

# アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬 — オルメサルタン — は 高血圧自然発症ラットにおける 心房リモデリングを抑制する

岡村 和 気

新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器学分野

(指導：相澤義房教授)

## Angiotensin 2 Type 1 Receptor Blocker “Olmesartan” Attenuates Atrial Structural Remodeling in Spontaneously Hypertensive Rats

Kazuki OKAMURA

*Division of Cardiology,*

*Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

*(Director: Prof. Yoshifusa AIZAWA)*

### 要 旨

高血圧症は心房細動を含む心臓病の原因となり、心筋肥大、心筋細胞アポトーシス、間質の線維化などのリモデリングが、高血圧症からの心臓病発症に関与している。近年の大規模臨床研究で、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬 (ARB) が、高血圧患者における心房細動の新規発症を抑制することが報告された。その機序として、心房リモデリング抑制が考えられているが、心房リモデリングに対する ARB の効果、機序についてはなお不明な点も多い。本研究では、ARB の心房リモデリングに対する効果とその降圧作用と独立したものか、またどのような機序によるか検討を行った。6週齢の高血圧自然発症ラット (SHR) をコントロール群 (CTL)、アゼルニジピン (AZ) (カルシウムチャンネル拮抗薬, CCB) 群、オルメサルタン (OM) (ARB) 群の3群に分け、各8週間治療を行い検討した。治療後の血圧は AZ, OM で CTL に比し有意に低下したが、2つの治療群間では差を認めなかった。心房組織の検討では、AZ, OM は CTL に比し心筋細胞肥大の抑制を認め、さらにその効果は AZ に比し OM で有意に大きかった。間質線維化は OM で CTL, AZ に比し有意に抑制された。酸化ストレスマーカーのひとつである 3-nitrotyrosine 染色を行い検討したところ、OM で有意に染色性の低下を認めた。さらに OM では CTL, AZ と比し、酸化ストレス発生源の一つである NADPH oxidase の活動性と相関する small G protein, Rac1 活性のより強い抑制を認めた。以上より、OM は AZ に比し、高血圧ラットにおける心房リモデリングの抑制に効果的であり、その作用は降圧作用と独立しており、酸化ストレス抑制を介する機序が示唆された。

キーワード：高血圧、心房、リモデリング、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬、酸化ストレス

Reprint requests to: Kazuki OKAMURA  
Division of Cardiology  
Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,  
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科 (循環器学分野)  
岡村 和 気

## 緒 言

高血圧症は冠動脈疾患、脳梗塞、心不全、心房細動の増加をもたらす。高血圧症による心臓病発症の機序として、心筋細胞の肥大、アポトーシス、間質の線維化などの構造的リモデリングがある<sup>1)2)</sup>。近年、大規模臨床研究において、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬(ARB)が高血圧患者における心房細動の新規発症を抑制することが示され、ARBの心房リモデリング抑制作用が、機序のひとつとして考えられている<sup>3)4)</sup>。これまでにアンジオテンシン変換酵素阻害剤(ACEI)やARBの、左室リモデリングに対する効果は確立されており、機序に関しても多くの知見が得られている<sup>5)6)</sup>。しかし、心房におけるリモデリングに対する効果、その機序については不明な点が多い。

酸化ストレスは、活性酸素などにより生体の酸化作用と抗酸化作用のバランスが崩れて発症すると考えられる。近年、心血管病変の発症、増悪における酸化ストレスの関与が指摘され、レニン、アンジオテンシン系がその発生に重要と考えられている<sup>3)4)</sup>。さらに高血圧や心房細動においても、酸化ストレスがその進展に重要な役割を果たしていることが臨床、基礎の両面から明らかにされつつある<sup>7)</sup>。これらの報告はARBがその抗酸化作用を介して、高血圧による心房リモデリング抑制に働く可能性を示唆している。高血圧自然発症ラット(SHR)はヒト高血圧症のよいモデル動物であり、病態の発症、進行にはレニン、アンジオテンシン系、酸化ストレスの関与が報告されている<sup>8)9)</sup>。そこで本研究は、SHRを用い、ARBであるオルメサルタン(OM)の心房リモデリングに対する効果、その機序をカルシウムチャンネル拮抗薬(CCB)であるアゼルニジピン(AZ)と比較することで明らかにすることを目的として行った。

## 材料と方法

### 1. 薬物の投与

SHRに対し、6週齢以降14週齢に至るまで、AZ、OMを各3mg/kg/dayで投与を行った。無治

療群(CTL)には同量の蒸留水を投与した。

### 2. 心機能ならびに収縮期血圧の記録

14週齢に達した時点(治療開始8週後)で、心機能、血圧の測定を行った。2%のイソフルレンにて麻酔を導入した後、0.5%に減量し、8-14Hzプローブを用い、以前我々が報告した方法<sup>10)</sup>により心臓エコー(ALOKA社製SSD-3500SV)を実施し、心機能評価を行った。血圧測定には、非観血型血圧測定器(Softron社製BP98A)を用いた<sup>10)</sup>。

### 3. 臓器重量計測

心エコーにて心機能を評価した後、体重測定を行った。その後麻酔下にて心臓の摘出を行い、洗浄した後、心臓重量を測定し左房の組織を分離した。

### 4. 心房スライス標本の作成

ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから、5 $\mu$ mの切片を作成し、Hematoxylin-Eosine染色、Azan-Mallory染色を行い、心房の細胞面積ならびに線維化率を測定した。心房の心筋細胞面積はHE染色を用い、核の横断像を持つ細胞を抽出し、1心房あたり250個測定した。線維化はAzan-Mallory染色切片を用いて1心房あたり顕微鏡で35カ所測定した。全体面積にしめる線維化の割合をパーセントで表した。

### 5. 免疫染色

3-nitrotyrosineの免疫染色は既報の方法を用いて行った<sup>11)</sup>。抗nitrotyrosine抗体(1 $\mu$ g/ml; Upstate Biotechnology)を4 $^{\circ}$ Cで24時間反応させ、その後、組織切片を抗ウサギIgG二次抗体(Histofine simple stain Rat MAX-PO; Michirei, Japan)で30分間室温で反応させた。切片は顕微鏡下で観察し、ラット1匹あたり最低5視野を選択し、染色された部位の面積割合をパーセントとして評価した。

### 6. Rac1活性の定量

Rac1活性はRac Activation Assay Kit(Upstate Biotechnology, Inc)を使用し、我々が以前示した方法を用いて評価した<sup>12)</sup>。心房の組織は1X MLB(Upstate Biotechnology)にプロテアーゼ阻害剤を加えホモジネートにした。Rac1活性はGST-

岡村：アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬 — オルメサルタン — は高血圧自然発症ラットにおける心房リモデリングを抑制する

表1 治療前後における収縮期血圧, 体重, 心臓重量ならびに心体重比の比較

	治療前			治療後		
	CTL	AZ	OM	CTL	AZ	OM
収縮血圧, mmHg	153±2.8	156±1.4	157±1.8	185±3.4	122±2.6*	118±1.3*
体重, g	174±2.6	181±3.8	179±3.2	335±4.1	331±3.7	329±4.4
心臓重量, g				1.46±0.02	1.29±0.01*	1.23±0.02*
心体重比, g/g x1000				4.35±0.02	3.91±0.02*	3.74±0.04*

CTL : 無治療群 AZ: CCB 治療群 OM:ARB治療群  
\*P<0.01 vs. CTL.

c-jun と GST-PAK1 の pull-down assay で検討した。GTP-bound Rac1 は 4% から 20% の SDS-PAGE を行い, Rac1 に特異的なモノクローナル抗体 (1: 1000) を用いて Western blot-ting によって評価した。

## 7. 統計処理

データはすべて平均±標準誤差で表記した。対象群間比較では one-way ANOVA を用い, 2 群間の比較には Students unpaired t 検定を行い, p < 0.05 を統計学的有意差ありとした。

## 結 果

### 1. 血圧ならびに組織重量の改善

治療前の収縮期血圧はコントロール群 153 ± 2.8mmHg, AZ 156 ± 1.4mmHg, OM 群 157 ± 1.8mmHg と 3 群間で有意差を認めなかった。治療 8 週目の AZ 群 (122 ± 2.6mmHg) と OM 群 (118 ± 1.3mmHg) の収縮期血圧はコントロール群 (185 ± 3.4mmHg) に比べ有意に低く, 心臓体重比は AZ (3.91 ± 0.02) ならびに OM (3.74 ± 0.04) 両群でコントロール群 (4.35 ± 0.02) に比べ有意に低値であった。AZ ならびに OM 群間でこれらの諸指標に有意差を認めなかった (表 1)。

### 2. 心機能の改善

心臓エコー検査で, コントロール群のラットでは, 心肥大ならびに心機能の低下が認められた

(表 2)。AZ 群 (拡張期左室中隔厚:1.57 ± 0.08mm 拡張期左室後壁厚:1.57 ± 0.08mm 以下同順) と OM 群 (1.55 ± 0.07mm, 1.57 ± 0.05mm) はコントロール群 (2.07 ± 0.05mm, 2.02 ± 0.09mm) に比べ左室の壁厚は有意に薄く, また, AZ (37.2 ± 0.5%), OM (33.0 ± 0.3%) 両群ともにコントロール群 (23.1 ± 0.6%) に比べ左室内径短縮率も良好であった。AZ 群と OM 群の 2 群間では有意差は認められなかった (表 2)。

### 3. 左房心筋細胞肥大の抑制

左房心筋細胞の面積は治療開始後 8 週間目に評価を行った。HE 染色を用いて左房心筋細胞面積の評価では, AZ 群 (113.4 ± 2.3 μm<sup>2</sup>) と OM 群 (104.2 ± 1.8 μm<sup>2</sup>) の両群で, コントロール群 (116.4 ± 2.1 μm<sup>2</sup>) に比べ有意に心筋細胞面積の減少を認めた。さらに OM 群では AZ 群に比し, 面積の減少はより大であった (図 1, p < 0.05)。

### 4. 左房における線維化の抑制

線維化は OM 群 (10.5 ± 0.9%) で他の 2 群に比し, 有意に抑制されていた (図 2, p < 0.05)。コントロール群 (16.5 ± 1.0%) と AZ 群 (15.6 ± 0.9%) 間に有意差は認められなかった (図 2, N.S.)。

### 5. 左房における酸化ストレスの抑制

左房心筋細胞における 3-nitrotyrosine の染色は, コントロール群 (82.5 ± 2.2%) では高度であった。AZ 群 (64.1 ± 9.5%) の染色率はコント

表2 治療後の心エコー所見

Parameter	CTL	AZ	OM
FS, %	23.1±0.6	37.2±0.5*	33.9±0.3*
LVEDd, mm	8.12±0.21	8.10±0.18	8.47±0.12
IVSd, mm	2.07±0.05	1.57±0.08*	1.55±0.07*
LVPWd, mm	2.02±0.09	1.57±0.08*	1.57±0.05*

FS, 左室内径短絡率; LVEDd, 左室拡張末期径; IVSd, 拡張期左室中隔壁厚; LVPWd, 拡張期左室後壁厚

\*P<0.01 vs. CTL.

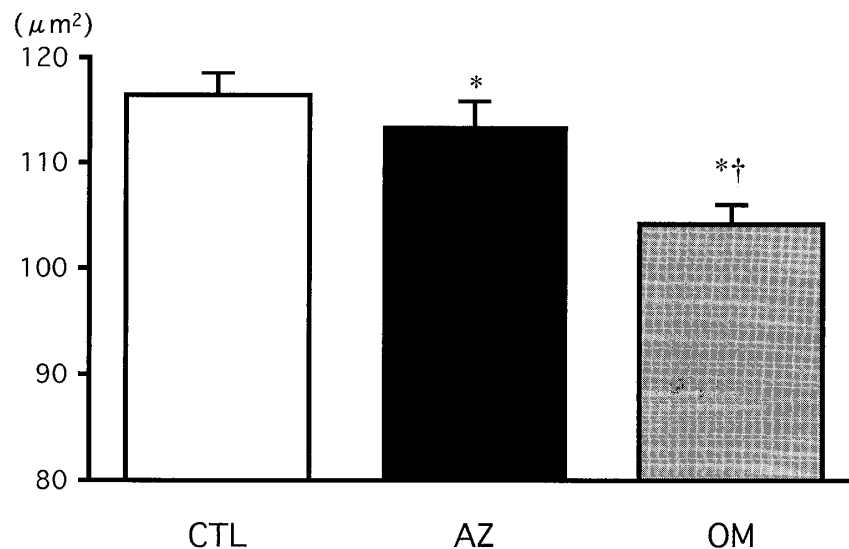


図1 左房心筋細胞の面積

AZ群 (113.4 ± 2.3 μm<sup>2</sup>) とOM群 (104.2 ± 1.8 μm<sup>2</sup>) は左房心筋細胞の肥大をCTL群 (116.4 ± 2.1 μm<sup>2</sup>) と比較し有意に抑制した。さらにOM群はAZ群と比し、有意に左房心筋細胞の肥大を抑制した。

\* p < 0.01 vs CTL群 † p < 0.01 vs AZ群

ロール群に比べ低下している傾向があったが、有意差は認められなかった。しかしOM群 (16.4 ± 3.1%) では、コントロール群ならびにAZ群に比べ明らかに3-nitrotyrosine染色率の減少を認めた (図3, p < 0.05)。

## 6. Rac-1 活性の抑制

OM群はCTL, AZ群に比し、Rac1活性を有意に抑制していた (図4, p < 0.05)。しかし、コントロール群とAZ群では有意差は認められなかった。

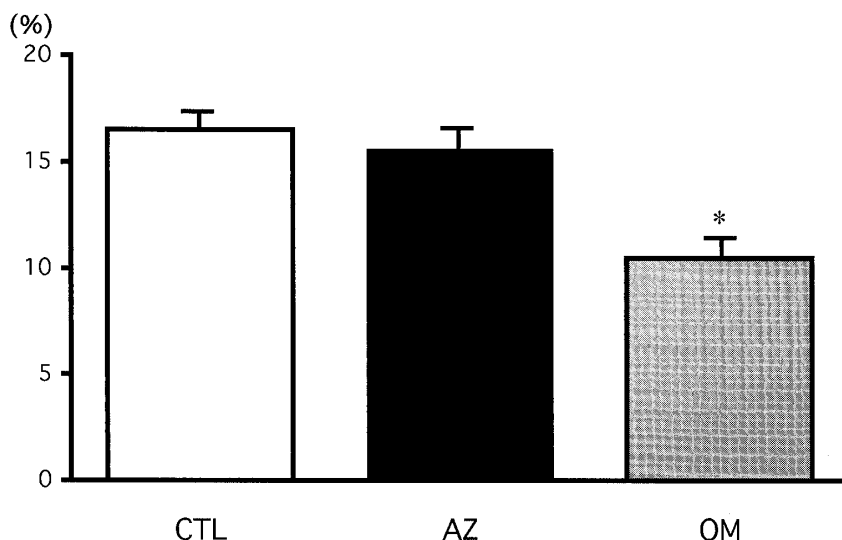


図2 左房の間質線維化の割合

OM群 (10.5 ± 0.9%) ではCTL群 (16.54 ± 1.0%), AZ群 (15.6 ± 0.9%) と比較し有意に間質の線維化を抑制された。

\*  $p < 0.01$  vs CTL群

## 考 察

本研究より、1. SHRに対する降圧作用が同程度であっても、OMはAZに比し、より心房の構造的リモデリングを抑制すること、2. OMの有益な効果は、small G蛋白のひとつであるRac1の活性低下を介した酸化ストレス抑制効果による可能性があること、が示唆された。

近年の大規模臨床研究において、ACEIとARBは、心不全ならびに高血圧患者における心房細動の新規発症を抑制することが報告されている<sup>4)5)</sup>。心房細動の発症自体が、心房の電気的リモデリングを引き起こし、心房細動を持続させることはよく知られている<sup>13)</sup>。さらに近年、心房細動の発症に、心房の構造的リモデリングが存在することの重要性が明らかにされつつある。動物実験においても、ACEIならびにARBは、心房の電気的、構造的リモデリングの両者に対する抑制作用をもち、心房細動の発症を予防することが示されている<sup>14)15)</sup>。心房リモデリングの抑制は、心房細動発症の機序から考えると、より上流での治療となる、いわゆる「upstream therapy」である。本研究の

結果からも、ARBがその新しい一端を担うことが期待できる。

心房リモデリングには心筋の肥大、アポトーシス、間質の線維化などが含まれる<sup>7)</sup>。本研究ではSHRにおいて、同程度の降圧作用でも、OM治療群は左房心筋の肥大、間質の線維化を、AZ治療群に比しより抑制していた。これはARBがCCBに比し、高血圧患者において、より強い抗心房リモデリング作用を有する可能性を示唆している。心房心筋のアポトーシス<sup>7)16)</sup>は、今回の実験では3群いずれにおいても検出できなかったが(データ未提示)、心房のリモデリングにおけるアポトーシスの役割はまだ議論の残るところであり、さらに病期やモデル動物に依存している可能性もある。

ARBによる心房リモデリング抑制の機序については、左室の血行力学の改善、心房の伸展の抑制などが考えられているが、いまだ不明な点が多い<sup>17)</sup>。近年、酸化ストレスが心血管の生理学、病態生理学において重要な役割を果たしていることが明らかにされてきている<sup>18)19)</sup>。活性酸素種は心臓のリモデリングに対して、二次性伝達物質と

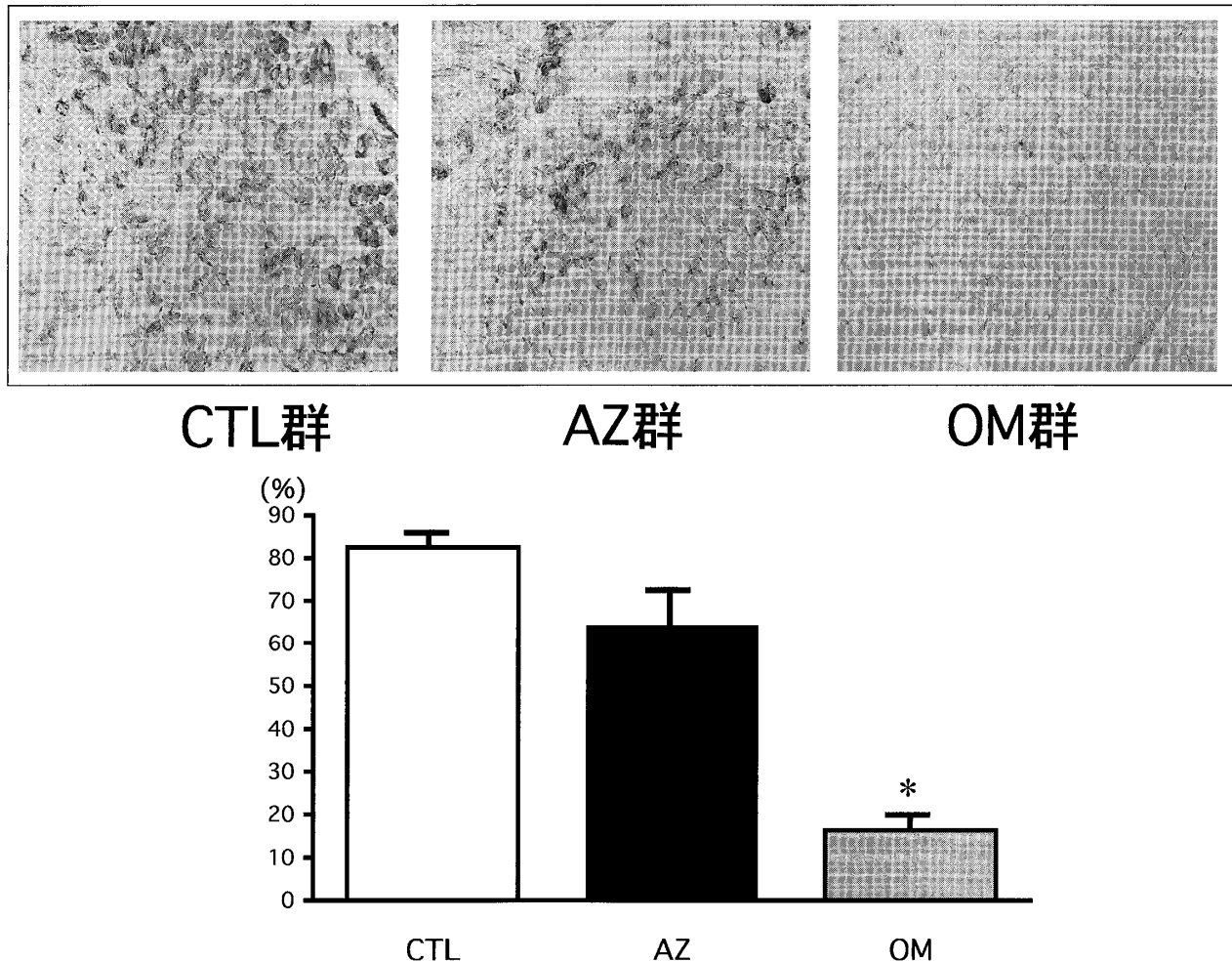


図3 左房における3-nitrotyrosineの染色率

OM群 (16.4 ± 3.1%) ではCTL群 (85.2 ± 2.2%), AZ群 (64.1 ± 9.5%) に比較し有意に染色率が抑制された。

\*  $p < 0.01$  vs CTL群・AZ群

してのシグナル分子として、あるいは直接心筋細胞を障害することで関与していると考えられている<sup>20)21)</sup>。本研究でもOMの心肥大、間質線維化の抑制は、3-nitrotyrosine染色で示されたように、活性酸素種の産生抑制を伴っていた。心血管系において、アンジオテンシンⅡは活性酸素種産生の重要な因子であり、さらにSHRの発症、進行には、アンジオテンシン系の活性と活性酸素種が重要な役割を果たすことが報告されている<sup>8)22)</sup>。以上の結果はARBのもつ抗酸化作用が、高血圧患者における心房の構造的リモデリングを抑制す

る重要な機序の一つであることを支持するものである。さらに、抗酸化作用を持つHMGCoA阻害薬、スタチンも犬において、心房頻拍刺激による心房細動誘発性を低下させることが報告されている<sup>9)</sup>。

心筋細胞における活性酸素種産生部位はミトコンドリア電子伝達系、キサンチンオキシダーゼ、そしてNADPHオキシダーゼなどである。アンジオテンシンⅡは主にNADPHオキシダーゼを介して活性酸素種を産生する<sup>23)</sup>。Small G蛋白のひとつであるRac1はNADPHオキシダーゼを構成

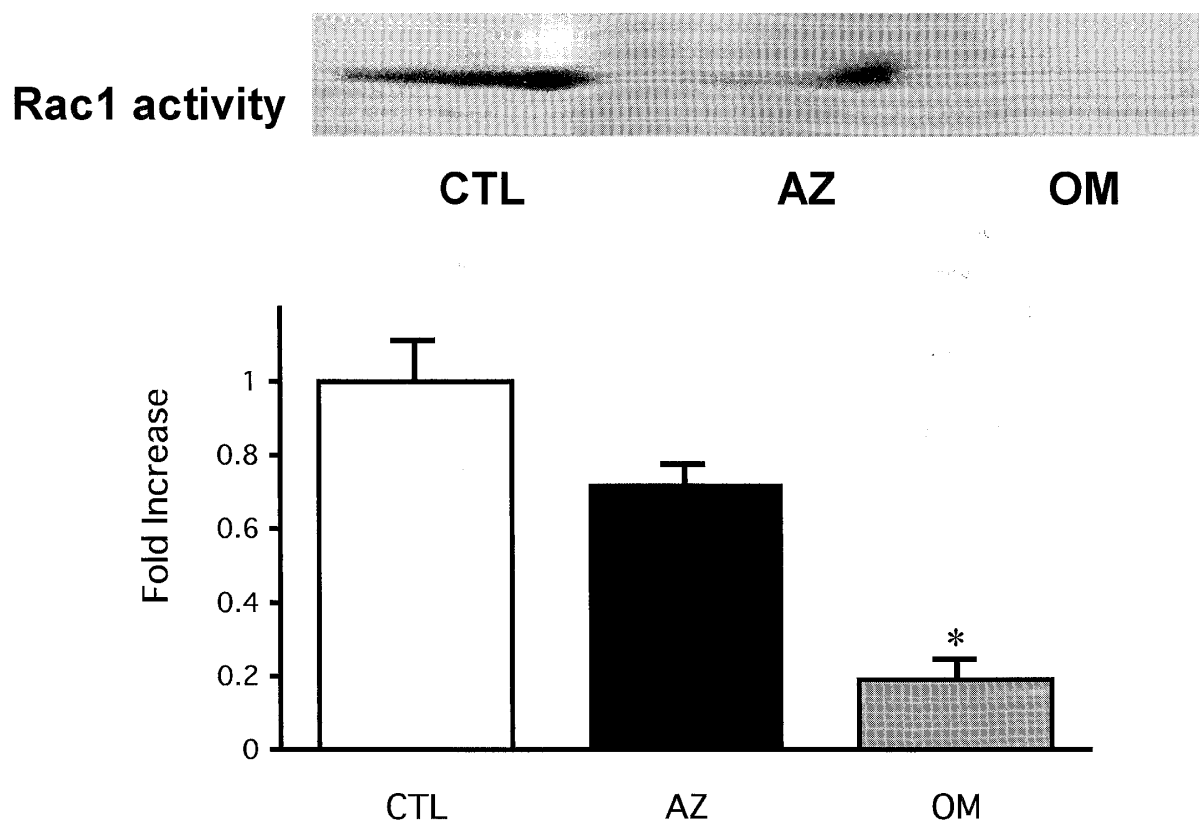


図4 左房における Rac1 活性

OM 群では CTL 群, AZ 群に比較し有意に Rac1 活性が抑制された.

\*  $p < 0.01$  vs CTL 群・AZ 群

するコンポーネントであり, Rac1の活性は NADPH オキシダーゼの活性と相関する. 今回, 我々は OM が SHR の左房組織における Rac1 の活性を抑制することを発見した. この結果は 3-nitrotyrosine 染色の結果とあわせ, OM が NADPH オキシダーゼの活性を抑えることで活性酸素種の産生を抑制している可能性を示唆している. 最近, Kim らはヒト心房筋においても, NADPH オキシダーゼが活性酸素種の主な産生部位であることを報告し<sup>24)</sup>, Dudley らはブタの心房を頻回刺激することで心房細動を誘発し, 心房細動が Rac1 活性上昇による左房における酸化ストレス増大が原因であることを証明した<sup>25)</sup>. 高血圧患者においても, NADPH オキシダーゼを標的とした治療が心房リモデリング抑制につながる

ものと考えられる.

## 結 語

SHR において OM は AZ に比し, 心房の構造的リモデリングをより抑制した. OM の効果は降圧作用と独立しており, 酸化ストレス抑制を介している可能性が示唆された. ARB は CCB に比し, 高血圧に関連した心臓リモデリング, 心房細動を含めた心臓病の発症に対する抑制に, より効果的である可能性が示された.

## 謝 辞

本研究のご指導及び論文のご校閲を頂いた新潟大学医歯学総合病院循環器分野, 相澤義房教授, 小玉誠助教

授, また実験の遂行にあたり直接指導を頂いた伊藤正洋先生, 新潟大学医歯学総合病院保健学科, 池主雅臣助教授に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Healey JS and Connolly SJ: Atrial fibrillation: hypertension as a causative agent, risk factor for complications, and potential therapeutic target. *Am J Cardiol* 22: 9G - 14G, 2003.
- 2) Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH, Kronmal RA, Cushman M, Fried LP, White R, Furberg CD and Rautaharju PM: Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. *Circulation* 96: 2455 - 2461, 1997.
- 3) Wachtell K, Lehto M, Gerds E, Olsen MH, Hornestam B, Dahlof B, Ibsen H, Julius S, Kjeldsen SE, Lindholm LH, Nieminen MS and Devereux RB: Angiotensin II receptor blockade reduces new-onset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to atenolol: the Losartan Intervention For End Point Reduction in Hypertension (LIFE) study. *J Am Coll Cardiol* 45: 712 - 719, 2005.
- 4) Healey JS, Baranchuk A, Crystal E, Morillo CA, Garfinkle M, Yusuf S and Connolly SJ: Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 45: 1832 - 1839, 2005.
- 5) Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snively DB and Chang PI: Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE) *Lancet* 349: 747 - 752, 1997.
- 6) Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 327: 685 - 691, 1992.
- 7) Goette A and Lendeckel U: Nonchannel drug targets in atrial fibrillation. *Pharmacol Ther* 102: 17 - 36, 2004.
- 8) Minhas KM, Saraiva RM, Schuleri KH, Lehrke S, Zheng M, Saliaris AP, Berry CE, Barouch LA, Vandegaer KM, Li D and Hare JM: Xanthine oxidoreductase inhibition causes reverse remodeling in rats with dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 98: 271 - 279, 2006.
- 9) Shiroshita - Takeshita A, Schram G, Lavoie J and Nattel S: Effect of simvastatin and antioxidant vitamins on atrial fibrillation promotion by atrial-tachycardia remodeling in dogs. *Circulation* 110: 2313 - 2319, 2004.
- 10) Mitsuma W, Ito M, Kodama M, Fuse K, Okamura K, Minagawa S, Kato K, Hanawa H, Toba K, Nakazawa M and Aizawa Y: Cardioprotective effects of recombinant human erythropoietin in rats with experimental autoimmune myocarditis. *Biochem Biophys Res Commun* 344: 987 - 994, 2006.
- 11) Adachi T, Matsui R, Xu S, Kirber M, Lazar HL, Sharov VS, Schoneich C and Cohen RA: Antioxidant improves smooth muscle sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>(2+)</sup>-ATPase function and lowers tyrosine nitration in hypercholesterolemia and improves nitric oxide-induced relaxation. *Circ Res* 90: 1114 - 1121, 2002.
- 12) Ito M, Adachi T, Pimentel DR, Ido Y and Colucci WS: Statins inhibit beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in adult rat ventricular myocytes via a Rac1-dependent mechanism. *Circulation* 110: 412 - 418, 2004.
- 13) Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R and Allesie MA: Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 92: 1954 - 1968, 1995;
- 14) Li D, Shinagawa K, Pang L, Leung TK, Cardin S, Wang Z and Nattel S: Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure. *Circulation* 104: 2608 - 2614, 2001.
- 15) Kumagai K, Nakashima H, Urata H, Gondo N, Arakawa K and Saku K: Effects of angiotensin II type 1 receptor antagonist on electrical and structural remodeling in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 41: 2197 - 2204, 2003.



- 16) Cardin S, Li D, Thorin - Trescases N, Leung TK, Thorin E and Nattel S: Evolution of the atrial fibrillation substrate in experimental congestive heart failure: angiotensin - dependent and - independent pathways. *Cardiovasc Res* 60: 315 - 325, 2003.
- 17) Ehrlich JR, Hohnloser SH and Nattel S: Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence. *Eur Heart J* 27: 512 - 518, 2006.
- 18) Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K and Colucci WS: Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol* 34: 379 - 388, 2002.
- 19) Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, Reiser PJ, McCarthy PM, Van Wagoner DR and Bauer JA: Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. *Circulation* 104: 174 - 180, 2001.
- 20) Pimentel DR, Amin JK, Xiao L, Miller T, Viereck J, Oliver - Krasinski J, Baliga R, Wang J, Siwik DA, Singh K, Pagano P, Colucci WS and Sawyer DB: Reactive oxygen species mediate amplitude - dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. *Circ Res* 89: 453 - 460, 2001.
- 21) Kwon SH, Pimentel DR, Remondino A, Sawyer DB and Colucci WS: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regulates cardiac myocyte phenotype via concentration - dependent activation of distinct kinase pathways. *J Mol Cell Cardiol* 35: 615 - 621, 2003.
- 22) Pfeffer JM, Pfeffer MA, Mirsky I and Braunwald E: Regression of left ventricular hypertrophy and prevention of left ventricular dysfunction by captopril in the spontaneously hypertensive rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79: 3310 - 3314, 1982.
- 23) Griendling KK and FitzGerald GA: Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 108: 1912 - 1916, 2003.
- 24) Kim YM, Guzik TJ, Zhang YH, Zhang MH, Kattach H, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM and Casadei B: A myocardial Nox2 containing NAD(P)H oxidase contributes to oxidative stress in human atrial fibrillation. *Circ Res* 97: 629 - 636, 2005.
- 25) Dudley SC Jr, Hoch NE, McCann LA, Honeycutt C, Diamandopoulos L, Fukai T, Harrison DG, Dikalov SI and Langberg J: Atrial fibrillation increases production of superoxide by the left atrium and left atrial appendage: role of the NADPH and xanthine oxidases. *Circulation* 112: 1266 - 1273, 2005.

(平成 19 年 1 月 9 日受付)