

## 循環制御ペプチド研究の歩み

岸本一郎\*, 徳留 健\*, 寒川賢治\*

### 要 旨

日本人により発見された生理活性ペプチドとしては、ナトリウム利尿ペプチド、エンドセリン、アドレノメデュリンに続き、過去 10 年間にはオーファン GPCR 受容体のリガンド探索の中から、オレキシン、グレリン、アペリンなど新規ペプチドが見つかってきている。本稿では、寒川研究室で発見されたナトリウム利尿ペプチド、アドレノメデュリン、グレリンを介する情報伝達系の生理的・病態生理的・治療的意義に関して循環器系における影響を我々の最近の検討を中心に概説する。

### はじめに

1950 年代に哺乳類の心房に内分泌組織に見られるような特殊顆粒が存在することが報告され、ホルモンを分泌する可能性が考えられていたが長らくその意義は不明であった。1980 年代になってラット心房粗抽出物が強力なナトリウム利尿作用を有することがカナダの de Bold らにより見つけられ、この発見を契機として心房顆粒のなかに含まれるナトリウム利尿因子の単離同定が世界中の研究者によって行われた。1984 年に当時宮崎医科大学の松尾・寒川らは世界に先駆けてこの因子の構造決定に成功し心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) と名付けた<sup>1)</sup>。以来急速に研究の進展が見られ、基礎から臨床までナトリウム利尿ペプチド研究は大きく発展している。これまでの研究で、ANP、BNP はそれぞれ主に心房、心室の心筋細胞で産生・分泌され、血管、腎臓や副腎を標的臓器として血管拡張、ナトリウム利尿、アルドステロン分泌抑制作用などをもたらす循環ホルモンとし

て機能することが明らかにされており<sup>2,3)</sup>、現在では心不全の診断薬および治療薬として日本のみならず欧米においても広く臨床応用されている。ANP、BNP の発見はそれまで血液を送り出す筋肉のポンプであると考えられていた心臓がホルモンを分泌する内分泌器官でもあることを示す画期的なものであり、それ以降の循環器領域における心血管内分泌代謝学の重要性の確立につながって行く。また、1990 年にはブタ脳から第 3 のナトリウム利尿ペプチド (C 型ナトリウム利尿ペプチド; CNP) が発見された<sup>4)</sup>。CNP は ANP、BNP のような循環ホルモンと異なり局所ホルモンとして心保護に働くことが明らかになっている。次に 1993 年にはヒト褐色細胞腫から強力な血管拡張・降圧作用を有するペプチドであるアドレノメデュリンが同定された<sup>5)</sup>。アドレノメデュリンは心血管組織で発現しており種々の循環器疾患における役割が明らかとなっており治療応用の研究が展開されている。さらに、1999 年に内因性の成長ホルモン分泌促進物質としてグレリンが発見・構造決定された<sup>6)</sup>。その後の検討により、グレリンは強力な成長ホルモン分泌促進作用のほか摂食促進<sup>7)</sup>、エネルギーバランスに対する作用、心血管系への作用、消化管ホルモンに対する作用、胃酸分泌や自律神経に対する作用、糖代謝への影響など多彩かつユニークな生理・薬理作用を有することが報告されている。これらのペプチドは日本において発見されたものであり独創的な基礎研究を基盤にして本邦を中心に臨床展開が進行している。

### ナトリウム利尿ペプチド

#### A. ANP と BNP

ナトリウム利尿ペプチドは、分子内環状構造を有する少なくとも 3 種のペプチド (心房性 [ANP],

\*国立循環器病センター研究所生化学部・高血圧研究室

脳性[BNP]およびC型ナトリウム利尿ペプチド[CNP]のファミリーを形成していることがわかっている。これらは *guanylyl cyclase* (GC) 活性を有する機能的受容体に結合し、*cyclic GMP* 産生を介して種々の作用を発揮するが、このうち ANP, BNP は GC-A 受容体 (A 型ナトリウム利尿ペプチド受容体 (NPR-A) とよばれる) に、CNP は GC-B 受容体にそれぞれ結合する。

ANP, BNP の情報伝達系の生体における意義を解明するため内因性 GC-A を欠損したマウスの心血管系異常を検討したところ、この欠損マウスでは血圧上昇<sup>8)</sup>と体液量調節異常<sup>9)</sup>および心臓肥大を認めた。心肥大の程度はその血圧上昇に比較して著明であり、内因性 ANP・BNP は GC-A を介した心臓局所での直接作用によって心肥大を抑制している可能性が考えられたため、GC-A の直接的な心臓リモデリングに対する影響を検討する目的で、心臓のみに GC-A を過剰発現させたトランスジェニックマウスを作製し解析したところ、このマウスの心重量は野生型よりも有意に小さくなっていった<sup>10)</sup>。さらに GC-A 欠損マウスとかけ合わせるにより、心筋細胞のみに GC-A を発現したマウスを作製した。するとこのマウスでは血圧は高値のままであったが、心筋細胞面積は GC-A 欠損マウスよりも縮小していた<sup>10)</sup>。これらの結果より、内因性 ANP・BNP は心筋細胞 GC-A を直接刺激することにより心筋肥大を抑制していると考えられた。

さらに、そのメカニズムの詳細を検討する目的で、DNA マイクロアレイを用いて GC-A 欠損マウスの肥大心と野生型の心臓との RNA 発現プロフィールの相違を検討したところ、MCIP1 (*modulatory calcineurin-interacting protein1*) 発現が GC-A 欠損マウスの心臓で亢進していることを見出した<sup>11)</sup>。MCIP1 は、 $Ca^{2+}$ /calmodulin 依存性脱リン酸化酵素である calcineurin の活性化に伴ってその発現が亢進することが知られており、この酵素活性を GC-A 欠損マウスの心臓で検討したところ、野生型に比較し有意に上昇していた<sup>11)</sup>。

我々は、*in vitro* の検討から regulator of G-protein signaling (RGS) 4 の優性変異体遺伝子を導入した培養心筋細胞においては、ANP による心肥大抑制効果、および calcineurin 系抑制効果が減退する事

実を見出し、ANP の心肥大抑制効果における RGS4 の重要性に着目した<sup>12)</sup>。GC-A 欠損マウスの心臓における RGS4 リン酸化の程度を野生型と比較したところ、GC-A 欠損マウスの心臓においては、RGS4 蛋白のリン酸化率は、野生型の約 30% であった。さらに、GC-A 欠損マウスに心臓特異的に RGS4 を補充することで心肥大が退縮するかどうか検討したところ、RGS4 過剰発現マウスには特に目立った異常は無かったが、GC-A 欠損マウスとかけ合わせるにより、GC-A 欠損マウスの心肥大・心拡大が明らかに退縮した<sup>12)</sup>。calcineurin 系の過剰な活性化も有意に抑制されていた。このことから、アンジオテンシン II やカテコラミンの刺激で calcineurin 系の細胞内シグナル伝達が亢進し、心肥大関連遺伝子プログラムが活性化すると ANP・BNP の発現も亢進し、その受容体である GC-A の刺激を介して RGS4 を活性化することにより、calcineurin を抑制するという、心肥大に対するオートクライン的な局所ネガティブフィードバック機構の存在が考えられた。

上述のように内因性 GC-A 活性が血圧・心臓肥大を規定する重要な因子であることが動物実験により確認され、ヒト高血圧や心肥大における GC-A の役割が注目されてきた。中山らは高血圧患者と正常血圧者各 200 人の GC-A 5' 転写調節領域の遺伝子多型を検索し翻訳開始コドンより上流-60 から-70 塩基の部位に 8 塩基の欠損変異が高血圧患者の 8 人に認められることを報告している<sup>13)</sup>。培養細胞を用いた実験ではこの部の欠損で転写活性が著明に低下しており、実際に生体でも GC-A 活性が低下している可能性が高く、興味深い。さらにナトリウム利尿ペプチド系遺伝子多型と心臓形態との関連を約 200 人の高血圧患者を対象に検討した報告では、ANP と GC-A の遺伝子多型が有意に心臓肥大と相関していた。我々も日本人高血圧患者と正常血圧対照群各 170 名における GC-A 遺伝子プロモータ領域の多型を解析し、翻訳開始点から-293 塩基上流の CT 繰り返し多型と高血圧との有意な相関を見出した<sup>14)</sup>。これらの事実より、これらのナトリウム利尿ペプチド系遺伝子多型を有するヒトでは、高血圧・心肥大が起こりやすいことが示唆されている (図1)。

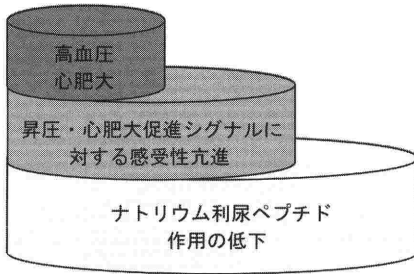


図1 循環器疾患におけるナトリウム利尿ペプチド作用減弱の病因的意義

## B. CNP

第3のナトリウム利尿ペプチドである CNP は、中枢神経系と下垂体において高濃度に存在し、ヒト脳脊髄液中にも ANP, BNP の約 10 倍高い濃度で存在する。当初ブタ脳より単離された CNP は主に脳、脊髄に分布し、神経ペプチドまたは局所因子としての役割が示唆されてきたが、現在に至るまでその詳細は不明である。他方、その後の検討により、マクロファージ、腎尿細管、骨などの末梢組織においても CNP 分泌が証明されており、末梢における意義に関する検討が進んでいる。循環器系では、血管内皮細胞で合成・分泌を受けることが明らかとなり、血管壁における局所因子としての作用が注目されている。血管内皮細胞からの CNP 分泌は bFGF, VEGF, トロンビン, IL-1 によって刺激されるが、血管の増殖・肥厚に重要な役割を演じると考えられている TGF- $\beta$  により 100 倍以上の著しい分泌亢進を認める。また TNF- $\alpha$  およびエンドトキシンそのものである lipopolysaccharide (LPS) により強力かつ持続的に CNP 分泌が刺激される。これらのことより CNP は新しいペプチド性の内皮細胞由来血管弛緩物質として内皮細胞-血管平滑筋細胞-マクロファージ連関のメディエーターとしての意義をもつことが示唆されている。

動脈硬化巣においては血管内皮細胞の障害と血管平滑筋細胞の収縮型から合成型への形質転換が病態の特徴とされるが、これまでに合成型平滑筋細胞における GC-B 受容体の発現亢進が確認されており、血管平滑筋細胞の増殖・肥大に対して CNP が抑制的に作用する機構が推定されている<sup>15)</sup>。冠動脈硬化症や粥状硬化症の進展、あるいは冠動脈狭窄に対する PTCA などの治療後の再狭窄にお

いては上述したような血管壁の傷害が重要な意義を持つと考えられており、その対策として種々の試みがなされているが、そのひとつとして、血管壁局所への CNP 投与が試みられている。実際、実験的下肢虚血モデルにおける CNP 遺伝子治療が血管新生を導くことが示されている。また、バルーン障害後のウサギ頸静脈に *ex vivo* でアデノウイルスを用いて CNP 遺伝子を発現させたところ、CNP 治療群では静脈の再内皮化が促進され、血栓や新生内膜増殖が有意に抑制されていた。これらの結果より CNP 投与が新生内膜増殖を抑制し再内皮化を促進する作用を介して、障害血管の治療に有用であることが推察され、PCI 後の再狭窄予防に際して臨床応用可能な有望候補薬剤であることが示唆されている。

我々は、CNP が培養心臓線維芽細胞で合成されること、この細胞の DNA 合成やコラーゲン合成を ANP や BNP よりも強力に抑制することを見出した<sup>16)</sup>。また、培養心筋細胞の肥大も CNP 投与で抑制された。これらの事実より生体においても CNP が心臓の局所因子として役割を担っていることが示唆される。特に CNP は ANP, BNP に比較して血圧・尿量に対する変化が少ないため、血行動態を悪化させにくく心筋梗塞の治療としての ANP, BNP とは異なる有用性が考えられる。さらに、最近、心不全患者の心臓から CNP が分泌されていることが複数のグループより報告されている。ANP, BNP との相同性および前 2 者の濃度が 2~3 オーダー高いことなどから、CNP 様免疫活性が直ちに CNP 濃度を反映しているかに関しては慎重でなければならないが、相同性のないアミノ末端(N端-proCNP)で測定しても同様の結果が報告されており、我々の基礎的データとあわせ考えると心不全の心臓で線維芽細胞から分泌された CNP が局所で心臓保護に働いている可能性が高い。そこで筆者らは心筋梗塞後の心臓リモデリングにおける CNP の意義に関して検討を進めた<sup>17)</sup>。ラットの冠動脈前下行枝を結紮した心筋梗塞モデルに CNP (0.1 $\mu$ g/kg/min) または vehicle (5% glucose) を浸透圧ミニポンプで 2 週間投与したところ、CNP 投与群では対照群に比較して心筋梗塞後の左室リモデリングが明らかに抑制されていた。さらに左室拡張末期圧の上昇が抑制され収縮能、拡張能が有意に改善さ

れていた。また、対照群で認められた梗塞後左室リモデリングも CNP 投与群では改善していた。これらの組織変化に伴って、心筋梗塞後に増加した I 型および III 型コラーゲンや TGF- $\beta$ , ANP の各遺伝子発現が CNP 投与群で明らかに抑制されていた。一方、CNP 投与群と対照群で血圧・心拍数に変化はなかった。これらの事実より、CNP 投与は心筋に直接作用して梗塞後の心臓リモデリングを抑制し心機能を改善することが考えられる。CNP は他のナトリウム利尿ペプチドに比較して血行動態に及ぼす影響ははるかに軽微であり、心筋梗塞急性期などの血行動態の不安定な時期や血圧の低い症例に対して、より大量に投与できることが利点であり、その有用性が考えられる。

### アドレノメデュリン

アドレノメデュリンは、副腎髄質、血管壁、肺、心臓、腎臓などの多くの組織から産生され、血管拡張作用、強心作用などの生理活性を有しているがそれらの多くが心血管保護作用である。種々の循環器疾患におけるアドレノメデュリンの病態生理的役割が解明され、治療応用の研究が展開されている。高血圧患者ではアドレノメデュリンの血中濃度が上昇しており、血圧調節における役割と降圧薬としての可能性が示唆されている。ただ、長期に及ぶ高血圧治療において経口投与が不可能なペプチド製剤の使用は現実的ではなく、新たな投与手段や経口投与可能な薬剤の開発または分解酵素の同定とその阻害剤の開発が必要である。慢性心不全患者の血中アドレノメデュリン濃度は重症度に応じて上昇しており、治療による病態の改善に伴い低下することが報告されている。アドレノメデュリンは降圧利尿作用、アルドステロン分泌抑制作用およびレニン・アンジオテンシン系に対する拮抗作用を有することから、心不全増悪抑制系であることが推測されている。実際、心不全患者への短時間静脈内投与により、血圧と肺動脈楔入圧が低下し心係数、尿量が増加する<sup>18)</sup>。また、心筋梗塞急性期でも血中アドレノメデュリン濃度の上昇を認めており、ラットのモデルでは心臓でのアドレノメデュリン発現が増加している。急性心筋梗塞後のラットに一週間アドレノメデュリンを投与したところ生存率が改善し左室リモデリン

グが抑制され、左室拡張末期圧も上昇も抑制されていた。血管内皮細胞や平滑筋細胞では、比較的高濃度のアドレノメデュリン発現が観察され血管壁における意義が想定されている。アドレノメデュリンは内皮細胞機能改善、血管平滑筋増殖抑制、粥状硬化病変の予防効果を発揮することが種々の検討で示されており、抗動脈硬化作用の治療応用が期待されるが、現在のところ経口投与が不可能であり今後この領域の進展が待たれる。一方、アドレノメデュリンは、その血管新生作用により組織虚血を改善することから、閉塞性動脈硬化症を含めた末梢血管疾患に対して治療応用も試みられている。また、肺高血圧患者にアドレノメデュリンを投与すると肺血管抵抗と肺動脈圧が低下することも報告されている<sup>19)</sup>。しかしながら、この静脈内投与は同時に体血圧の低下を来し体循環の血行動態変化をもたらすため、患者の病態によっては望ましくない。このため、アドレノメデュリンの吸入による投与も試みられている。吸入投与では体血圧や心拍数を変化させずに肺血管抵抗と肺動脈圧の低下を認めた。吸入投与は簡便であり長期間継続することも可能と考えられ、有効な治療に乏しい原発性肺高血圧症に対する治療として有用であることが期待される。一方で、吸入投与に伴う有効性と安全性は未だ完全に確立されており、この点に関して今後慎重な検討が必要である。

### PAMP

アドレノメデュリンは前駆体であるプロアドレノメデュリンから生合成されるが、このプロアドレノメデュリンの N 末端領域にはプロアドレノメデュリン N-末端 20 ペプチド (Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide, PAMP) と称される特有の 20 アミノ酸からなる領域が含まれている。すなわちプロアドレノメデュリンからは、アドレノメデュリンとともに PAMP が生合成される。PAMP はアドレノメデュリンと同様に哺乳類の組織に普遍的に分布している。現在までのところ、PAMP の機能はアドレノメデュリンほど明らかになってはいないが、PAMP は比較的マイルドな降圧作用を有すること、および、ラットにおける PAMP による血圧低下はカテコラミン分泌の阻害を伴うこと、が知られており、この降圧作用の機序として

交感神経終末からのカテコールアミンの放出抑制が考えられている。また、PAMPは副腎からのアルドステロン分泌をアドレノメデュリンよりも強力に阻害することが知られている。しかしながらこれらの研究成果を除いてはPAMPについてはほとんど知られていない。宮崎大学の北村らはヒトPAMPを過剰発現するラットを構築し、このラットの病態における表現系を検討しており、今後PAMPの新たな作用が見出されるかもしれない。

グレリン

グレリンは、1999年に新たな成長ホルモン分泌促進物質としてヒトとラットの胃から発見された28アミノ酸残基よりなるペプチドで、脂肪酸修飾という特徴的な構造を有している<sup>6)</sup>。グレリンは主として胃内分泌細胞で産生され、摂食亢進や体重増加、消化管機能調節などエネルギー代謝調節に重要な作用を持ち、今まで知られている中で唯一の末梢で産生される摂食促進ペプチドである。胃から分泌されるグレリンの空腹と成長ホルモン分泌に関する情報は、求心性迷走神経を介して脳へ伝達される。グレリンは、摂食や成長ホルモン分泌調節の中枢である視床下部に働き、これらの促進作用を発現する。グレリンの発見により、胃が

消化機能だけでなく、エネルギー代謝や成長ホルモンの分泌調節にも機能していることが明らかになった。肥満や摂食障害などの病因におけるグレリンの意義も解明されつつある。カヘキシアの治療に合成グレリンを用いる臨床研究も、我が国で既に始まっており、グレリンの持つ幅広い生理作用の解明や薬剤としての臨床応用研究が急速に進展しつつある。

我々は、循環器領域におけるグレリンの意義を検討する目的で、ラット心筋梗塞モデルにグレリンを投与し心機能と心臓リモデリングに及ぼす効果を調べた<sup>20)</sup>。ラットの冠動脈を結紮した後、グレリン(100 $\mu$ g/kg)または生食を1日2回2週間皮下投与したところ、グレリン投与群では生食を投与した対照群に比較して明らかに左室拡張末期径と左室短縮率が改善していた。また、観血的に血行動態を検討したところ、グレリンの投与は左室の収縮能および拡張能を改善し、左室拡張末期圧の上昇も抑制された。このため、グレリンの投与は心筋梗塞後の心臓リモデリングと心機能低下を改善し、心不全を予防していることが明らかとなった。さらに、グレリンの投与は著明な心拍数増加抑制効果を有しており(図2)、血中のノルアドレナリン濃度の上昇も抑えられていた。これらの事

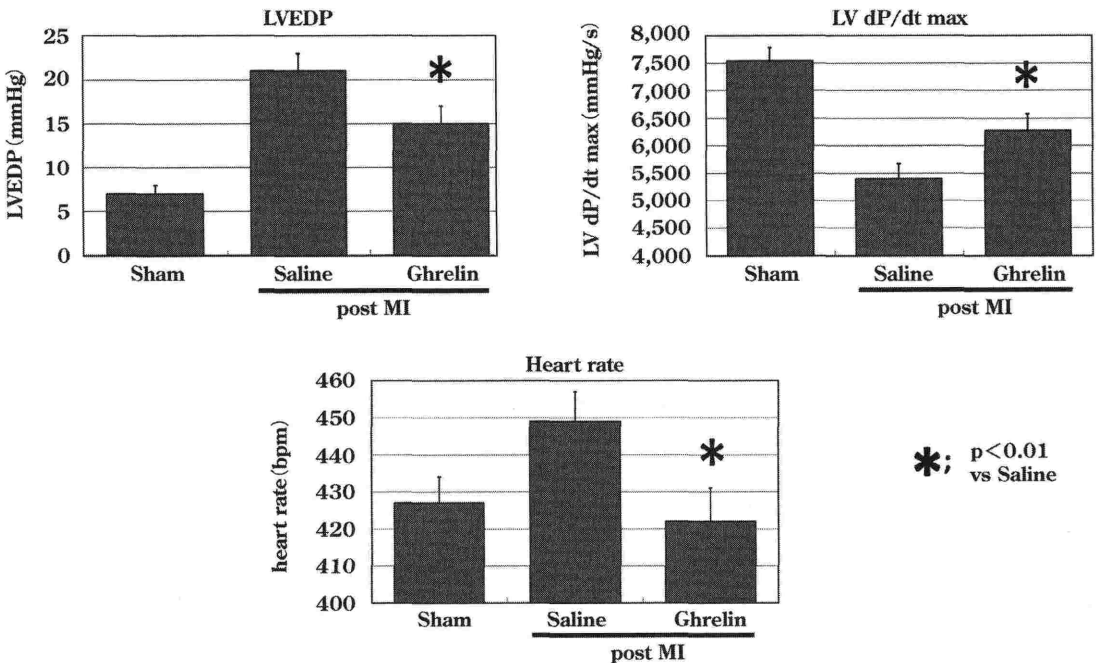


図2 心筋梗塞後の心拍数増加に対するグレリンの効果

実より心筋梗塞後の交感神経活性化がグレリンにより抑制されていることが推察された。実際、心拍変動解析による交感神経活性はグレリン投与により抑制されている<sup>20)</sup>。しかしながら、この交感神経系の抑制は心不全が改善したための2次的なものである可能性もあったため、次にグレリンを単回投与したラットの交感神経の活性化を白金電極を用いて直接測定したところ心筋梗塞後の神経の活性化はグレリンで顕著に抑制されていた<sup>21)</sup>。この心臓保護効果の機序を検討する目的で次にグレリンの受容体である GHS-R の梗塞心筋における局在を検討したところ、意外なことにグレリンの作用部位は心臓の末梢神経終末であることが判明した。すなわち、投与したグレリンは心臓の神経終末を刺激することにより延髄を介して交感神経の活性化を抑制している機序が推察された。

さらに、我々は、低酸素による肺高血圧症モデルに対するグレリンの治療効果も検討した<sup>22)</sup>。ラットに右心カテーテルを埋め込んだ後、テレメトリシステムを用いて肺動脈圧をモニターした。その後、動物を低酸素チャンバー内で飼育し10%低酸素刺激を2週間行った。この間グレリン投与群ではグレリンを毎日皮下投与し、生理食塩水を皮下注する対照群との肺動脈圧上昇度の相違を比較検討した。2週間低酸素刺激したラットでは肺動脈圧が著明に上昇していたが、グレリン投与群では生食投与群に比較して肺動脈圧の上昇が半分程度に抑制されていた。他方、グレリン投与は急性の低酸素刺激による肺動脈上昇には影響しなかった。肺組織切片で肺動脈壁厚を検討したところ、慢性低酸素刺激による肺動脈の高度なりモデリングがグレリン投与により著明に改善していた。これらの結果より、グレリンの投与が慢性低酸素による肺高血圧に治療的効果があることが示唆されている。

## まとめ

上述したようにナトリウム利尿ペプチド、アドレノメデュリンやグレリンを介する情報伝達系は循環器系において重要な役割を担うことが明らかとなっており、心不全、心筋梗塞、肺高血圧などの疾患における治療的意義が注目されている。これらペプチドは、それぞれ独自の作用機序を介し

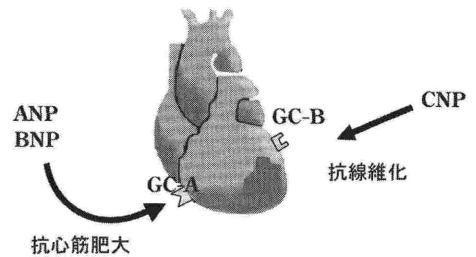


図3 心筋梗塞におけるナトリウム利尿ペプチドの治療的意義

てその効果を発揮することが徐々に明らかになってきている。すなわち、心臓ホルモンである ANP、BNP はその循環ホルモンとしての降圧利尿作用によって心臓の前負荷および後負荷を軽減するのみならず、心臓局所で局所ホルモンとし心臓を保護するメカニズムが明らかになっている。また CNP は、その顕著な心臓線維化抑制作用を介して心筋梗塞後の拡張能低下を予防する(図3)。さらに、グレリンは梗塞心筋の神経終末を介して交感神経系を抑制する機序により心不全や心臓リモデリングを改善すると考えられる。臨床応用にはまず確実な効果を確認することが大事であるが、同時にその作用機序を解明することにより理論的基盤を構築していくことが今後も望まれており、さらに研究の進展を期待したい。

## 文 献

- 1) Kangawa K, Matsuo H: Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 131-9.
- 2) Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78-81.
- 3) Nakao K, Ogawa Y, Suga S, et al: Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertens* 1992; 10: 907-12.
- 4) Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, et al: C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 863-70.
- 5) Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, et al: Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 553-60.
- 6) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-60.



- 7) Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194-8.
- 8) Lopez MJ, Wong SK, Kishimoto I, et al: Salt-resistant hypertension in mice lacking the guanylyl cyclase-A receptor for atrial natriuretic peptide. *Nature* 1995; 378: 65-8.
- 9) Kishimoto I, Dubois SK, Garbers DL: The heart communicates with the kidney exclusively through the guanylyl cyclase-A receptor: acute handling of sodium and water in response to volume expansion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 6215-9.
- 10) Kishimoto I, Rossi K, Garbers DL: A genetic model provides evidence that the receptor for atrial natriuretic peptide (guanylyl cyclase-A) inhibits cardiac ventricular myocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 2703-6.
- 11) Tokudome T, Horio T, Kishimoto I, et al: Calcineurin-nuclear factor of activated T cells pathway-dependent cardiac remodeling in mice deficient in guanylyl cyclase A, a receptor for atrial and brain natriuretic peptides. *Circulation* 2005; 111: 3095-104.
- 12) Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, et al: RGS4 mediates anti-hypertrophic effect of locally secreted natriuretic peptides in the heart. *Circulation* 2008; 117: 2329-39.
- 13) Nakayama T, Soma M, Takahashi Y, et al: Functional deletion mutation of the 5'-flanking region of type A human natriuretic peptide receptor gene and its association with essential hypertension and left ventricular hypertrophy in the Japanese. *Circ Res* 2000; 86: 841-5.
- 14) Usami S, Kishimoto I, Saito Y, et al: Association of CT dinucleotide repeat polymorphism in the 5'-flanking region of the guanylyl cyclase (GC) -A gene with essential hypertension in the Japanese. *Hypertens Res* 2008; 31: 89-96.
- 15) Suga S, Nakao K, Kishimoto I, et al: Phenotype-related alteration in expression of natriuretic peptide receptors in aortic smooth muscle cells. *Circ Res* 1992; 71: 34-9.
- 16) Horio T, Tokudome T, Maki T, et al: Gene expression, secretion, and autocrine action of C-type natriuretic peptide in cultured adult rat cardiac fibroblasts. *Endocrinology* 2003; 144: 2279-84.
- 17) Soeki T, Kishimoto I, Okumura H, et al: C-type natriuretic peptide, a novel antifibrotic and antihypertrophic agent, prevents cardiac remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 608-16.
- 18) Nagaya N, Satoh T, Nishikimi T, et al: Hemodynamic, renal, and hormonal effects of adrenomedullin infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2000; 101: 498-503.
- 19) Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, et al: Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension. *Heart* 2000; 84: 653-8.
- 20) Soeki T, Kishimoto I, Schwenke DO, et al: Ghrelin suppresses cardiac sympathetic activity and prevents early left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H426-32.
- 21) Schwenke DO, Tokudome T, Kishimoto I, et al: Early ghrelin treatment following myocardial infarction prevents an increase in cardiac sympathetic tone and reduces mortality. *Endocrinology* 2008; Jul 3.
- 22) Schwenke DO, Tokudome T, Shirai M, et al: Exogenous ghrelin attenuates the progression of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in conscious rats. *Endocrinology* 2008; 149: 237-44.