?	[31] マウス
Cx43	(+)	(-)	(+)	(+)	[31] マウス

AA: 輸入細動脈, EA: 輸出細動脈, PTC: 傍尿細管毛細血管

膚微小血管内皮細胞に対する抗内皮細胞抗体に比べて、糸球体内皮細胞に対する抗内皮細胞抗体が移植腎の急性拒絶と相関することも報告されており³³⁾、糸球体内皮細胞に特異的な分子の発現も十分に考えられ、この検索も重要なものとなる。

糸球体内皮細胞は、その他の血管内皮細胞に比して、きわめて血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)、溶血性尿毒症症候群(HUS)に対する感受性が高いことも知られている。培養糸球体内皮細胞は、臍帯静脈内皮細胞に比べ HUS の原因の一つである Shiga toxin のレセプターを多く発現し、より強く反応することが示されている³⁴⁾。Ballermann らは糸球体内皮細胞と大動脈内皮細胞の遺伝子発現パターンを比較し、どちらか一方の細胞に強く発現する遺伝子が存在することを示した³⁵⁾。われわれもサイトカインを加えた場合の接着因子の発現に HGEC と HMv, HUVEC では差があることを見出している³⁶⁾。このように、糸球体内皮細胞には他の内皮細胞とは異なった細胞表面分子の発現が認められるが、これらが糸球体内皮細胞のどのような性質に関与しているのか詳細はわかっていない。

糸球体のバリアー機能と糸球体内皮細胞

糸球体係蹄壁は大きさと荷電による分子篩いを行う。水や小分子量物質に対しての透過性は高いが、高分子量物質に対しての透過性は低い^{37~40)}。この濾過障壁は糸球体内皮細胞、糸球体基底膜(GBM)、ポドサイトの三層構造から成る。一般的にこの濾過障壁は主に基底膜とポドサイトのスリット膜が担い、糸球体内皮細胞は fenestrae を持つため、濾過障壁の役割はほとんど果たさないと考えられている。

しかしながら従来から、1) HUS, TTP⁴¹⁾, 妊娠高血圧症⁴²⁾などでは形態学的には糸球体内皮細胞傷害以外の所見に乏しい病態で蛋白尿が認められる、2) もし内皮細胞が血清蛋白を自由に通過させるのだとすると、すぐにフィルターとしての GBM は詰まってしまう⁴⁰⁾、3) あるいは GBM に血清蛋白が見出されると考えられるが、正常状態ではアルブミンや IgG などの linear staining はみられない、4) Karnovsky らが、正常状態ではアルブミンは自由に fenestrae を通過せず内皮細胞の管腔側にとどまることを免疫電顕で示している⁴³⁾ ことなど、ある大きさ以上の血清蛋白は、正常状態の腎臓では内皮細胞の fenestrae を自由には通過できず、糸球体内皮細胞に何らかの濾過障壁としての機能があるのではとの考え方もあった。

内皮細胞は ESL をもちその表面は陰性に荷電しているが、この ESL が fenestrae を覆うことを電顕的に示した報告もある^{44,45)}。最近、Jeansson らは、GAG 分解酵素の還流により ESL の厚さが減少し、糸球体係蹄壁のアルブミンの透過性が高まることを示し、糸球体内皮細胞が分子篩いの役割を果たす可能性を示唆している⁴⁶⁾。濾過障壁を構成する糸球体内皮細胞、GBM、ポドサイトは互いに影響を及ぼすため、独立してその役割を取り上げることは難しいが、従来の考え方より、内皮細胞が積極的に関与するのかどうかの検討が蛋白尿の機序を考えるうえでも重要となろう。

糸球体内皮細胞とメサンギウム細胞

糸球体は GBM によって endocapillary 領域と extracapillary 領域に区別される。endocapillary 領域にはメサンギウム細胞と内皮細胞が認められる。メサンギウム細胞は周皮細胞の特殊型と考えられるが、他の微小血管の周皮細胞とは異なり、内皮細胞と基底膜では隔てられていない。このため、生理的・病的条件下で内皮細胞とメサンギウム細胞の相互作用は重要と考えられる。培養血管内皮細胞とメサンギウム細胞を混合培養すると、メサンギウム細胞の増殖が単独培養に比べて明らかに抑制される⁴⁷⁾。抗 Thy1.1 モノクローナル抗体 1-22-3 は、ラットに静注後片腎摘を行うことにより進行性の糸球体硬化病変モデルを作製しうるが⁴⁸⁾、この認識エピトープはメサンギウム細胞表面で内皮細胞と接触する部位に存在し⁴⁹⁾、この分子がメサンギウム細胞-内皮細胞の細胞間相互作用に重要な働きをしている可能性もある。PDGF-B はメサンギウム細胞の維持因子として重要であるが、内皮細胞は PDGF-B を産生しており、糸球体発生過程ではメサンギウム細胞の呼び込み、さらに

維持に重要な働きをしていると考えられる⁵⁰⁾。VEGF-A 発現を減少させたマウスでは、内皮細胞の異常とともに mesangiolysis を引き起こすが、これも内皮細胞の欠損によりメサンギウム細胞の維持ができなくなっているためではないかと考えられる¹²⁾。成体においても内皮細胞がメサンギウム細胞の増殖・維持の制御を行っている可能性もあり、内皮細胞-メサンギウム細胞相互作用についての更なる検討が必要と考える。

糸球体内皮細胞障害

糸球体内皮細胞に障害が認められる疾患は溶連菌感染後糸球体腎炎 (PSGN)、子癇前症や HUS, TTP などが代表的である。PSGN は溶連菌関連成分が抗原となり発症する IC disease である。われわれはこの責任抗原の一つであると考えられている PNaI_r を培養糸球体内皮細胞に加えると PECAM-1 や MCP-1 の発現を上げることを見出した。このことより、IC だけでなく抗原そのものが内皮細胞に影響を与える可能性があると考えられる⁵¹⁾。

子癇前症では内皮細胞の膨化が認められることなどから、内皮細胞障害が想定されていたがいまだ原因は不明である。近年高血圧や蛋白尿の原因は血中の過剰の sFlt-1 蛋白によるものであることが見出された^{52,53)}。この蛋白は胎盤で産生される内因性の抗血管新生因子で、VEGF や PlGF の作用を中和する働きがある。血管新生因子は内皮細胞の維持に必須のものであるため、この中和作用により内皮細胞障害が引き起こされるものと考えられる。さらに、他の内因性抗血管新生因子である endoglin も sFlt-1 と共同して内皮細胞障害に関わっていることも明らかになってきた⁵⁴⁾。抗癌治療として行われる抗 VEGF 抗体投与の副作用として高血圧や蛋白尿が認められることは、この病態と類似のことが起きている可能性が考えられる⁵⁵⁾。

糸球体内皮細胞と糸球体硬化

糸球体内皮細胞の障害が糸球体硬化の進展に関与することが示されている。実験腎炎モデルを用いて糸球体血管および内皮細胞の動態と糸球体硬化との関連を検討した結果では、進行性の病変で内皮細胞の欠落が起きていることが報告されており⁵⁶⁾、5/6 腎摘モデルにおいても糸球体内皮細胞の減少と硬化に関連があることが示されている⁵⁷⁾。われわれは、抗 Thy-1 抗体の 1-22-3 をラットに静注すると一過性のメサンギウム増殖性腎炎を引き起こすが、これに

片腎の摘出を加えると進行性の糸球体硬化病変を示すことを報告した^{48,58})。両モデルを比較すると、糸球体の血管密度が片腎摘出モデルで減少しており、VEGF, ICAM-1, VCAM-1 の発現も減少していることを見出した⁴⁸)。これらのことから、障害時に血管の回復がうまく行われないうちに硬化へ進むことが考えられる。

血管新生はその様式から発芽型 (sprouting type) と嵌入型 (intussusception type) に分けられる。発芽型血管新生は血管の分布していない部位へ血管が侵入する様式である。嵌入型は一つの血管で管腔内に隔壁が形成されて血管が2つ以上に分離するもので、血管密度を上げるときにみられる様式である。糸球体の毛細血管の成熟時には嵌入型により分割されていくと考えられる。炎症時での血管新生などの成体での血管新生は発芽型が主と考えられるが、糸球体腎炎での血管再構築時ではどうか。Notoya らは、抗 Thy-1 腎炎モデルでは嵌入型による血管再構築が行われていることを示した⁵⁹)。どちらの形式の血管新生にしても、血管再構築のためには少なくとも内皮細胞の増殖・維持が必要であり、内皮細胞の増殖がなければ十分な血管新生・再生がないと考えられよう。内皮細胞の増殖には内皮細胞およびその増殖因子が必要である。従来は既存の血管の内皮細胞が増殖し、血管新生・再生が行われると考えられてきたが、近年、骨髄に血管細胞前駆細胞が存在し、この細胞が血管新生・再生に関与していることが明らかになってきた⁶⁰)。腎炎時においても、骨髄由来細胞が糸球体内皮細胞に分化することがみられる^{61,62})。われわれは、進行性腎硬化モデルに骨髄細胞を移入することにより蛋白尿・病変を改善することを報告した⁶³) が、骨髄細胞移入により糸球体毛細血管数を増加させることができ、再生糸球体毛細血管の内皮細胞に骨髄由来の細胞があることも見出した⁶³)。骨髄細胞などを使った内皮細胞再生による硬化糸球体治療の可能性を示唆するものとする。

内皮細胞の増殖因子について、Masuda らは VEGF 投与により糸球体硬化モデルラットで糸球体血管の修復と硬化の進展の抑制が認められることを発表している⁶⁴)。さらに Mizuno らは、血管新生因子作用を持つ肝細胞増殖因子 (HGF) の投与により慢性腎疾患モデルの腎機能が改善したことを報告しており⁶⁵)、血管新生因子の投与も重要な治療方法となりうるであろう。

連が詳しく検討されている。上述したように、VEGF は糸球体の発生、とりわけ糸球体内皮細胞の発生において非常に重要な働きをしているだけでなく⁷)、糸球体疾患の発症・進展に関しても重要な役割を果たしている。Gilbert らは抗 VEGF 抗体と VEGF 受容体阻害薬を健常および高血圧ラットに投与し、これらの投与が両群ラットでの糸球体内皮細胞の減少、さらに高血圧ラットでは糸球体硬化を伴う悪性高血圧症様に変化させることを見出し、VEGF が健常および高血圧下で腎保護的に作用するとしている⁶⁶)。このように、VEGF が腎保護的に作用するとの報告が多いが、全く逆に VEGF が腎障害的に働いているとの報告もある。糖尿病性腎症や FSGS では VEGF の産生が上がっており、腎障害との関連が指摘されている⁶⁷)。ポドサイト特異的に VEGF164 の過剰発現をさせたマウスでは collapsing glomerulopathy を示した⁷)。また、VEGF トランスジェニックラビットでも hypertrophy を伴う進行性の糸球体障害を示すとされている⁶⁸)。これらのことは通常発現している量の VEGF は機能維持に必要で、それ以上でもそれ以下でも腎障害につながるといった量の問題なのか、あるいは VEGF と他の因子とのバランスの問題として捉えるほうがよいのか。これに対して Nakagawa は、内皮細胞の NO に注目した仮説を提唱している⁶⁹)。通常、VEGF は内皮細胞に働き NO 産生的に作用し、産生された NO とともに内皮細胞の栄養素として働く。NO は血管に作用し、過剰な内皮細胞、血管平滑筋細胞の増殖や、マクロファージの浸潤を抑える働きをしている。しかし、糖尿病の場合には NO bioactivity が低下しており、高い VEGF 産生により、内皮細胞の増殖、マクロファージの浸潤、さらに血管平滑筋細胞の活性化があり、糸球体障害へつながるのではないかとしている。糖尿病の場合、高血糖に伴う酸化ストレスの増大、糸球体過剰濾過、インスリン抵抗性などにより内皮細胞の機能障害が認められ⁷⁰)、この仮説は内皮細胞保護作用としての NO の役割の重要性を示したものである。NO が必ず必要であるのか、あるいは内皮細胞保護作用を持つ他の因子を加えることによってもこのバランスを回復させることができるのか、さらに FSGS などの糖尿病性腎症以外で VEGF 産生が上がっている疾患においてもこの機序が当てはまるのかなど、今後の更なる検討が待たれる。

おわりに

各種糸球体疾患の発症進展機序ならびにその終末像である糸球体硬化機序を考えるうえで、糸球体内皮細胞の持つ

糸球体内皮細胞と VEGF

血管新生因子のなかで VEGF は糸球体内皮細胞との関

役割はきわめて重要である。最初の原因を問わず糸球体硬化へ進行する共通の経路が推測されるが、この経路の最初の傷害として糸球体内皮細胞の傷害が考えられている⁷¹⁾。近年、発生工学などの進歩により心血管系やその他の臓器で血管新生・血管病態の分子メカニズムの解明が大きく前進している。しかしながら、腎臓での血管とりわけ血管内皮の研究は、その重要性にもかかわらず腎臓血管の複雑さなどから、必ずしも十分とは言えない。今後はさまざまなアプローチで糸球体血管の血管生物学的特性を明らかにすることが求められる。

文 献

- Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium i. Structure, function, and mechanisms. *Circulation Research* 2007 ; 100 : 158-173.
- Vaughan MR, Quaggin SE. How do mesangial and endothelial cells form the glomerular tuft ? *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 24-33.
- Quaggin SE, Kreidberg J. Embryology of the kidney. In : Brenner BM (ed) *Brenner & rector's the kidney*. Philadelphia : Saunders, 2008 : 3-24.
- Hyink DP, Abrahamson DR. Origin of the glomerular vasculature in the developing kidney. *Semin Nephrol* 1995 ; 15 : 300-314.
- Fierlbeck W, Liu A, Coyle R, Ballermann BJ. Endothelial cell apoptosis during glomerular capillary lumen formation *in vivo*. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; 14 : 1349-1354.
- Ballermann BJ. Glomerular endothelial cell differentiation. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1668-1671.
- Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, Gerber HP, Kikkawa Y, Miner JH, Quaggin SE. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003 ; 111 : 707-716.
- Eremina V, Quaggin SE. The role of VEGF-A in glomerular development and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004 ; 13 : 9-15.
- Breier G, Albrecht U, Sterrer S, Risau W. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. *Development* 1992 ; 114 : 521-532.
- Takahashi T, Takahashi K, Gerety S, Wang H, Anderson DJ, Daniel TO. Temporally compartmentalized expression of ephrin-b2 during renal glomerular development. *J Am Soc Nephrol* 2001 ; 12 : 2673-2682.
- Partanen TA, Arola J, Saaristo A, Jussila L, Ora A, Miettinen M, Stacker SA, Achen MG, Alitalo K. VEGF-C and VEGF-D expression in neuroendocrine cells and their receptor, VEGFR-3, in fenestrated blood vessels in human tissues. *Faseb J* 2000 ; 14 : 2087-2096.
- Eremina V, Cui S, Gerber H, Ferrara N, Haigh J, Nagy A, Ema M, Rossant J, Jothy S, Miner JH, Quaggin SE. Vascular endothelial growth factor a signaling in the podocyte-endothelial compartment is required for mesangial cell migration and survival. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 724-735.
- Hyink DP, Tucker DC, St John PL, Leardkamolkarn V, Accavitti MA, Abrass CK, Abrahamson DR. Endogenous origin of glomerular endothelial and mesangial cells in grafts of embryonic kidneys. *Am J Physiol* 1996 ; 270 : F886-899.
- Saxen L. *Organogenesis of the kidney*. Cambridge : Cambridge University Press, 1987.
- Abrahamson DR, Robert B, Hyink DP, St John PL, Daniel TO. Origins and formation of microvasculature in the developing kidney. *Kidney Int (Suppl)* 1998 ; 67 : S7-11.
- Naruse K, Fujieda M, Miyazaki E, Hayashi Y, Toi M, Fukui T, Kuroda N, Hiroi M, Kurashige T, Enzan H. An immunohistochemical study of developing glomeruli in human fetal kidneys. *Kidney Int* 2000 ; 57 : 1836-1846.
- Clementi F, Palade GE. Intestinal capillaries. I . Permeability to peroxidase and ferritin. *J Cell Biol* 1969 ; 41 : 33-58.
- Simionescu M, Simionescu N, Palade GE. Morphometric data on the endothelium of blood capillaries. *J Cell Biol* 1974 ; 60 : 128-152.
- Stan RV, Kubitz M, Palade GE. Pv-1 is a component of the fenestral and stomatal diaphragms in fenestrated endothelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 13203-13207.
- Chen J, Braet F, Brodsky S, Weinstein T, Romanov V, Noiri E, Goligorsky MS. VEGF-induced mobilization of caveolae and increase in permeability of endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002 ; 282 : C1053-1063.
- Wisse E. An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and kupffer cells. *J Ultrastruct Res* 1972 ; 38 : 528-562.
- Bankston PW, Pino RM. The development of the sinusoids of fetal rat liver : Morphology of endothelial cells, kupffer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids. *Am J Anat* 1980 ; 159 : 1-15.
- Sorensson J, Fierlbeck W, Heider T, Schwarz K, Park DS, Mundel P, Lisanti M, Ballermann BJ. Glomerular endothelial fenestrae *in vivo* are not formed from caveolae. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 2639-2647.
- Ichimura K, Stan RV, Kurihara H, Sakai T. Glomerular endothelial cells form diaphragms during development and pathologic conditions. *J Am Soc Nephrol* 2008. doi : 10-1681/ASN • 2007101138.
- Feng D, Nagy JA, Brekken RA, Pettersson A, Manseau EJ, Pyne K, Mulligan R, Thorpe PE, Dvorak HF, Dvorak AM. Ultrastructural localization of the vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) receptor-2

- (FLK-1, KDR) in normal mouse kidney and in the hyperpermeable vessels induced by VPF/VEGF-expressing tumors and adenoviral vectors. *J Histochem Cytochem* 2000 ; 48 : 545-556.
26. Morita K, Sasaki H, Furuse M, Tsukita S. Endothelial claudin : Claudin-5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. *J Cell Biol* 1999 ; 147 : 185-194.
 27. Haefliger JA, Demotz S, Braissant O, Suter E, Waeber B, Nicod P, Meda P. Connexins 40 and 43 are differentially regulated within the kidneys of rats with renovascular hypertension. *Kidney Int* 2001 ; 60 : 190-201.
 28. Haefliger JA, Nicod P, Meda P. Contribution of connexins to the function of the vascular wall. *Cardiovasc Res* 2004 ; 62 : 345-356.
 29. Hwan Seul K, Beyer EC. Heterogeneous localization of connexin40 in the renal vasculature. *Microvasc Res* 2000 ; 59 : 140-148.
 30. Takenaka T, Inoue T, Kanno Y, Okada H, Meaney KR, Hill CE, Suzuki H. Expression and role of connexins in the rat renal vasculature. *Kidney Int* 2008 ; 73 : 415-422.
 31. Zhang J, Hill CE. Differential connexin expression in preglomerular and postglomerular vasculature : Accentuation during diabetes. *Kidney Int* 2005 ; 68 : 1171-1185.
 32. Takahashi T, Takahashi K, Mernaugh R, Drozdoff V, Sipe C, Schoecklmann H, Robert B, Abrahamson DR, Daniel TO. Endothelial localization of receptor tyrosine phosphatase, ECRTP/DEP-1, in developing and mature renal vasculature. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 : 2135-2145.
 33. Nakagawa Y, Saito K, Morioka T, Tomita Y, Takahashi K, Oite T. The clinical significance of antibody to vascular endothelial cells after renal transplantation. *Clin Transplant* 2002 ; 16 (Suppl 8) : 51-57.
 34. Nestoridi E, Tsukurov O, Kushak RI, Ingelfinger JR, Grabowski EF. Shiga toxin enhances functional tissue factor on human glomerular endothelial cells : Implications for the pathophysiology of hemolytic uremic syndrome. *J Thromb Haemost* 2005 ; 3 : 752-762.
 35. Sengoelge G, Luo W, Fine D, Perschl AM, Fierlbeck W, Haririan A, Sorensson J, Rehman TU, Hauser P, Trevick JS, Kulak SC, Wegner B, Ballermann BJ. A sage-based comparison between glomerular and aortic endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005 ; 288 : F1290-1300.
 36. Murakami S, Morioka T, Nakagawa Y, Suzuki Y, Arakawa M, Oite T. Expression of adhesion molecules by cultured human glomerular endothelial cells in response to cytokines : Comparison to human umbilical vein and dermal microvascular endothelial cells. *Microvasc Res* 2001 ; 62 : 383-391.
 37. Farquhar MG. The glomerular basement membrane : Not gone, just forgotten. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 2090-2093.
 38. Farquhar MG, Palade GE. Glomerular permeability. II. Ferritin transfer across the glomerular capillary wall in nephrotic rats. *J Exp Med* 1961 ; 114 : 699-716.
 39. Farquhar MG, Wissig SL, Palade GE. Glomerular permeability. I. Ferritin transfer across the normal glomerular capillary wall. *J Exp Med* 1961 ; 113 : 47-66.
 40. Smithies O. Why the kidney glomerulus does not clog : A gel permeation/diffusion hypothesis of renal function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 4108-4113.
 41. Besbas N, Karpman D, Landau D, Loirat C, Proesmans W, Remuzzi G, Rizzoni G, Taylor CM, Van de Kar N, Zimmerhackl LB. A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 423-431.
 42. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia : A renal perspective. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 2101-2113.
 43. Ryan GB, Karnovsky MJ. Distribution of endogenous albumin in the rat glomerulus : Role of hemodynamic factors in glomerular barrier function. *Kidney Int* 1976 ; 9 : 36-45.
 44. Rostgaard J, Qvortrup K. Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. *Microvasc Res* 1997 ; 53 : 1-13.
 45. Rostgaard J, Qvortrup K. Sieve plugs in fenestrae of glomerular capillaries—site of the filtration barrier ? *Cells Tissues Organs* 2002 ; 170 : 132-138.
 46. Jeansson M, Haraldsson B. Morphological and functional evidence for an important role of the endothelial cell glycocalyx in the glomerular barrier. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006 ; 290 : F111-116.
 47. Saeki T, Morioka T, Arakawa M, Shimizu F, Oite T. Modulation of mesangial cell proliferation by endothelial cells in coculture. *Am J Pathol* 1991 ; 139 : 949-957.
 48. Wada Y, Morioka T, Oyanagi-Tanaka Y, Yao J, Suzuki Y, Gejyo F, Arakawa M, Oite T. Impairment of vascular regeneration precedes progressive glomerulosclerosis in anti-thy1 glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002 ; 61 : 432-443.
 49. Morioka T, Yao J, Suzuki Y, Oite T. The characterization of a specific thy-1 molecular epitope expressed on rat mesangial cells. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 2214-2223.
 50. Bjarnegard M, Enge M, Norlin J, Gustafsdottir S, Fredriksson S, Abramsson A, Takemoto M, Gustafsson E, Fassler R, Betsholtz C. Endothelium-specific ablation of PDGFB leads to pericyte loss and glomerular, cardiac and placental abnormalities. *Development* 2004 ; 131 : 1847-1857.
 51. Khan F, Yamakami K, Mahmood J, Li B, Kikuchi T, Kumagai N, Morioka T, Yoshizawa N, Oite T. Alterations of cell adhesion molecules in human glomerular endothelial cells in response to nephritis-associated plasminogen receptor. *Nephron Exp Nephrol* 2007 ; 105 : e53-64.
 52. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 672-683.

53. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003 ; 111 : 649-658.
54. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 992-1005.
55. Widakowich C, de Castro G, Jr, de Azambuja E, Dinh P, Awada A. Review : Side effects of approved molecular targeted therapies in solid cancers. *Oncologist* 2007 ; 12 : 1443-1455.
56. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Rare glomerular capillary regeneration and subsequent capillary regression with endothelial cell apoptosis in progressive glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1997 ; 151 : 1231-1239.
57. Lee LK, Meyer TW, Pollock AS, Lovett DH. Endothelial cell injury initiates glomerular sclerosis in the rat remnant kidney. *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 953-964.
58. Cheng QL, Orikasa M, Morioka T, Kawachi H, Chen XM, Oite T, Shimizu F. Progressive renal lesions induced by administration of monoclonal antibody 1-22-3 to unilaterally nephrectomized rats. *Clin Exp Immunol* 1995 ; 102 : 181-185.
59. Notoya M, Shinosaki T, Kobayashi T, Sakai T, Kurihara H. Intussusceptive capillary growth is required for glomerular repair in rat thy-1.1 nephritis. *Kidney Int* 2003 ; 63 : 1365-1373.
60. Schattman GC, Dunnwald M, Jiao C. Biology of bone marrow-derived endothelial cell precursors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007 ; 292 : H1-18.
61. Rookmaaker MB, Smits AM, Tolboom H, Van't Wout K, Martens AC, Goldschmeding R, Joles JA, Van Zonneveld AJ, Grone HJ, Rabelink TJ, Verhaar MC. Bone-marrow-derived cells contribute to glomerular endothelial repair in experimental glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2003 ; 163 : 553-562.
62. Ikarashi K, Li B, Suwa M, Kawamura K, Morioka T, Yao J, Khan F, Uchiyama M, Oite T. Bone marrow cells contribute to regeneration of damaged glomerular endothelial cells. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1925-1933.
63. Li B, Morioka T, Uchiyama M, Oite T. Bone marrow cell infusion ameliorates progressive glomerulosclerosis in an experimental rat model. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 323-330.
64. Masuda Y, Shimizu A, Mori T, Ishiwata T, Kitamura H, Ohashi R, Ishizaki M, Asano G, Sugisaki Y, Yamanaka N. Vascular endothelial growth factor enhances glomerular capillary repair and accelerates resolution of experimentally induced glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2001 ; 159 : 599-608.
65. Mizuno S, Kurosawa T, Matsumoto K, Mizuno-Horikawa Y, Okamoto M, Nakamura T. Hepatocyte growth factor prevents renal fibrosis and dysfunction in a mouse model of chronic renal disease. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 1827-1834.
66. Advani A, Kelly DJ, Advani SL, Cox AJ, Thai K, Zhang Y, White KE, Gow RM, Marshall SM, Steer BM, Marsden PA, Rakoczy PE, Gilbert RE. Role of VEGF in maintaining renal structure and function under normotensive and hypertensive conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 14448-14453.
67. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Zeeuw AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int* 2004 ; 65 : 2003-2017.
68. Liu E, Morimoto M, Kitajima S, Koike T, Yu Y, Shiiki H, Nagata M, Watanabe T, Fan J. Increased expression of vascular endothelial growth factor in kidney leads to progressive impairment of glomerular functions. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 2094-2104.
69. Nakagawa T. Uncoupling of the VEGF-endothelial nitric oxide axis in diabetic nephropathy : An explanation for the paradoxical effects of VEGF in renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ; 292 : F1665-1672.
70. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction : Molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006 ; 113 : 1888-1904.
71. Johnson RJ. What mediates progressive glomerulosclerosis? The glomerular endothelium comes of age. *Am J Pathol* 1997 ; 151 : 1179-1181.
72. Puztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem* 2006 ; 54 : 385-395.
73. Fleming S, Jones DB. Antigen heterogeneity of renal endothelium. *J Pathol* 1989 ; 158 : 319-323.