

心不全モデルラットにおける各種利尿薬の心機能改善効果

田中裕子,^a 渡辺賢一,^{*a} 張馬梅蓄,^a Punniyakoti Veeraveedu Thanikachalam,^a
山口賢一,^b 太刀川 仁,^c 小玉 誠,^c 相澤義房^c

Effects of Various Diuretics on Cardiac Function in Rats with Heart Failure

Hiroko TANAKA,^a Kenichi WATANABE,^{*a} Meilei HARIMA,^a Punniyakoti Veeraveedu THANIKACHALAM,^a
Ken'ichi YAMAGUCHI,^b Hitoshi TACHIKAWA,^c Makoto KODAMA,^c and Yoshifusa AIZAWA^c
^aDepartment of Clinical Pharmacology, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences,
265-1 Higashijima, Akiha-ku, Niigata 956-8603, Japan, ^bDepartment of Homeostatic Regulation
and Development, Graduate School of Medical and Dental Sciences Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences, and ^cFirst Department of
Medicine, Niigata University School of Medicine, 1-757 Asahimachi,
Chou-ku, Niigata 951-8510, Japan

(Received February 27, 2009; Accepted April 16, 2009; Published online April 22, 2009)

Torsemide is a long-acting loop diuretic that combines the effects of both furosemide and spironolactone. It has been reported that torsemide but not furosemide might attenuate myocardial remodeling accompanied by left ventricular (LV) dysfunction. However, nothing is known about the effect of torsemide, long-acting loop diuretic and spironolactone, an aldosterone receptor antagonist in a rat model of chronic heart failure (CHF). Therefore, we compared the therapeutic effects of torsemide, furosemide and spironolactone on the progression of LV remodeling in a rat model of CHF after experimental autoimmune myocarditis (EAM). EAM was elicited in Lewis rats by immunization with porcine cardiac myosin. Twenty-eight days after immunization, rats were treated for 28 days with torsemide, furosemide and spironolactone. Diuretic actions, heart weight/body weight, heart rate, mean blood pressure, myocardial function by echocardiography, cardiac fibrosis, myocyte diameter and cardiac aldosterone synthetase (CYP11B2) were evaluated. Increased cardiac CYP11B2, severe LV remodeling and resultant cardiac dysfunction was found in CHF rats, whereas decreased cardiac CYP11B2, less remodeling and improvement of cardiac function were found in torsemide- and spironolactone-treated CHF rats. Our results indicate that torsemide and spironolactone treatment significantly improved cardiac function and LV remodeling compared with furosemide treatment.

Key words—torsemide; furosemide; spironolactone; fibrosis; cardiac remodeling; heart failure

緒 論

慢性心不全 (chronic heart failure; CHF) とは、慢性的な心筋障害により心臓のポンプ機能が低下し、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血液量を拍出できない状態であり、肺又は体静脈系にうっ血をきたし生活機能に障害を生じた病態である。¹⁾ 従来 CHF は、血行動態的諸指標や肺体うっ血の有無により診断・評価されていた。しかし、近年の病態解析の進歩により、CHF では交感神経や

レニン-アンジオテンシンアルドステロン系 (renin-angiotensin-aldosterone system; RAAS) に代表される神経内分泌因子が著しく亢進し、その病態を悪化させていることが判明してきた。¹⁾

ループ利尿薬は、強力な水及び電解質の排泄作用により、急性心不全や慢性心不全増悪に伴う肺うっ血や浮腫症状の軽減に有効であるが、同時にカリウム排泄量の増大に伴う低カリウム血症が誘起される。¹⁾ トラセミド (ルプラック®) は、ループ利尿作用に加え、抗アルドステロン作用に由来するカリウム保持効果を併せ持った新しいタイプの利尿薬である。²⁾ トラセミドは慢性心不全患者を対象とした大規模臨床試験において、心臓死の発生率をフロセミド (ラシックス®) よりも大幅に減少させた。³⁾ これ

^a新潟薬科大学薬学部臨床薬理学研究室, ^b新潟大学大学院医歯学総合研究科基礎体液生理学分野, ^c新潟大学医学部第一内科

*e-mail: watanabe@nupals.ac.jp

は、CHF モデルラットでも示されており、⁴⁾ この作用の一部は、トラセミドの抗アルドステロン作用に起因するものと考えられる。Uchida らは、ラットの腎臓におけるアルドステロン受容体への結合実験を行い、トラセミドと、抗アルドステロン薬であるスピロノラクトン（アルダクトン A[®]）の代謝活性体のカンレノ酸カリウムが同量で同程度のアルドステロン拮抗作用を示すことを報告している。⁵⁾ しかしながら、トラセミドの抗アルドステロン作用や心不全病態モデルでの詳細は不明である。

RAAS において、肝臓で産生されたアンジオテンシノーゲンは、腎臓傍糸球体細胞から分泌されるレニンによりアンジオテンシン I に変換され、アンジオテンシン I は主に肺におけるアンジオテンシン変換酵素（angiotensin-converting enzyme; ACE）の作用でアンジオテンシン II となる。アンジオテンシン II は全身の血管を収縮させ、副腎においてアルドステロンを分泌させる。これが従来の RAAS の考え方であり、全身を巡って形成される内分泌系として認識されてきた。⁶⁾ しかし、近年、様々な臓器で RAAS の構成要素が同定され、局所 RAAS の存在が明らかにされている。^{7,8)} また、Survival and Ventricular Enlargement; SAVE）Study においては、血漿レニン活性と、心不全の指標となる心房性（A 型）ナトリウムペプチド（atrial natriuretic peptide; ANP）に相関が認められなかったにも関わらず、ACE 阻害薬、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬（angiotensin receptor blocker; ARB）が心不全患者の症状、心機能、生存率を改善した。⁹⁾ このことから、CHF において、組織 RAAS の活性化が心筋リモデリングに深く関与しており、循環 RAAS とは独立して存在することが示唆されている。

アンジオテンシン II は、筋細胞肥大や線維化・アポトーシス刺激などにより最終的に心筋リモデリングを誘導し、その結果更なる心機能の悪化を誘導することが以前から示されてきた。¹⁰⁾ しかし、ACE 阻害薬や ARB の長期投与を行うと、血漿アンジオテンシン II 濃度は抑制されているにも関わらず、血漿アルドステロン濃度は抑制されないこと（アルドステロンエスケープ現象）が報告され、¹¹⁾ このエスケープしたアルドステロンによる臓器障害が最近注目されている。さらに、Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES) により、慢性心不全患者に

おける抗アルドステロン薬の有用性が報告されたことで、心不全の病態の中でアルドステロンの関与が注目されるようになった。¹²⁾ アルドステロンは、心肥大の程度や血圧上昇とは独立して、心筋線維化を誘導することが明らかにされており、^{10,13)} 心肥大や心筋線維化は心室リモデリングをきたし、最終的には収縮機能と拡張機能の低下をきたし心不全に至ると考えられる。¹⁴⁾

本研究は、心不全病態モデルラットにおいてトラセミドの抗アルドステロン効果による病態改善を明らかにするために、トラセミド、一般的なループ利尿薬であるフロセミド、抗アルドステロン薬であるスピロノラクトン、これら 3 種類の利尿薬が心機能に及ぼす影響を比較検討した。

実験方法

1. 使用動物 9 週齢雄 Lewis ラットの両下肢にブタ心臓ミオシンを皮下注射し、自己免疫性心筋炎を発症させ、心不全モデルラットを作成した。ブタ心臓ミオシンは、所定の方法に従って心室筋から抽出した。¹⁵⁾ ミオシン投与 28 日後の心不全モデルラットを、無治療群（vehicle; Group V, $n=10$ ）、フロセミド 30 及び 100 mg/kg/day 投与群（furosemide; Group F30, $n=10$; Group F100, $n=10$ ）、トラセミド 3 及び 10 mg/kg/day 投与群（torasemide; Group T3, $n=10$; Group T10, $n=10$ ）、スピロノラクトン 3 及び 10 mg/kg/day 投与群（spironolactone; Group S3, $n=10$; Group S10, $n=10$ ）に分けた。また、同週齢 Lewis 雄ラットを健常群（normal; Group N, $n=9$ ）として実験を行った。

2. 投与方法 ミオシン投与 28 日後から 28 日間、無治療群には、0.1 mol Na₂CO₃/0.1 mol HCl/0.3% NaCl を、治療群にはそれぞれの薬を経口的に投与した。実験で用いられた薬の投与量は、トラセミド 3 mg/kg とフロセミド 30 mg/kg が同程度のナトリウム利尿作用を示すことが報告されているので本実験も同用量を用いた。¹⁶⁾ またトラセミド 10 mg/kg とカンレノ酸カリウム 10 mg/kg が同用量で同程度のアルドステロン受容体結合性を持つことが報告されているので、⁵⁾ スピロノラクトンはトラセミドと同量に設定した。本実験は、新潟薬科大学制定の動物実験指針に基づく動物実験管理委員会の承認の下に行った。

3. 尿量測定・分析 治療開始1日目に、各群の動物を1匹ずつメタボリックケージに入れ、5時間の蓄尿を行い、尿サンプルを採取した。尿量測定後、電解質自動分析器(ATWill EA-06)で薬物投与後5時間の尿サンプル中のナトリウム・カリウム量を測定した。

4. 心行動態と心エコー測定 治療開始28日目に血行動態パラメーターの評価として、0.5%ハロタンの麻酔下でラットの外頸静脈と大腿動脈からそれぞれカテーテルを挿入し、平均血圧(mean blood pressure; MBP)を測定した。さらに心エコーのMモード法により左室拡張末期径(left ventricular dimension in diastole; LVDd)、左室収縮末期径(left ventricular dimension in systole; LVDs)、拡張末期左室後壁厚(left ventricular posterior wall thickness in diastole; LVPWd)を測定し、左室拡張末期径と左室収縮末期径から心駆出率(% ejection fraction; %EF)・左室内径短縮率(% fractional shortening; %FS)を測定した。

6. 心臓の線維化面積比 心エコー測定後心臓を摘出した。10%ホルマリンで固定された心臓の標本にパラフィン包埋を行い、心臓心室中域のパラフィン切片を作成し、Azan-Mallory法による染色を行った。線維化領域はカラーイメージアナライザーを用いて測定評価した。結果は全体の領域に対する線維化の割合で表わした。⁴⁾

7. 心筋細胞径 心臓心室中域のパラフィン切片をHematoxylin-Eosin (HE)染色した。心筋細胞径は染色された細胞の横径を表した。

8. 心臓のタンパク発現量測定 心尖部をポルトロン処理し、Bicinchoninic acid (BCA)法で総タンパク濃度を定量した。Cytochrome p450 aldosterone synthase (CYP11B2)のタンパク発現レベルを同定するために、タンパク抽出物(30 µg)を10%SDS-PAGEで電気泳動し、ニトロセルロース膜上に転写した。ニトロセルロースは、5%スキムミルクでブロッキングし、1次抗体(1:200)によるインキュベーションを4°Cで一晩行った。次に、2次抗体としてHorseradish peroxidase (HRP)標識抗マウス抗体を用い室温で1時間インキュベートし、ECLによる化学発光(Chemiluminescence)をX線フィルムに感光させた。感光したバンドは、Scion Imageを用いて数量化評価した。また、内部

標準であるGlyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)も、1次抗体(1:1000)、2次抗体(1:5000)を用い、同様に定量した。CYP11B2発現量は、GAPDHによって標準化した。なお、タンパク定量は3剤のうち高用量群のみを行った。

9. 統計処理 数値は平均値±標準誤差で表し、統計学的検討には一元配置分散分析、Bonferroni法を用い、*p*値が0.05未満を有意とした。

実験結果

1. 利尿作用 治療開始1日目において、5時間の蓄尿で健常群と心不全無治療群で尿量の変化はみられなかった。健常群・無治療群に比べてフロセミド・トラセミド群は用量依存的に有意に体重当たりの尿量を増加させた。さらに、両薬は10 mg/kg/dayでほぼ同等の利尿効果を示した。一方、スピロラクトンは治療開始1日目において、5時間の蓄尿で健常群・無治療群と比べて体重当たりの尿量を変化させなかった(Fig. 1a)。尿中ナトリウム排泄量はフロセミド・トラセミド投与1日目において、健常群・無治療群に比べて用量依存的に有意に増加し、トラセミド投与群よりもフロセミド投与群で更に増加した(Fig. 1b)。尿中カリウム排泄量の有意な上昇は、投与開始1日目ではフロセミド・トラセミド投与群にみられた(Fig. 1c)。尿中ナトリウム/カリウムは、フロセミド投与群とトラセミド投与群で、健常群・無治療群・スピロラクトン投与群と比べて有意に増加した(Fig. 1d)。

2. 心体重比 体重は、健常群と比較して、無治療群及び治療群で有意に減少した。トラセミド(10 mg/kg)は、無治療群、フロセミド(30 mg/kg)群、スピロラクトン投与群と比較して有意に体重を減少させた。フロセミド(100 mg/kg)はスピロラクトン投与群と比較して、有意に体重を減少させた。心体重比は、健常群と比較して無治療群で有意に増加した。トラセミド・スピロラクトン投与群では無治療群と比べて有意に用量依存的に心体重比が減少し、トラセミド(10 mg/kg)投与群は健常群のレベルまで改善した(Fig. 2a, b)。

3. 心行動態指標値 心拍数は、健常群、無治療群、治療群の間で有意な変化はみられなかった。MBPは、健常群と比較してフロセミド投与群で有

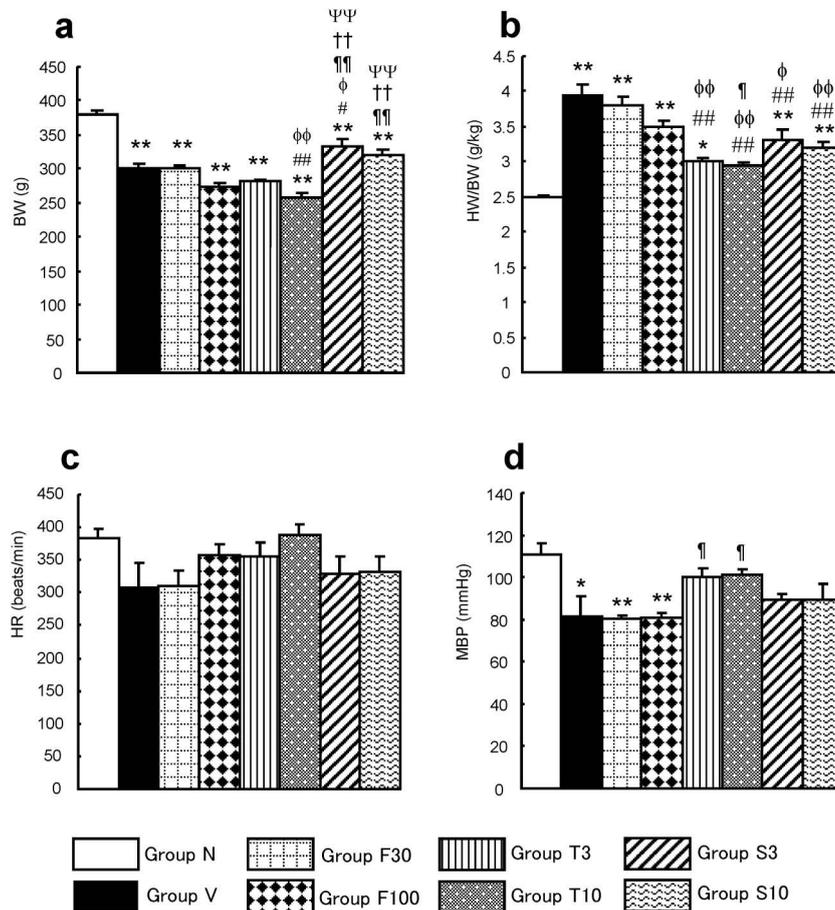


Fig. 2. Effects of Furosemide, Torasemide and Spironolactone on Body Weight (BW, a), Heart Weight/Body Weight (H/W, b), Heart Rate (HR, c) and Mean Blood Pressure (MBP, d) in Rats with CHF

Values are presented as the mean \pm S.E. of 9–10 rats. * p <0.05, ** p <0.01 vs Group N; † p <0.05, †† p <0.01 vs Group V; ‡ p <0.05, ‡‡ p <0.01 vs Group F30; § p <0.05, §§ p <0.01 vs Group F100; ¶ p <0.01 vs Group T3; ¶¶ p <0.01 vs Group T10. Group N, normal rats; Group V, rats treated with vehicle; Group F30, rats treated with furosemide (30 mg/kg/day); Group F100, rats treated with furosemide (100 mg/kg/day); Group T3, rats treated with torasemide (3 mg/kg/day); Group T10, rats treated with torasemide (10 mg/kg/day); Group S3, rats treated with spironolactone (3 mg/kg/day); Group S10, rats treated with spironolactone (10 mg/kg/day).

て無治療群で有意に増加し，トラセミド及びスピロノラクトン投与群で，無治療群と比べて有意に用量依存的に低下した (Fig. 5)。

考 察

本研究に使用された自己免疫性心筋炎モデルラットは慢性期に拡張型心筋症様の心筋構築を示す。ミオシンによる自己免疫 21 日目で炎症はピークに達し，その後炎症は後退する。¹⁵⁾ すると次は炎症後の心臓リモデリング，線維化が次第に進行し心臓は拡張性肥大を示すとともに心不全になる。¹⁵⁾ 本研究では，自己免疫 28 日目から薬物治療を開始したので，炎症性サイトカイン関与は除外してよいと考えられる。臨床の用量比で同等の利尿効果を示すフロセミド (100 mg/kg) とトラセミド (10 mg/kg) に

おいて，CHF モデルラットにおける %EF・%FS など心行動態パラメーターの改善は，トラセミド投与群のみにみられた。また，抗アルドステロン薬であるスピロノラクトン (10 mg/kg) はトラセミドとフロセミドに対する臨床用量比の約 1/10 の量を用いたので利尿効果を示さなかったが，%EF・%FS の改善がみられた。このことから，心機能の改善効果は，利尿作用よりも神経液性ホルモンやアルドステロンの抑制に寄与する可能性が高いことが考えられる。本研究で，スピロノラクトンはフロセミドと比較して高い心機能改善効果を持ち，さらにトラセミドはスピロノラクトンよりも高い心機能改善効果をもたらす可能性が示唆された。よって，トラセミドは慢性心不全の治療において非常に有効な薬の 1 つと考えられる。

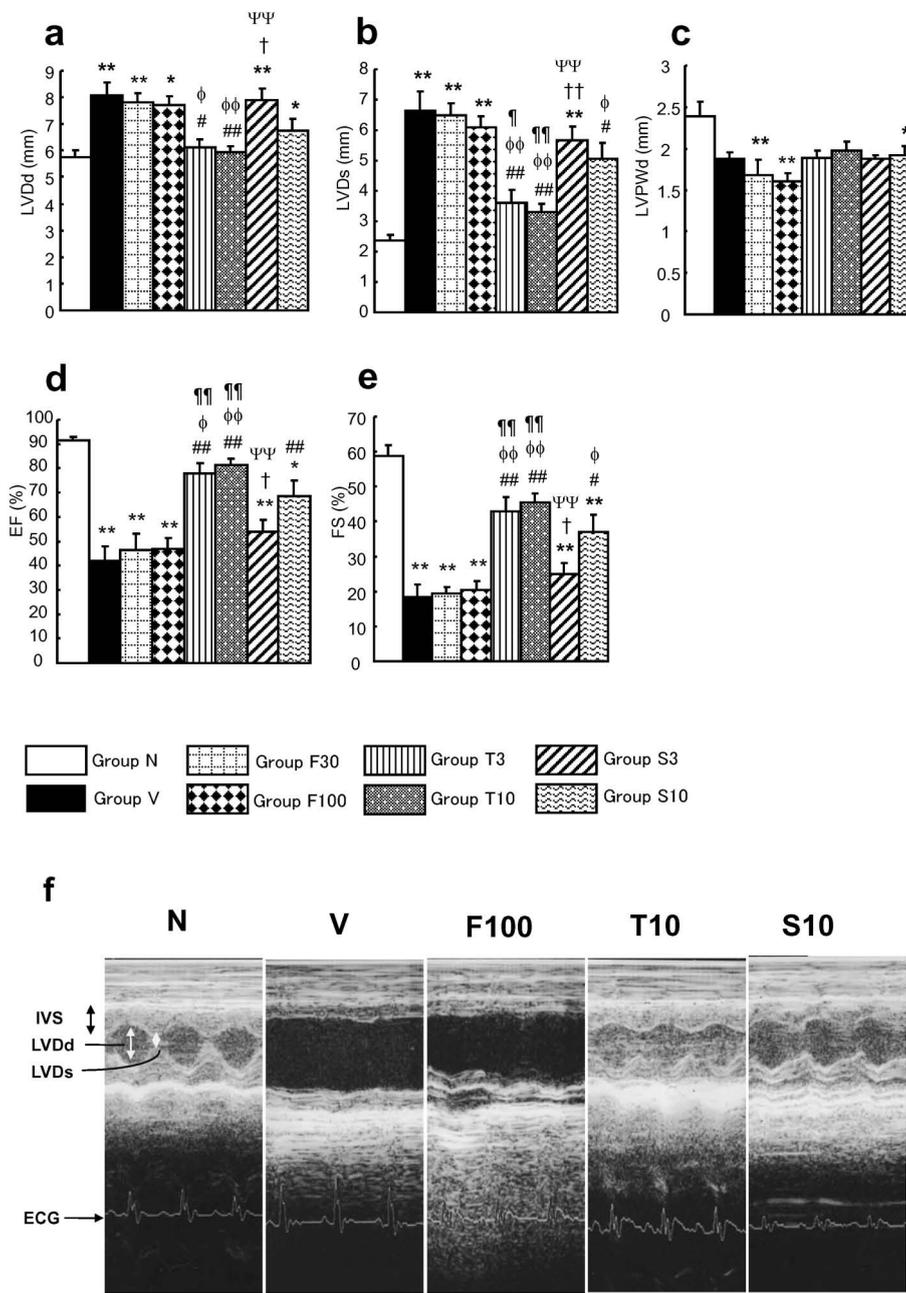


Fig. 3. Effects of Furosemide, Torasemide and Spironolactone on Left Ventricular Dimension in Diastole (LVdD, a), Left Ventricular Dimension in Systole (LVDs, b), Left Ventricular Posterior Wall Thickness in Diastole (LVPWd, c), Ejection Fraction (EF, d) and Fractional Shortening (FS, e) in Rats with CHF. Fig. 3c Presents Echocardiograms in Groups N, V, F100, T10 and S10

Values are presented as the mean \pm S.E. of 9-10 rats. * p <0.05, ** p <0.01 vs Group N; † p <0.05, †† p <0.01 vs Group V; ‡ p <0.05, ‡‡ p <0.01 vs Group F30; § p <0.05, §§ p <0.01 vs Group F100; ¶ p <0.05, ¶¶ p <0.01 vs Group T3; ††† p <0.01 vs Group T10. IVS, intra-ventricular septum; ECG, electrocardiogram; Group N, normal rats; Group V, rats treated with vehicle; Group F30, rats treated with furosemide (30 mg/kg/day); Group F100, rats treated with furosemide (100 mg/kg/day); Group T3, rats treated with torasemide (3 mg/kg/day); Group T10, rats treated with torasemide (10 mg/kg/day); Group S3, rats treated with spironolactone (3 mg/kg/day); Group S10, rats treated with spironolactone (10 mg/kg/day).

トラセミドは、新規に開発された長時間持続型の利尿薬^{16,17)}であり、その作用機序は他のループ利尿薬と同様で、ヘンレ係蹄の上行脚における水・Na⁺・Cl⁻の再吸収の抑制である。¹⁸⁾しかしながら、Ghysらによる研究で、ラットにおけるトラセミド

の静脈内投与はフロセミドよりもカリウム利尿を減少させることが示された。¹⁹⁾われわれの研究でもその結果に一致して、5時間蓄尿におけるトラセミド(3及び10 mg/kg)とフロセミド(30及び100 mg/kg)の尿中のNa/K値を治療開始1日目で比較し

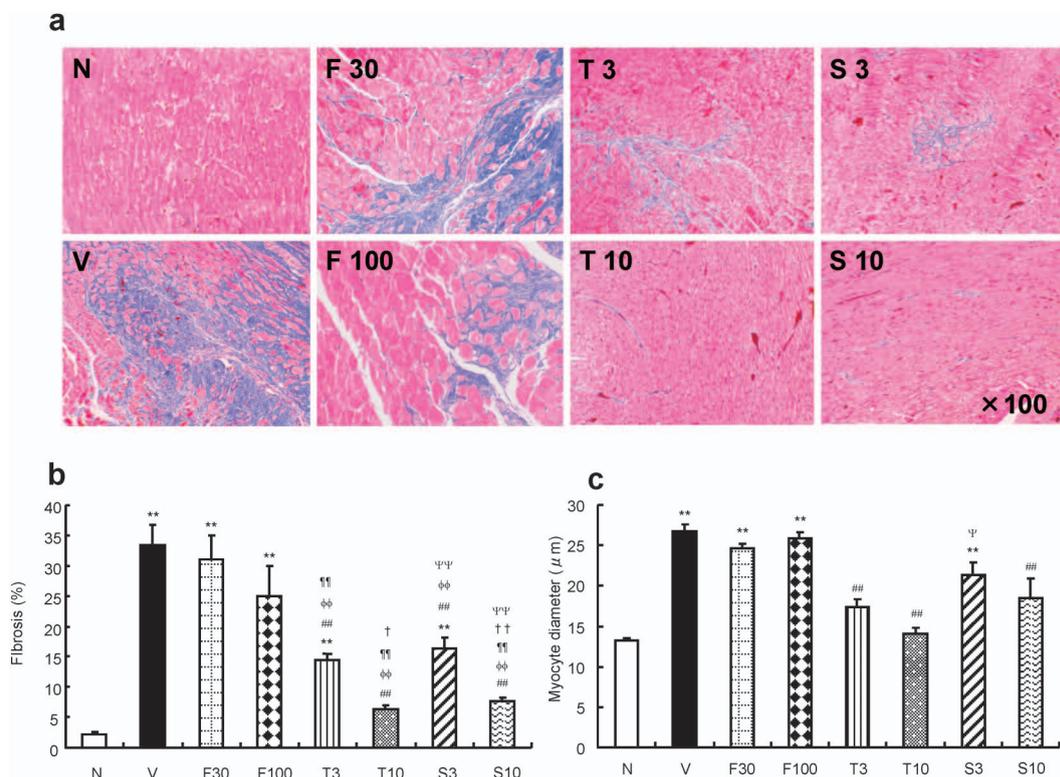


Fig. 4 Effect of Furosemide, Torasemide and Spironolactone on Myocardial Fibrosis (a, b) and Myocyte Diameter (c) in Rats with CHF

Values are presented as the mean ± S.E. of 6 rats. ** $p < 0.01$ vs Group N; ** $p < 0.01$ vs Group V; ** $p < 0.01$ vs Group F30; ** $p < 0.01$ vs Group F100; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Group T3; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Group T10. Group N, normal rats; Group V, rats treated with vehicle; Group F30, rats treated with furosemide (30 mg/kg/day); Group F100, rats treated with furosemide (100 mg/kg/day); Group T3, rats treated with torasemide (3 mg/kg/day); Group T10, rats treated with torasemide (10 mg/kg/day); Group S3, rats treated with spironolactone (3 mg/kg/day); Group S10, rats treated with spironolactone (10 mg/kg/day).

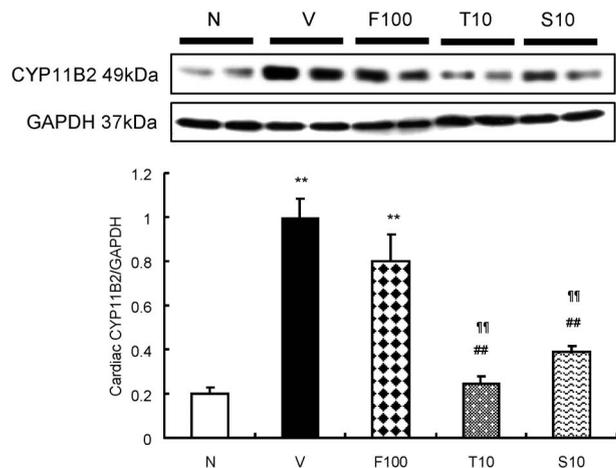


Fig. 5 Effect of Furosemide, Torasemide and Spironolactone on Cardiac Aldosterone Synthetase (CYP11B2) in Rats with CHF

Values are presented as the mean ± S.E. of 4 rats. ** $p < 0.01$ vs Group N; ** $p < 0.01$ vs Group V; ** $p < 0.01$ vs Group F100. Group N, normal rats; Group V, rats treated with vehicle; Group F100, rats treated with furosemide (100 mg/kg/day); Group T10, rats treated with torasemide (10 mg/kg/day); Group S10, rats treated with spironolactone (10 mg/kg/day).

たところ、フロセミドよりもトラセミドで高い傾向がみられた。さらに、Uchida らの報告では、フロセミドとスピロノラクトンの併用でフロセミドによって高められたカリウム排泄をスピロノラクトンが抑制することが示されている。¹⁶⁾ これは、スピロノラクトンによってアルドステロンの作用が抑制され、Na 再吸収と K 排泄を減少させたものと考えられる。また、トラセミドもアルドステロンの受容体への結合阻害による抗アルドステロン作用や、アルドステロン産生抑制が報告されている。^{5,20,21)} よって、トラセミドのカリウム保持作用は、抗アルドステロン作用によるものと考えられる。

心筋線維化は、心臓の収縮機能不全と拡張機能不全両方に重要な役割を果たしていると考えられている。アンジオテンシン II は心臓において心筋肥大や線維化を起こすことが以前から知られていたが、¹⁰⁾ アルドステロンも同様に直接心臓に作用し、心筋線維化などにより心不全を悪化させることが明らかになってきた。心筋線維化の増加は、線維芽細胞によ

るコラーゲン合成の増加とコラーゲン分解の変化が関与するものと考えられている。^{22,23,24)} 近年、人及びラットの不全心において、アルドステロンの産生が報告された。^{25,26)} 加えてアルドステロン合成酵素もヒトの心臓において検出され、アルドステロン合成酵素と左室機能障害の原因となる心筋線維化に相関性が認められた。²⁷⁾ 本研究において、心肥大、心筋線維化は健常群に比べてCHF無治療群で大幅に増加し、肥大、線維化の有意な抑制はトラセミド・スピロノラクトン治療群に観察された。さらに、トラセミドとスピロノラクトンによる治療は心筋アルドステロン合成酵素を抑制し、相関して肥大、心筋線維化を抑制した。このことから、利尿作用が線維化に及ぼす影響は少なく、むしろアルドステロンが大きく影響していることが推測される。また、トラセミドとスピロノラクトンによる治療は、CHFラットにおける心筋線維化を同程度抑制した。

Limitation

トラセミドがフロセミドの10倍の利尿効果を持つことと、¹⁶⁾ トラセミドがカンレノ酸カリウムと同等のアルドステロンレセプター結合能を持つことが知られていることから、⁵⁾ 本研究では、トラセミド(3・10 mg/kg)の心機能改善効果をフロセミド(30・100 mg/kg)と比較することで検討し、また、スピロノラクトンに比べてどの程度の心機能改善効果・線維化抑制効果をもつのか検討した。しかしながら、より低用量の3剤を用いることで心臓局所におけるアルドステロン産生機構、受容体以降の signaling 機構、血清カリウム、アルドステロン濃度、MR受容体及び核内情報伝達の詳細に関する解明の検討が容易になると考えられる。

Silvestreらは、心筋梗塞モデルラットにおいて血漿アルドステロン濃度は偽手術ラットと比べて変化せず、心筋中のアルドステロン合成酵素のみが上昇しそれは左室リモデリングの重篤度と密接に関連することを報告している。²⁸⁾ 今回は血漿アルドステロン濃度を測定することができなかったが、CHFラットにおける左室リモデリングの悪化は血漿アルドステロン濃度に比べて心筋内でのアルドステロンの産生が密接に関与しているものと考えられる。また興味深いことに、トラセミドは血漿アルドステロンの心臓への取り込み量を減少させるという報告があ

る。²⁹⁾ Shinyamaらによると、7日間トラセミドを与えられたラットの血漿アルドステロン濃度は、コントロールに比べて上昇し、³⁰⁾ また、YamatoやSenzakiらはヒトによっても同様のことが起こることを報告した。^{31,32)} 血漿アルドステロン濃度を決定する要因は、血清K値の軽微な上昇・脳性ナトリウム利尿ペプチド(brain natriuretic peptide; BNP)やANPの低下・RAASの亢進などが考えられるが、今回測定することができなかったこれらパラメーターは、スピロノラクトンとトラセミドのアルドステロン受容体作用の詳細を知る重要な鍵となる可能性がある。また、今回は肺重量、胸水の測定及び心筋中のアポトーシス、心臓線維化のマーカーであるマトリックスメタロプロテアーゼやコラーゲンの測定を行わなかったが、これらはスピロノラクトンとトラセミドの病態改善をより詳細にする可能性がある。

結 論

CHFモデルラットにおいて、スピロノラクトンとトラセミドはフロセミドよりも心筋線維化を抑制し、心機能を改善した。また、スピロノラクトンとトラセミドの心筋線維化抑制作用は同程度であった。

謝辞 実験、論文作成について助力いただきました新潟薬科大学臨床薬理研究室のMr. Rajarajan AT, 水戸沙耶佳氏, Mrs., Wawaimuli A, Mrs. Flori RS, Mr. Reyad AE, 佐野峻子氏, 嶋崎裕子氏, Mr. Vijayakumar S, 川面香奈氏, 小林義保氏に御礼を申し上げます。

REFERENCES

- 1) Guidelines for Treatment of Chronic Heart Failure (JCS 2005).
- 2) Kido H., Ohtaki Y., *Folia. Pharmacol. Jpn.* (*Nippon Yakurigaku Zasshi*), **118**, 97-105 (2001).
- 3) Murray M. D., Deer M. M., Ferguson J. A., Dexter P. R., Bennett S. J., Perkins S. M., Smith F. E., Lane K. A., Adams L. D., Tierney W. M., Brater D. C., *Am. J. Med.*, **111**, 513-520 (2001).
- 4) Veeraveedu P. T., Watanabe K., Ma M., Thandavarayan R. A., Palaniyandi S. S.,

- Yamaguchi K., Suzuki K., Kodama M., Aizawa Y., *Biochem. Pharmacol.*, **75**, 649–659 (2008).
- 5) Uchida T., Yamanaga K., Nishikawa M., Ohtaki Y., Kido H., *Eur. J. Pharmacol.*, **205**, 145–150 (1991).
 - 6) Yoshiyama M., Omura T., Yoshikawa J., *Folia. Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku zasshi)*, **124**, 83–89 (2004).
 - 7) Ferreira J. C., Bacurau A. V., Evangelista F. S., Coelho M. A., Oliveira E. M., Casarini D. E., Krieger J. E., Brum P. C., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **294**, R26–R32 (2008).
 - 8) Bader M., Ganten D., *J. Mol. Med.*, **86**, 615–621 (2008).
 - 9) Vantrimpont P., Rouleau J. L., Ciampi A., Harel F., de Champlain J., Bichet D., Moyé L. A., Pfeffer M., *Eur. Heart J.*, **19**, 1552–1563 (1998).
 - 10) Weber K. T., Brilla C. G., *Circulation*, **83**, 1849–1865 (1991).
 - 11) Struthers A. D., *Eur. Heart J.*, **16**, 103–106 (1995).
 - 12) Pitt B., Zannad F., Remme W. J., Cody R., Castaigne A., Perez A., Palensky J., Wittes J., *N. Engl. J. Med.*, **341**, 709–717 (1999).
 - 13) Weber K. T., Janicki J. S., Pick R., Capasso J., Anversa P., *Am. J. Cardiol.*, **65**, 1G–7G (1990).
 - 14) Tsutamoto T., *Folia. Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku zasshi)*, **124**, 90–100 (2004).
 - 15) Kodama M., Hanawa H., Saeki M., Hosono H., Inomata T., Suzuki K., Shibata A., *Circ. Res.*, **75**, 278–284 (1994).
 - 16) Uchida T., Ohtaki Y., Kido H., Watanabe M., *Drugs Exp. Clin. Res.*, **17**, 293–298 (1991).
 - 17) El-Sheikh A. A., van den Heuvel J. J., Koen-derink J. B., Russel F. G., *Br. J. Pharmacol.*, **155**, 1066–1075 (2008).
 - 18) Uchida T., Hayashi K., Suzuki Y., Matsumura Y., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **18**, 497–504 (1991).
 - 19) Ghys A., Deneff J., Delarge J., Georges A., *Arzneimittelforschung.*, **35**, 1527–1531 (1985).
 - 20) Goodfriend T. L., Ball D. L., Oelkers W., Bahr V., *Life Sci.*, **63**, PL45–PL50 (1998).
 - 21) Ishido H., Senzaki H., *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets*, **8**, 127–132 (2008).
 - 22) Katada J., Meguro T., Saito H., Ohashi A., Anzai T., Ogawa S., Yoshikawa T., *Circulation*, **111**, 2157–2164 (2005).
 - 23) López B., Querejeta R., González A., Beaumont J., Larman M., Díez J., *Hypertension*, **53**, 236–242 (2009).
 - 24) Begoña L., Arantxa G., Nerea H., Concepcion L., Javier D., *Kidney International*, **74**, S19–S23 (2008).
 - 25) Silvestre J. S., Robert V., Heymes C., Aupetit-Faisant B., Mouas C., Moalic J. M., Swynghedauw B., Delcayre C., *J. Biol. Chem.*, **273**, 4883–4891 (1998).
 - 26) Mizuno Y., Yoshimura M., Yasue H., Sakamoto T., Ogawa H., Kugiyama K., Harada E., Nakayama M., Nakamura S., Ito T., Shimasaki Y., Saito Y., Nakao K., *Circulation*, **103**, 72–77 (2001).
 - 27) Satoh M., Nakamura M., Saitoh H., Satoh H., Akatsu T., Iwasaka J., Masuda T., Hiramori K., *Clin. Sci. (Lond.)*, **102**, 381–386 (2002).
 - 28) Silvestre J. S., Heymes C., Oubénaïssa A., Robert V., Aupetit-Faisant B., Carayon A., Swynghedauw B., Delcayre C., *Circulation*, **99**, 2694–2701 (1999).
 - 29) Tsutamoto T., Sakai H., Wada A., Ishikawa C., Ohno K., Fujii M., Yamamoto T., Takayama T., Dohke T., Horie M., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **44**, 2252–2253 (2004).
 - 30) Shinyama H., Yamanaga K., Akira T., Uchida T., Yaguchi M., Watanabe M., Kagitani Y., *Clin. Rep. (Kiso to Rinso)* **30**, 503–510 (1996).
 - 31) Yamato M., Sasaki T., Honda K., Fukuda M., Akutagawa O., Okamoto M., Hayashi T., *Circ. J.*, **67**, 384–390 (2003).
 - 32) Senzaki H., Kamiyama M., Masutani S., Ishido H., Taketazu M., Kobayashi T., Katogi T., Kyo S., *Arch. Dis. Child.*, **93**, 768–771 (2008).