

アドレノメデュリン2のラット心臓、血管 および交感神経系の調節における役割

堀 内 邦 祐*

Roles of adrenomedullin 2, in regulating the cardiovascular and sympathetic nervous systems in conscious rats

Kunisuke Horiuchi

要旨：最近、アドレノメデュリン (AM) ファミリーの新しい一員であるアドレノメデュリン2 (AM2) が哺乳類で見つかった。47個のアミノ酸残基からなるこのペプチドは、同時に別のグループにより、カルシトニン/CGRP ファミリーの新しいメンバーとして同定され、インターメディン (IMD) と命名された。AM2/IMD はマウスとラットの双方で血管拡張作用を示し、ラットでは尿生成に影響を及ぼす。今回の実験では、意識下で自由に動けるラットに静脈内投与したラット AM2 (rAM2) の血圧、心拍数、腎臓交感神経活性 (RSNA) および腎血流量に対する作用を、ラット AM (rAM) の作用と比較した。rAM2 (5 nmol/kg) の静脈内注入で、血圧は有意に低下し、心拍数、RSNA および腎血流量は有意に増加した。これらの降圧および交感神経興奮作用は、注入中止後20分で、心拍数は30分でもとのレベルまで回復した。血圧、心拍数およびRSNAの反応は、rAM2注入の場合よりもrAM (5 nmol/kg) 注入の場合の方が長く持続したが、腎血流量の増加は、作用の強度と持続時間においてrAM2とrAMは同じであった。これらの知見は、rAM2の生理的役割がrAMのものによく類似しているが、rAM2は腎血管床において持続した強い血管拡張作用を有することを示唆する。

Abstract : Recently, a new member of the adrenomedullin (AM) family, AM2, was identified in mammals. A separate group termed the 47 amino acid peptide intermedin (IMD). AM2/IMD has been shown to have vasodilative actions in both mice and rats, and to affect urine formation in rats. In the present study, the effects of intravenously infused rat AM2 (rAM2) on blood pressure (BP), heart rate (HR), renal sympathetic nerve activity (RSNA) and renal blood flow (RBF) were investigated in conscious unrestrained rats, and were compared with the effects of rat AM (rAM). Intravenous infusion of rAM2 (5 nmol/kg) significantly decreased BP and increased HR, RSNA and RBF. These hypotensive and sympathoexcitatory effects were diminished at 20 min, and HR returned to the control level at 30 min after cessation of the infusion. In contrast, a significant increase in RBF was still evident at 60 min after cessation of the peptide infusion. The responses in BP, HR and RSNA were longer for rAM infusion (5 nmol/kg) than for rAM2 infusion, while the increases in RBF induced by rAM2 and rAM were similar in their amplitude and duration of

*関西福祉科学大学事務局 教務部参事

activity. These findings indicate that the physiological roles of rAM 2 are similar to those of rAM, and that rAM 2 also has a long-lasting vasodilative action in the renal vascular bed.

Key words : アドレノメデュリン 2 adrenomedullin 2 血行動態 hemodynamics 腎神経活動 sympathetic outflow 血管拡張 vasodilation

I はじめに

アドレノメデュリン (AM) はアミノ酸 52 残基からなる強い血管拡張物質であり、最初ヒト褐色細胞腫の抽出組織から単離された¹⁾。AM は多くの機能を有するペプチドで、心臓、血管、腎臓および肺の機能調節といった種々の作用を示すとともに、中枢神経系や他のホルモン分泌の調節にもかかわっている^{2~7)}。AM はまた、心疾患や腎不全のような種々の病態にも関係があると思われる^{8~14)}。最近、AM ファミリーの新しい一員であるアドレノメデュリン 2 (AM 2) が哺乳類で見つかった。47 個のアミノ酸残基からなるこのペプチドは、同時期に別のグループによりカルシトニンの遺伝子関連ペプチド (CGRP) ファミリーの新しい一員として同定され、インターメディン (IMD) と命名された^{15, 16)}。AM 2/IMD を投与すると、マウスやラットで血圧が下降し^{15, 16)}、この作用は AM や CGRP の受容体拮抗物質で部分的に抑制された¹⁶⁾。Takei らは、AM 2 が腎臓、肺臓、消化器系、胸腺、脳に局在していると報告した¹⁵⁾。ごく最近、Taylor らは、IMD に対する蛋白免疫反応性が心臓、肺臓、腎臓、胃、脳下垂体および脳と同様、血漿中にも存在することを示した¹⁷⁾。これらの知見は、AM 2/IMD が哺乳動物の種々の臓器に存在することを示し、AM 2/IMD が AM や CGRP と同様の生理作用を有することを示唆する。

ヒト AM 2 をラットの腎動脈内に注入すると、用量依存的に血圧が低下する。しかし、麻酔ラットに降圧を示さない用量のヒト AM 2 を腎動脈内注入した場合、腎血流量が増加し、糸

球体濾過に変化を来すことなく利尿、ナトリウム利尿が起った¹⁸⁾。IMD を側脳室中に投与した場合、血圧が上昇し、この作用は非選択的 α -遮断薬フェントラミンにより抑制され、また、水摂取も抑制された¹⁷⁾。このように、AM 2/IMD が体液恒常性や心臓、血管や交感神経機能の調節に重要な役割を果たしていることが想定される。

AM が末梢血液流量を増加する^{19, 20)}とともに、血圧が低下し、心拍数と交感神経活動が反射的に増加する^{21, 22)}ことが報告されている。それ故、AM 2 の生理的機能を明確にするため、今回の実験で、合成ラット AM 2 (rAM 2) の血圧、心拍数、腎臓交感神経活性 (RSNA) および腎血流量に対する作用を、合成ラット AM (rAM) の作用と、意識下で自由に動くことのできるラットで比較した。意識下ラットを用いた理由は、麻酔や外科手術のストレスが心臓、血管や交感神経反応を強く変化させ、場合によっては本来の作用を逆転させることがある^{23, 24)}からである。

II 方法

1. 実験動物

実験には 9~11 週齢、体重 290~350 g の雄性 Sprague-Dawley ラット (CLEA JAPAN, Tokyo, Japan) を使用した。ラットは、12 時間の明暗サイクルで、温度調節された飼育室で、個別ケージ内で飼育した。ラットには標準飼料と水を自由に与えた。外科操作および実験操作は全て定められた動物の取り扱いと使用についての指針に基づいて行った。ペントバルビタール麻酔下で、ポリエチレンカテーテル (PE 60)

を右大腿動脈を経由して腹部大動脈に挿入し、血圧測定を行なった。別のカテーテル (PE 50) を右大腿静脈を経由して大静脈に挿入し、生理的食塩水や薬物の投与に供した。心拍数は血圧脈波波形から計測した。左腎を側腹切開により露出させ、神経線維および腎門部に付着している組織をていねいに除去した。ドップラーフロープローブ (HDP 10.20 R; Crystal Biotech, MA, USA) を腎動脈の周囲に装着し、腎血流量を経時的に測定した。腎臓交感神経活性 (RSNA) 記録用の電極を下記の「腎臓交感神経活性の記録および処理」に記載したように²⁵⁾、大動脈と腎動脈の分岐近くに位置させた。外科手術後、カテーテル、流量プローブおよび電極からの導線を背部皮下を通し、後頸部から露出させ、計測時にはそれぞれを各計測機器に接続した。ラットは手術終了後、回復するまで2日間飼育した。

腎臓交感神経活性の記録および処理

腎臓交感神経活性 (RSNA) は左腎神経から記録した。腎神経は大動脈と腎動脈との分岐近くで単離し、テフロン被覆したステンレススチールの双極電極上に手術用顕微鏡を用いて位置させた。腎神経と電極部はシリコンゲル (semicosil 932 A and B; Wacker-chemie, Munich, Germany) でシールドした。腎神経からの電気信号はハイカット 1 kHz、ローカット 50 Hz のバンドパスフィルターを通して高周波および低周波成分ノイズを除去した後、バンドパスフィルターをつけた示差増幅器を用いて増幅した。ノイズを除去した信号は、デュアルビームオシロスコープ上で目視するとともに、オーディオスピーカーで確認した。増幅器からの出力信号を1秒間隔でインテグレーターを用いて積分した。神経活動が α -受容体作動薬フェニレフリンで血圧が上昇した際に生じるノイズは積算したRSNAから差し引いた。RSNAは、各刺激条件下において得られた30秒間の神経放電の積分値をコントロール値との相対値として読み取り、コントロールのパーセンテージとして示

した。

2. 実験操作

全ての実験は、30匹の意識下のラットで行った。実験の期間中、大腿動脈のカテーテルをStatham血圧トランスジューサー (P-23 ID) に接続し、持続的に血圧を測定した。薬剤は全て生理的食塩水に溶解し使用した。2種類のペプチド (rAM 2 と rAM) はペプチド研究所 (Osaka, Japan) から購入した。

全身血圧、心拍数、RSNA および腎血流量は経時的に記録した。生理的食塩水は大腿静脈に流速 50 μ l/min で注入した。それぞれの指標が安定し、そのコントロール値を測定した後、rAM 2 を生理的食塩水に代えて 5 nmol/kg の用量で 10 分間注入した。10 分間のペプチド注入の中止後、生理的食塩水を再度注入し、60 分間測定を続けた。もう一方の実験では、rAM を 5 nmol/kg の用量で 10 分間注入し、得られた反応を rAM 2 の反応と比較した。他の全ての実験操作は rAM 2 注入実験と同様に行った。圧反射に対する rAM 2 の作用を定量化するために、ニトロプルシドナトリウム (SNP) を 10 分間 20 μ g/kg の用量で静脈内に注入し、得られた血圧、心拍数、RSNA および腎血流量の反応を rAM 2 注入時に得られた反応と比較した。注入期間中に得られたそれぞれのパラメーターの最大値を比較対象とした。

3. 統計解析

数値は全て、平均値 \pm 標準誤差で示した。データは Student's t-test 又は 2 元配置分散分析法 および Bonferroni にて解析した。p-値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意とみなした。

III 結果

1. 血圧、心拍数、腎臓交感神経活性 (RSNA) および腎血流量に対する rAM 2 の作用

静脈内注入した rAM 2 に対する血圧、心拍数、腎臓交感神経活性 (RSNA) および腎血流

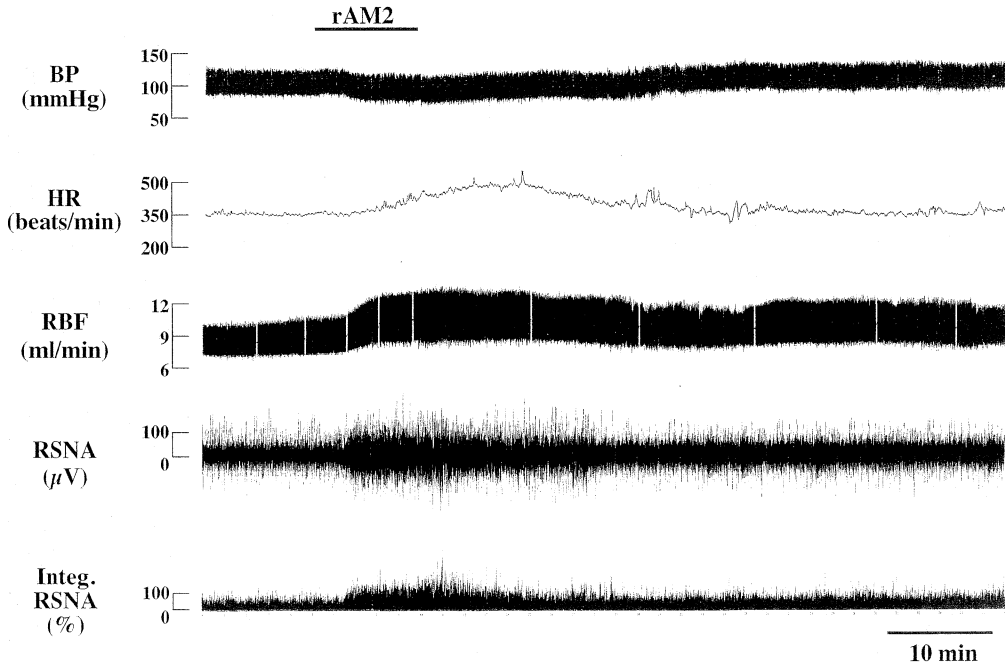


Fig. 1 Representative traces of simultaneous recordings of the effects of rat adrenomedullin 2 (rAM 2; 5 nmol/kg) on blood pressure (BP), heart rate (HR), renal blood flow (RBF), renal sympathetic nerve activity (RSNA) and integrated RSNA (Integ. RSNA) in a conscious rat.

量の典型的な反応を図1に示す。rAM2の注入により血圧は低下し、心拍数、RSNAおよび腎血流量は増加した。rAM2に対する平均血圧(MBP)、心拍数、RSNAおよび腎血流量の反応の経時変化を図2に示す。rAM2の静脈内注入により、平均血圧は有意に低下し(108±3 to 100±2 mmHg)、それに伴い心拍数(356±8 to 411±11 beats/min)、RSNA(100 to 164±11%)および腎血流量(7.5±0.7 to 10.4±0.9 ml/min)の有意の増加が生じた。血圧は注入を中止すると直ちに注入前値に戻り、心拍数とRSNAに見られる有意の増加は注入中止後30分以内に消失した。しかしながら、腎血流量の有意の増加はこのペプチドの注入中止の60分後においても認められた。

2. 血圧、心拍数、腎臓交感神経活性(RSNA)および腎血流量に対するrAM2とrAMの作用の比較

図3にrAMに対する血圧、心拍数、RSNAおよび腎血流量の典型的な反応を示す。表1に示す経時変化から分かるように、rAMの静脈内注入により、平均血圧が有意に低下(109±3 to 99±4 mmHg)し、それに伴い心拍数(349±6 to 448±6 beats/min)、RSNA(100 to 167±19%)および腎血流量(7.7±0.4 to 10.6±0.5 ml/min)の増加が生じた。このように、rAMとrAM2のいずれも注入期間中の血圧、心拍数、RSNAおよび腎血流量の変化は同じであるが、注入中止後の変化に差が認められる。すなわち、rAMに対する血圧、心拍数、RSNAおよび腎血流量の反応はrAM2に対するものと比較してより長期間持続した。rAMによる血圧下降および心拍数の増加は、注入中止60分後でもなお顕著であった。一方、腎血流量にお

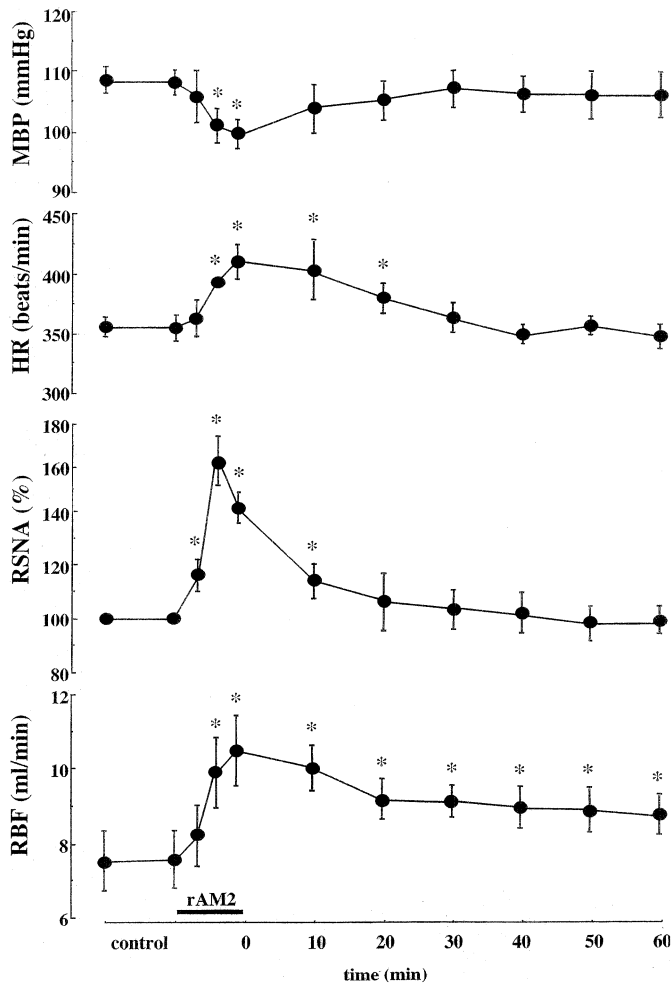


Fig. 2 Time courses of the mean blood pressure (MBP), heart rate (HR), renal sympathetic nerve activity (RSNA) and renal blood flow (RBF) responses to rat adrenomedullin 2 (rAM2).

* $P < 0.05$ vs. the control.

る変化は rAM2 と rAM とで同じであり、注入中止の 60 分後でもなお増加が持続した。

3. rAM2、rAM および SNP による心拍数と RSNA の反射的増加の比較

表2に rAM2、rAM およびニトロプルシドナトリウム (SNP) による血圧、心拍数および RSNA の増加の比較を示す。SNP の注入は血圧の低下 (111 ± 3 to 103 ± 3 mmHg) および心拍数と RSNA の増加 (それぞれ 352 ± 7 to 379 ± 8 beats/min、 100 to $139 \pm 6\%$) を来した。血

圧の反応は3つのグループで同じであるが、rAM2 および rAM による心拍数と RSNA の反射的反応は SNP によるものより明らかに大きかった。そこで、血圧変化に対する心拍数と RSNA の反射的増加を定量化するため、心拍数と RSNA の Δ 変化 (絶対値) を平均血圧の Δ 変化 (絶対値) で除した値を求め、表3に示した。rAM2 注入時の $\Delta HR/\Delta MBP$ と $\Delta RSNA/\Delta MBP$ 値はそれぞれ 8.3 ± 2.1 と 9.4 ± 1.6 で、rAM 注入時の $\Delta HR/\Delta MBP$ と $\Delta RSNA/\Delta MBP$ 値はそれぞれ 11.8 ± 1.7 と 9.5 ± 0.8 であり、い

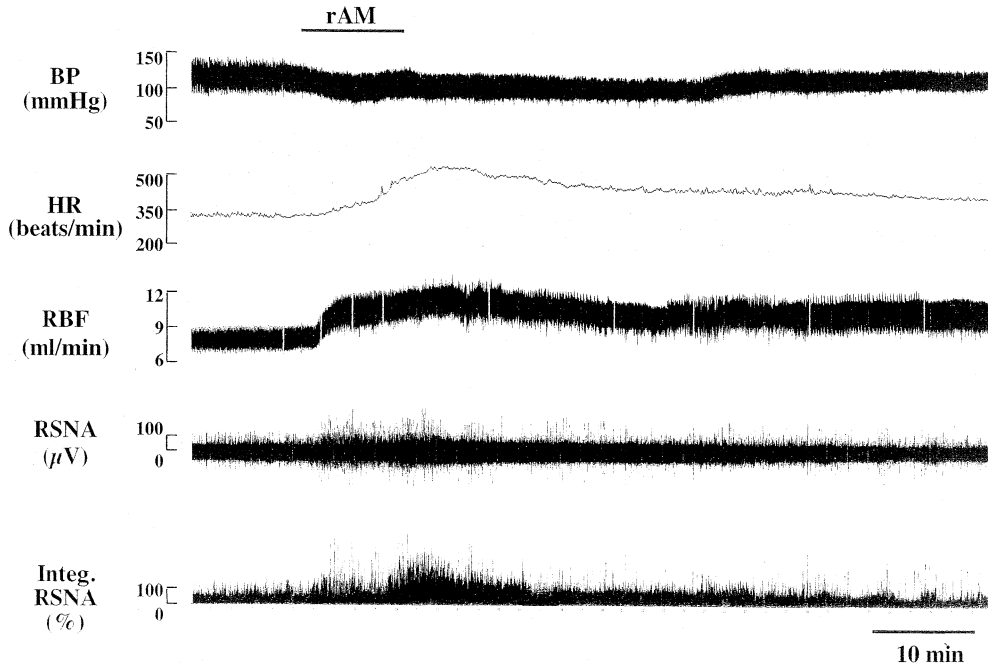


Fig. 3 Representative traces of simultaneous recordings of the effects of rat adrenomedullin (rAM; 5 nmol/kg) on blood pressure (BP), heart rate (HR), renal blood flow (RBF), renal sympathetic nerve activity (RSNA) and integrated RSNA (Integ. RSNA) in a conscious rat.

Table 1 Effects of intravenous infusions of rat adrenomedullin 2 (rAM 2) and rat adrenomedullin (rAM) on blood pressure (BP), heart rate (HR), renal sympathetic nerve activity (RSNA) and renal blood flow (RBF).

		control	rAMs	recovery			
				10 min	20 min	30 min	60 min
MBP (mmHg)	rAM 2	108 ± 3	100 ± 2*	104 ± 4	105 ± 3	107 ± 3	106 ± 4
	rAM	109 ± 3	99 ± 4*	102 ± 4*	101 ± 3*	99 ± 3*	102 ± 3*
HR (beats/min)	rAM 2	356 ± 8	411 ± 11*	402 ± 24*	380 ± 16*	367 ± 13*	347 ± 12
	rAM	349 ± 6	448 ± 6*	484 ± 9*	463 ± 7*	429 ± 8*	406 ± 9*
RSNA (%)	rAM 2	100 ± 0	164 ± 11*	112 ± 8*	104 ± 12	103 ± 8	97 ± 5
	rAM	100 ± 0	167 ± 19*	153 ± 16*	134 ± 13*	96 ± 8	96 ± 3
RBF (ml/min)	rAM 2	7.5 ± 0.7	10.4 ± 0.9*	10.0 ± 0.5*	9.1 ± 0.5*	9.0 ± 0.4*	8.7 ± 0.4*
	rAM	7.7 ± 0.4	10.6 ± 0.5*	10.8 ± 0.5*	10.3 ± 0.4*	9.9 ± 0.5*	9.4 ± 0.4*

*p < 0.05 vs. the control for AM 2. p < 0.05 vs. the control for rAM

ずれも SNP 注入時のそれら (それぞれ 3.6 ± 1.0 and 5.1 ± 0.6) より有意に大きかった。

堀内邦祐：アドレノメデュリン 2 のラット心臓、血管および交感神経系の調節における役割

Table 2 Effects of intravenous infusion of sodium nitroprusside (SNP), rat adrenomedullin 2 (rAM 2) and rat adrenomedullin (rAM) on mean blood pressure (MBP), heart rate (HR) and renal sympathetic nerve activity (RSNA).

	SNP		rAM 2		rAM	
	control	SNP	control	rAM 2	control	rAM
MBP (mmHg)	111 ± 3	103 ± 3*	108 ± 3	100 ± 2*	109 ± 3	99 ± 4*
HR (beats/min)	352 ± 7	379 ± 8*	356 ± 8	411 ± 11*	349 ± 6	448 ± 6*
RSNA (%)	100 ± 0	139 ± 6*	100 ± 0	164 ± 11*	100 ± 0	167 ± 19*

*p < 0.05 vs. the control.

Table 3 Absolute values for the rates of the maximum changes in heart rate (HR) and mean blood pressure (MBP) and renal sympathetic nerve activity (RSNA) and mean blood pressure (MBP) induced by sodium nitroprusside (SNP), rat adrenomedullin 2 (rAM 2) and rat adrenomedullin (rAM).

	SNP	rAM 2	rAM
ΔHR/ΔMBP	3.6 ± 1.0	8.3 ± 2.1*	11.8 ± 1.7*
ΔRSNA/ΔMBP	5.1 ± 0.6	9.4 ± 1.6*	9.5 ± 0.8*

*p < 0.05 vs. SNP.

IV 考 察

今回の意識下ラットにおける実験において、最近発見されたアドレノメデュリン (AM) ファミリーの新しい一員であるラットのアドレノメデュリン 2 (rAM 2) の静脈内注入は、血圧の低下、心拍数、腎臓交感神経活性 (RSNA) および腎血流量の増加を来すことを明らかにした。これらの結果は、rAM 2 が強い血管拡張作用および降圧作用を有し、自律神経系の反射性活性化を引き起こすことを示している。これら血圧、心拍数および RSNA の変化は、注入中止後 30 分以内に夫々の注入前値まで回復したが、腎血流量の増加は注入中止 60 分後でもなお顕著であり、このことは rAM 2 が強い腎血管拡張ペプチドであることを示唆する。同量の rAM の静脈内注入でも血圧に同様の低下が見られるが、rAM に対する血圧、心拍数および

RSNA の反応は rAM 2 に比べて長時間持続した。しかし、rAM による腎血流量の変化は rAM 2 に対する変化とほぼ同様に長時間持続した。

最近、AM 1~5 と称される AM 様のペプチド類が硬骨魚から見出され²⁶⁾、次いでマウス、ラットおよびヒト等の哺乳類にも AM 様のペプチドが存在することが分かり、AM 2 が同定された¹⁵⁾。時を同じくして、カルシトニン/CGRP ファミリーの新しいメンバーが同定され、インターメディン (IMD) と命名された¹⁶⁾。AM 2 と IMD のアミノ酸配列は同じであった。Takei らは、AM 2 mRNA がマウスで種々の組織中、特に腎臓に多く発現しているが、AM mRNA が豊富である副腎には AM 2 遺伝子の発現は認められないと報告している¹⁵⁾。Taylor らは更に、免疫活性のある AM 2/IMD が腎臓や胃に強く認められることを示した。また、AM 2 のラット循環血液中の濃度はおよそ 200 pg/ml であり、これは AM や遺伝子関連ペプチド (CGRP) の値よりも高いことを報告している¹⁷⁾。合わせ考えると、AM 2 は AM や CGRP とは異なった生理的活性を有し、臓器機能の調節に重要な役割を有しているようである。事実、血圧に影響を与えない用量のヒト AM 2 を麻酔ラットの腎動脈内に注入した場合、糸球体濾過量に変化を与えずに利尿およびナトリウム利尿を起こした¹⁸⁾。このように、AM 2 は尿細管での水およびナトリウムの再吸収を抑制する作用を有しており、体液、電解質の恒

常性維持に大きな役割を担うことが考えられる。それ故、AM 2の生理的役割を更に明確にするために、AM 2とAMの生理的作用を比較する目的で今回の実験を行った。

AMが心臓、血管および交感神経機能の調節に関与していることは、いくつかの報告から推測される。意識下のウサギにヒトAMを静脈内投与した場合、血圧が低下し、心拍数とRSNAが増加する。これらの反応はかなり長く持続する²¹⁾。意識下のラットにrAMを静脈内投与した場合、ウサギと同様血圧が低下し、心拍数とRSNAが増加した。頻脈と交感神経興奮の反応がペプチド注入中止30分後でもなお顕著であったと報告されている²¹⁾。このように、AMは循環ホルモンとして自律神経系を含む心臓、血管系の調節に重要な役割を果たし、比較的長い持続性の作用を有する。今回の実験において、上記と同様のAMに対する反応を認めたが、rAM 2に対する反応の持続性についてはrAMに対するものと異なっていた。言いかえると、rAM 2により惹起される血圧、心拍数およびRSNAの最大反応は、rAMにより惹起される反応と類似していたが、注入中止後のrAM 2に対する反応の持続期間は腎血流量の反応が長く持続する以外はrAMに対するものより短かった。このようにrAM 2とrAMの心臓、血管系および交感神経系への作用は類似しているが、rAM 2の作用持続時間はrAMの作用の持続時間より短かった。

rAM 2とrAMに対する心拍数とRSNAの反応を血管平滑筋に直接作用して弛緩させるニトロプルシドナトリウム(SNP)の反応と比較した。表2と3に示すように、rAM 2とrAMに対する心拍数とRSNAの反応はSNPに対する反応よりも有意に大きかったが、血圧の低下の程度は2つのペプチドで違いは認められなかった。これらの知見から、rAM 2およびrAMは共に圧反射機能を増強するのではないかと推測される。AMの静脈内投与は心拍数とRSNAを反射的に増強するという同様の知見が既に報

告されている²¹⁾。ラット側脳室へのAM 2/IMDの投与は血圧を上昇させ、この作用は非選択的 α -遮断薬フェントラミンにより抑制された¹⁷⁾。これらの知見は、AM 2/IMDが中枢神経系を経由した自律神経活性の調節に生理的役割を果たしていることを示唆する。循環血液中のAM 2がどのように中枢神経系に作用するかという問題は未解決ではあるが、AM 2が圧反射機能を中枢性に増強することが考えられる。

rAM 2を静脈内投与した場合、血圧は低下するが、腎血流量は増加する。このことはrAM 2が腎血管を強く拡張することを示している。更に、rAM 2により惹起される腎血管拡張が長時間持続する。これらの知見は、このペプチドの性質を強く特徴づける。前述したように、AM 2/IMDの組織内分布はAMの分布とは異なっている。そして、遺伝子発現とペプチドの免疫反応性の分析結果から、腎内での豊富な遺伝子発現とペプチドの存在が明らかになった^{15, 17)}。このように、AM 2に対する腎臓の強い反応はAM 2が高濃度に存在することと関連していると考えられる。AM 2/IMDにより惹起される血管拡張の機構は未だ解明されていない。Rohらは、IMDの血圧下降作用がCGRP受容体拮抗物質CGRP 8-37により、また、AM 22-52により部分的に抑制されることを報告している¹⁶⁾。更に、Taylorらは、一酸化窒素(NO)の合成を阻害した条件下でもAM 2/IMDの血圧に対する作用には変化がないが、AMとCGRPの血圧下降作用は部分的に抑制されると報告している¹⁷⁾。これらから、AM 2/IMDの血管拡張作用にはNOが関与しないが、AMやCGRPの作用には一部NOが関与すると考えられる。総じて、AM 2/IMDの血管拡張作用はCGRP受容体CRLR/RAMP 1により一部抑制されるようである。

要約すると、AMファミリーの新しい一員であるrAM 2の静脈内注入は、意識下ラットで有意の血圧の低下と心拍数、RSNAおよび腎血流量の増加を来した。rAM 2の血圧、心拍数お

よび RSNA の作用はペプチド注入中止後 20 分で消失するが、腎血流量の反応は長時間持続する。これらの知見から合わせ考え、rAM2 は強い血管拡張ペプチドであり、心臓、血管および交感神経活動の調節に重要な役割を果たすに違いない。

References

- 1) Kitamura, K., K. Kangawa, M. Kawamoto, Y. Ichiki, S. Nakamura, H. Matsuo, and T. Eto, Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993. 192(2) : p. 553–60.
- 2) Ebara, T., K. Miura, M. Okumura, T. Matsuura, S. Kim, T. Yukimura, and H. Iwao, Effect of adrenomedullin on renal hemodynamics and functions in dogs. *Eur J Pharmacol*, 1994. 263(1–2) : p. 69–73.
- 3) He, H., H. Bessho, Y. Fujisawa, K. Horiuchi, A. Tomohiro, T. Kita, Y. Aki, S. Kimura, T. Tamaki, and Y. Abe, Effects of a synthetic rat adrenomedullin on regional hemodynamics in rats. *Eur J Pharmacol*, 1995. 273(3) : p. 209–14.
- 4) Jougasaki, M., C. M. Wei, L. L. Aarhus, D. M. Heublein, S. M. Sandberg, and J. C. Burnett, Jr., Renal localization and actions of adrenomedullin: a natriuretic peptide. *Am J Physiol*, 1995. 268(4 Pt 2) : p. F 657–63.
- 5) Majid, D. S., P. J. Kadowitz, D. H. Coy, and L. G. Navar, Renal responses to intra-arterial administration of adrenomedullin in dogs. *Am J Physiol*, 1996. 270(1 Pt 2) : p. F 200–5.
- 6) Willenbrock, R., I. Pagel, E. G. Krause, M. Scheuermann, and R. Dietz, Acute hemodynamic and renal effects of adrenomedullin in rats with aorticaval shunt. *Eur J Pharmacol*, 1999. 369(2) : p. 195–203.
- 7) Parkes, D. G., Cardiovascular actions of adrenomedullin in conscious sheep. *Am J Physiol*, 1995. 268(6 Pt 2) : p. H 2574–8.
- 8) Osajima, A., M. Okazaki, M. Tamura, H. Anai, N. Kabashima, T. Suda, M. Iwamoto, T. Ota, Y. Watanabe, K. Kanegae, and Y. Nakashima, Comparison of plasma levels of mature adrenomedullin and natriuretic peptide as markers of cardiac function in hemodialysis patients with coronary artery disease. *Nephron*, 2002. 92(4) : p. 832–9.
- 9) Gao, Y. Q., Z. L. Li, H. C. Wu, C. S. Tang, P. Zhong, Q. Lu, and Q. N. Yan, Changes of plasma adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide concentrations in patients with heart failure. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2002. 22(7) : p. 632–4.
- 10) Nakamura, M., H. Yoshida, S. Makita, N. Arakawa, H. Niinuma, and K. Hiramori, Potent and long-lasting vasodilatory effects of adrenomedullin in humans. Comparisons between normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation*, 1997. 95(5) : p. 1214–21.
- 11) Kato, J., K. Kobayashi, T. Etoh, M. Tanaka, K. Kitamura, T. Imamura, Y. Koiwaya, K. Kangawa, and T. Eto, Plasma adrenomedullin concentration in patients with heart failure. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996. 81(1) : p. 180–3.
- 12) Cheung, B. and R. I. eung, Elevated plasma levels of human adrenomedullin in cardiovascular, respiratory, hepatic and renal disorders. *Clin Sci (Lond)*, 1997. 92(1) : p. 59–62.
- 13) Hayashi, M., T. Shimosawa, and T. Fujita, Hyperglycemia increases vascular adrenomedullin expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999. 258(2) : p. 453–6.
- 14) Nishikimi, T., I. Matsuoka, K. Ishikawa, F. Yoshihara, Y. Kawano, K. Kitamura, Y. Saito, K. Kangawa, H. Matsuo, and T. Omae, Antihypertensive therapy reduces increased plasma levels of adrenomedullin and brain natriuretic peptide concomitant with regression of left ventricular hypertrophy in a patient with malignant hypertension. *Hypertens Res*, 1996. 19(2) : p. 97–101.
- 15) Takei, Y., K. Inoue, M. Ogoshi, T. Kawahara, H. Bannai, and S. Miyano, Identification of novel adrenomedullin in mammals: a potent cardiovascular and renal regulator. *FEBS Lett*, 2004. 556(1–3) : p. 53–8.
- 16) Roh, J., C. L. Chang, A. Bhalla, C. Klein, and S. Y. Hsu, Intermedin is a calcitonin/calcitonin gene-related peptide family peptide acting through the calcitonin receptor-like receptor/receptor activity-modifying protein receptor complexes. *J Biol Chem*, 2004. 279(8) : p. 7264–74.
- 17) Taylor, M. M., S. L. Bagley, and W. K. Samson, Intermedin/Adrenomedullin-2 acts within the central

- nervous system to elevate blood pressure and inhibit food and water intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004.
- 18) Horiuchi, K., Effects of a new member of adrenomedullin, adrenomedullin 2 on rat kidney. *J Welfare Sciences*, 2004. 3 : p. 139–147.
- 19) Gardiner, S. M., P. A. Kemp, J. E. March, and T. Bennett, Regional haemodynamic effects of human and rat adrenomedullin in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 1995. 114(3) : p. 584–91.
- 20) Hjelmqvist, H., R. Keil, M. Mathai, T. Hubschle, and R. Gerstlberger, Vasodilation and glomerular binding of adrenomedullin in rabbit kidney are not CGRP receptor mediated. *Am J Physiol*, 1997. 273 (2 Pt 2) : p. R 716–24.
- 21) Saita, M., Y. Ishizuka, K. Kato, T. Kunitake, T. Hanamori, K. Kitamura, T. Eto, and H. Kannan, Cardiovascular and sympathetic effects of proadrenomedullin NH 2-terminal 20 peptide in conscious rats. *Regul Pept*, 1998. 77(1–3) : p. 147–53.
- 22) Fukuhara, M., T. Tsuchihashi, I. Abe, and M. Fujishima, Cardiovascular and neurohormonal effects of intravenous adrenomedullin in conscious rabbits. *Am J Physiol*, 1995. 269(5 Pt 2) : p. R 1289–93.
- 23) Kannan, H., Y. Hayashida, and H. Yamashita, Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. *Am J Physiol*, 1989. 256(6 Pt 2) : p. R 1325–30.
- 24) Zimpfer, M., W. T. Manders, A. C. Barger, and S. F. Vatner, Pentobarbital alters compensatory neural and humoral mechanisms in response to hemorrhage. *Am J Physiol*, 1982. 243(5) : p. H 713–21.
- 25) Fujisawa, Y., N. Mori, K. Yube, H. Miyataka, A. Miyatake, and Y. Abe, Role of nitric oxide in regulation of renal sympathetic nerve activity during hemorrhage in conscious rats. *Sm J Physiol*, 1999. 277(1 Pt 2) : p. H 8–14.
- 26) Ogoshi, M., K. Inoue, and Y. Takei, Identification of a novel adrenomedullin gene family in teleost fish. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003. 311(4) : p. 1072–7.