

〈特集：心腎連関を考慮した慢性腎臓病（CKD）
のトータルマネジメント〉

圧依存性、圧非依存性の全身マネジメント、 酸化ストレスに注目して

下澤 達雄

Pressure-dependent and pressure-independent protection of CV events; the role of oxidative stress

Tatsuo Shimosawa

Summary Blood pressure control is effective in preventing a cardiovascular event in patients with multiple risks such as a metabolic syndrome or CKD patients also in risk of a cardio-renal syndrome. Moreover, it is recognized that in a cardio-renal relationship in which multiple organs are involved, not only blood pressure control but also the suppression of oxidative stress should be aimed at as the pressure-independent factor.

In recent years, the morbidity of metabolic syndromes, CKD, or cardio-renal syndromes are increasing. Thus, it is important to establish diagnostic tools to evaluate an oxidative stress state as well as new therapeutic tools to decrease oxidative stress.

Key words: NADPH oxidase, Nitric Oxide, Angiotensin II

I. はじめに

心腎が連関して心血管イベントを引き起こすことが注目されるようになって久しい。腎臓の機能が低下するとなぜ心血管イベントにつながるのかの研究から、そこには共通の因子として血管内皮機能の低下がいられている。さらに、血管内皮機能が低下する要因として血圧による物理的障害のほかにも酸化ストレス、uremic toxin、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系といった液性因子の関与が指摘されている。これらのうち、動物実験、ヒトでの検討、特に、観察研究と介入研究の双方がそろってお

りもっとも科学的レベルの高いエビデンスと言えるのは血圧の関与である。本稿では血圧をマネージすることによる心腎連関の治療、すなわち、圧依存性のマネジメントと血圧以外のファクター、特に、酸化ストレスをマネージメントすること、すなわち、圧非依存性のマネジメントについて概説する。

II. 圧依存性の全身マネジメント

高血圧が各種心血管疾患、腎機能低下の原因となることは論を待たない。現在の臨床上の問題は高血圧をいつから治療するか、また、血圧

をどのように評価して、どの血圧値が望ましいのかという点にある。

日本高血圧学会のガイドラインでは正常高値の範囲の血圧値でもリスクファクターとしてメタボリックシンドロームやCKD、糖尿病、あるいは心血管イベントの既往がある場合にはハイリスク群とし、介入が必要であるとしている(図1)。また、動物実験あるいはヒトではTROPHY試験⁹⁾をみても正常血圧の患者にレニン・アンジオテンシン系の抑制を行うと高血圧の発症を抑制あるいは遅らせることができる。また、米国の看護師の疫学調査からは生活習慣の改善、特に、減塩は降圧や高血圧発症予防に効果があるが、TOHPS試験をみると心血管イベント抑制効果を認めるには10年以上の時間がかかる。これらの研究結果を考えると、早期、とくに血圧が高くはないが、家族歴のあるような若年者では減塩を心がけて高血圧の発症を予防することが腎機能低下や心血管イベントの抑制につながると考えられる。

一方、高血圧患者において治療薬剤による臓器保護について薬剤間の差は、すでに臓器障害

を起こしている症例の二次予防ではエビデンスが構築されているが、一次予防では未だに降圧効果に勝るものは十分に証明されているとは言えない。よって、すでに高血圧を発症しているものの、まだ心筋梗塞、狭心症、腎機能障害、脳血管障害などの臓器障害を認めない患者では臓器障害を予防するには圧依存性の全身管理が必須であり、生活習慣の改善で十分な降圧が得られない場合は降圧効果を見ながら治療薬を選択する必要がある。

一言に薬剤を選択するといっても高血圧患者の薬剤に対する反応性は差があることから、現在ではレニンアンジオテンシン系の抑制剤、カルシウム拮抗薬、利尿剤、β遮断薬から降圧度を見ながらtry and errorで薬剤を選んでいるのが現状である。テイラーメイドメディシンとして個々の患者にあった薬剤を選ぶための指標の開発が望まれる。実際利尿薬を選ぶ際に有効となりうる遺伝子多型を検討することも行われたが、残念ながら今のところ決め手となる遺伝子多型は同定されていない。小規模の臨床試験ではNT-proBNPが正常範囲内で高めの患者で利尿薬の

血圧分類	正常高値血圧	I 度高血圧	II 度高血圧	III 度高血圧
リスク層 (血圧以外のリスク要因)	正常高値血圧 130-139/ 85-89mmHg	I 度高血圧 140-159/ 90-99mmHg	II 度高血圧 160-179/ 100-109mmHg	III 度高血圧 ≥180/ ≥110mmHg
リスク第一層 (危険因子がない)	付加リスク なし	低リスク	中等リスク	高リスク
リスク第二層 (糖尿病以外の1-2個の危険因子、メタボリックシンドローム*がある)	中等リスク	中等リスク	高リスク	高リスク
リスク第三層 (糖尿病、CKD、臓器障害/心血管病、3個以上の危険因子のいずれかがある)	高リスク	高リスク	高リスク	高リスク

* リスク第二層のメタボリックシンドロームは、予防的観点から以下のように定義する。正常高値以上の血圧レベルと腹部肥満(男性85cm以上、女性90cm以上)に加え、血糖値異常(空腹時血糖110-125mg/dL、かつ/または糖尿病に至らない耐糖能異常)、あるいは脂質代謝異常のどちらかを有するもの。

図1 診察室血圧に基づいた脳心血管リスク層別化

効果が大きいとする報告 (personal communication) もあるが、大規模な検討が必要であろう。

また、我々は最近、交感神経活動が腎臓のナトリウムチャンネルの活性を変化させ、交感神経活動が活性化すると利尿剤が効きやすくなることを報告した²⁾。このように患者の状態によって薬剤の感受性が刻々と変化する可能性もわかってきていることから、圧依存性の全身管理の難しさがうかがい知れる。

一方、二次予防に関しては多くの動物実験に裏付けられた臨床試験が報告されており、圧依存性の管理に加え圧非依存性の臓器保護が知られている。我々は圧非依存性の臓器保護効果として酸化ストレスに注目して検討を重ねてきた。

Ⅲ. 圧非依存性の全身マネージメント 酸化ストレス

酸化ストレスは全身の様々な臓器に直接に細胞障害を引き起こすのみならず、細胞内情報伝達にかかわり、遺伝子発現、転写因子の活性化、リン酸化酵素の修飾、イオンチャンネル活性など幅広い生理作用を有することがわかってきた³⁾。その結果として、炎症の惹起、再生幹細胞機能

の障害などを介して2次的に臓器障害を悪化させること考えられている。心血管病の発症においても、酸化ストレスは直接に血圧とは独立して心筋、血管障害を起こすのみならず、心血管病のリスクであるメタボリックシンドロームとも深い関係がある。メタボリックシンドロームの主要構成要素の内臓肥満はさらなる酸化ストレスを産むことが言われており、また、高血圧、耐糖能異常の発症にも酸化ストレスが関与することが言われている。

Ⅳ. 酸化ストレスによる細胞、 心血管への直接作用

酸化ストレスは細胞内、および、細胞膜で常に産生されている。その産生源としてはミトコンドリア、NADPH oxidase、そしてキサンチンオキシダーゼ、ミエロペルオキシダーゼが重要と言われている。シクロオキシゲナーゼやリポオキシゲナーゼも酸化ストレス産生源として知られているが、その生理的作用はまだ不明である。さらに産生された酸化ストレスはNOと反応しONOO-という強力な酸化ストレスを産みだすことから特に心血管病ではNOも重要な因子として

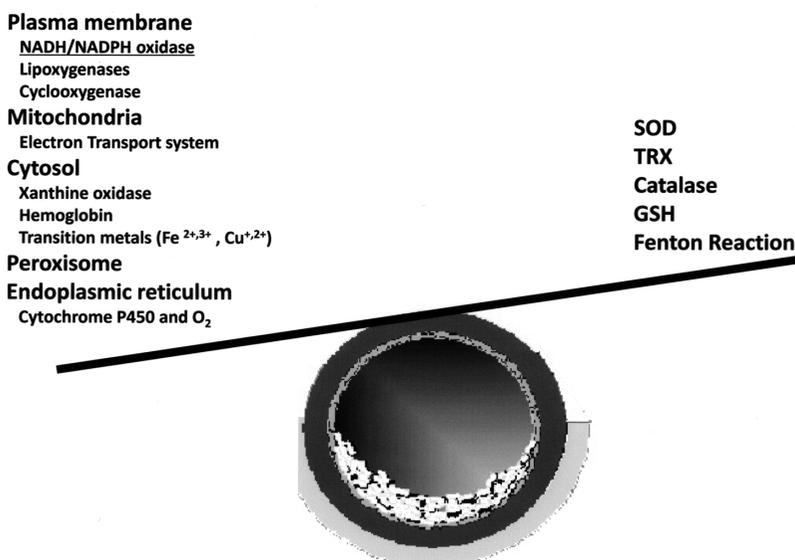


図2 酸化ストレス産生と消去のバランス

注目されている。一方、これらの酸化ストレスはSuperoxide dismutase (SOD)、glutathione peroxidase、catalaseによりH₂O₂からH₂Oへと安定化し、酸化ストレスが除去される(図2)。このバランスが崩れ細胞内で増加した酸化ストレスはほぼすべてのアミノ酸を修飾するが、特に、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン、システインが修飾されやすい⁴⁾。その結果、多くのたんぱくが修飾を受けることでその機能を失ったり、機能の異常が生じる(図3)。たとえば、細胞内ではHypoxia-inducible factor I α (HIF-1 α)を酸化ストレスが分解することでHIF-1を介した遺伝子発現の制御をつかさどる。あるいは、細胞接着に関与するpp125^{FAK}のリン酸化の変化⁵⁾やapoptosisの誘導が生じる。このような直接作用が血管内皮細胞や血管平滑筋に生じるとNOの生物活性が抑制される。さらに、マクロファージの遊走、接着が亢進し動脈硬化を惹起することにつながる。酸化ストレスはこのほかにもMAPKやAktのリン酸化を亢進させ平滑筋の増殖を促進し動脈硬化を悪化させる。また、カルシウムチャンネルやイオンチャンネルが活性化することで細胞内カルシウムの増加とpHの低下を引き起こし、血管平滑筋の収縮が亢進する。心

筋においては病的肥大、アポトーシスを誘導し、細胞内イオン環境の変化に伴い、心筋の収縮力の低下につながる。また、ミトコンドリアの機能の低下は心筋細胞の代謝を低下させることにつながる。

これら心血管の構成細胞のみならず神経、腎臓においても酸化ストレスは影響を及ぼす。すなわち、低酸素状態をNADPH oxidaseの構成要素であるチトクロームb558やミトコンドリアが感知し、化学受容器反射をカリウムチャンネル活性を変化させることで制御することも指摘され⁶⁾、循環調節にも関与することが考えられている。

V. 酸化ストレスによる心血管病リスクの増大

1. 高血圧

酸化ストレスによる血圧上昇、あるいは抗酸化薬による軽度の血圧降下作用メカニズムにはNOの生物活性への影響、血管構築、腎臓のナトリウム再吸収機構、心機能、中枢神経への直接作用が考えられている。酸化ストレスの産生源としてはキサンチンオキシダーゼ、NADPH oxidaseなどが知られているが、これらの酵素の制御についてはまだ不明な点も多い。さらに酸

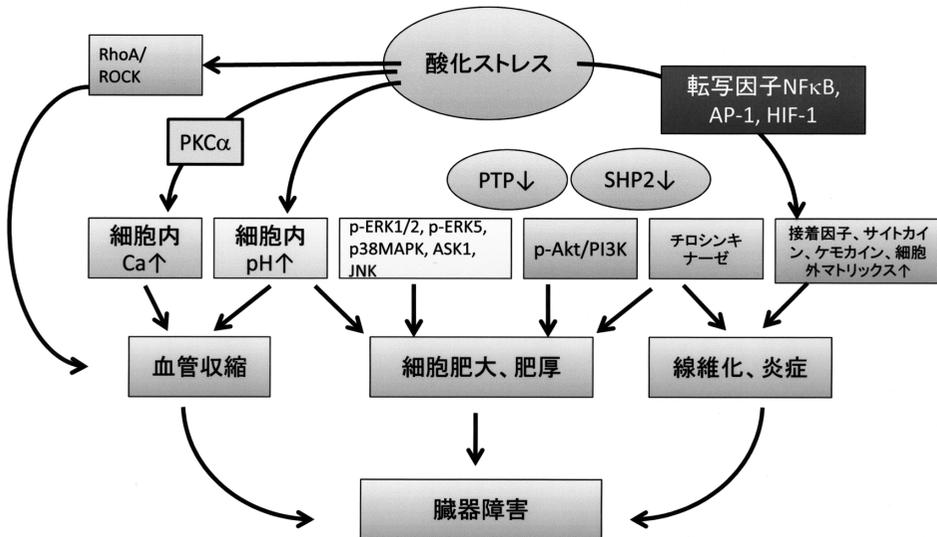


図3 酸化ストレスと細胞内シグナリン

化ストレスによる血圧上昇はさらなる酸化ストレスを産み、悪循環を築くことも明らかになってきた。また、多くのデータは動物モデルを用いたもので、ヒトにおける酸化ストレスの重要性はまだ十分に示されているとは言えない。

酸化ストレスの産生源の一つであるキサンチンオキシダーゼの関与については自然発症高血圧ラット、DOCA食塩高血圧ラット、Ren2ラットなどで示されてきた。特にキサンチンオキシダーゼ阻害剤であるアロプリノール⁷⁾やフェブクソスタット⁸⁾が高血圧性臓器障害にも効果があったとする報告は今後の治療の可能性として興味深い。一方、ヒトにおいてはキサンチンオキシダーゼの遺伝子変異と高血圧の関連が日本人で示されており⁹⁾、今後の研究に期待される。NADPH oxidaseのサブユニットうちNox4はアンジオテンシンをはじめとする各種血管作動物質、伸張刺激のような物理刺激により影響を受けることが知られているが、最近では、さらに、Rac、CIC-3、Poldip2といった分子がNOX4を制御することが報告された¹⁰⁾。動物実験ではレニンアンジオテンシン系を賦活するようなモデルでNADPH oxidaseの活性化が昇圧のみならず臓器障害にも関与することが報告されている。我々もレニンアンジオテンシナルドステロン系が酸化ストレスを産生することに加え酸化ストレスによりアルドステロン受容体が活性化し、血管病変、心拡張機能障害を惹起することを明らかにしてきた¹¹⁻¹⁴⁾。しかし、ヒトの検討ではNOX2の欠損例ではNO依存性血管拡張反応は正常例に比べて増大しているが、安静時の血管径や血圧に変化が認められておらず、今後の検討が必要である¹⁵⁾。

前述のように酸化ストレスとNOは密接な関連を持っている。NOSは通常はNOを産生し、血管拡張に作用するが、NOSの活性化には補酵素としてtetrahydrobiopterinが必要であるが、これが欠乏するとNOSはNOではなく酸化ストレスを産生することになる。いくつかの動物モデルで実際tetrahydrobiopterinの産生低下、あるいは、代謝の亢進が示されており、補充療法による降圧効果も報告されている。ヒトにおいても現在臨床試験が進行中である。

上述のような血管に対する作用のほかに体液量調節にも酸化ストレスは関与する。腎臓での

圧利尿は血圧調節、特に、食塩感受性高血圧において重要な役割を果たすことはよく知られているが、圧利尿の調節にも酸化ストレスが関与することが最近明らかになってきた^{16,17)}。特に、腎髄質にはNOSが大量に存在すること、NOが腎髄質血流を増加させ、ナトリウム利尿を起こすことが知られている。一方、スーパーオキシドO₂⁻はNa/K/2ClチャンネルとNa/H交換チャンネルを活性化させ、ナトリウム再吸収を増加させる。このように腎臓、特に、髄質におけるNOと酸化ストレスのバランスは食塩感受性高血圧発症に関連することが示唆されてきた。

最近の研究ではこのバランスを崩す因子として動物モデルでの検討が行われ、アンジオテンシンII、細胞内pHの関与が報告されている。さらに、虚血再灌流モデルの検討から、HIF-1 α を介した遺伝子発現が食塩感受性の発症を抑制することが明らかになってきた。今後、HIF-1 α と酸化ストレスによる遺伝子発現調節機構の解明が期待される。

また、酸化ストレスの増加は腎交感神経活動や中枢でのステロイドの作用を亢進させ、高血圧、特に、食塩感受性高血圧を発症させるばかりではなく、血圧調節中枢の活性や記憶にも影響を与えることが明らかになっている^{18,19)}。中枢での酸化ストレスを増大させる因子としては食塩摂取のほかにもレニンアンジオテンシン系、あるいは腎臓からのシグナルが関与する可能性が考えられている。

2. 糖尿病

酸化ストレスがインスリン抵抗性を惹起するメカニズムは様々な基礎研究から明らかになっている。大量の酸化ストレスはtyrosine phosphataseを抑制するのでインスリン受容体のチロシンリン酸化が亢進するが、生体内で起こりうる酸化ストレスのレベルではIRSのリン酸化の阻害、GLUT4の転写の抑制が認められ、インスリン抵抗性を惹起する。実際、我々の作成した内因性の抗酸化物質であるアドレノメデュリン欠損マウスにおいてもアンジオテンシンIIや加齢による酸化ストレスの増大はインスリン抵抗性を発症することが明らかになっている^{20,21)}。

さらに、糖尿病状態ではミトコンドリアからの酸化ストレス産生は増強し、PKC、NFkBの活

性化やAGEの産生が促進する。このAGEは細胞表面の受容体に結合し細胞内グルタチオンを低下させさらなる酸化ストレスの増大をひきおこし、さらなる臓器障害につながると考えられている。

VI. 酸化ストレスの臨床応用について

酸化ストレスを直接患者で測定することは難しく、酸化ストレスにより変化を受けたタンパク、脂質、DNAを測定する試みが行われているがいずれも保険適応外である。それぞれ3-nitrotyrosine、Isoprostane、8OHdGといったものが測定される。最近では造影剤による腎障害の予後判定にも有用である可能性が報告されているが²²⁾、広く心血管病の診断に、予後判定に有用性が認められることが望まれる。

酸化ストレスをターゲットにした治療については観察研究や小規模の臨床試験があるにすぎず、その結果も一定の結果が得られていない。特に、抗酸化作用を有するビタミンC、Eによる心血管イベントの抑制効果は疑問視されている。動物実験では有用と思われるいくつかの薬剤がある。Harrisonらはmultidrug resistant protein Iの阻害剤が細胞内のグルタチオンの減少を抑制し、内皮を保護する可能性を提唱している²³⁾。またgp91ds-tat²⁴⁾、GKT136901²⁵⁾のような血管のNADPH oxidaseを阻害する薬剤は好中球の貪食能を阻害することなく心血管イベントを抑制する可能性があり、期待できるが安全性、効果については臨床試験の結果を待つ必要がある²⁶⁾。より局所での治療では冠動脈の再狭窄に対しNOXのsiRNAを用いる方法が動物では成功している²⁷⁾。冠動脈疾患の治療については今までも多くの遺伝子治療が試みられてきているが、臨床での有用性が確立するには至っていない。酸化ストレスをターゲットにした治療の有用性が確立されることを期待している。

VII. まとめ

我が国において増加の一途をたどる心血管イベントの抑制のためにはしっかりとした降圧をすることがまず大切であるが、生活習慣の改善は難しく、また、現状の薬剤では十分な降圧が

得られないことも多い。最近では腎血管の除神経術などの有効性が報告されているが、神経再生の問題もあり、まだ検討を要する^{28, 29)}。

一方、圧非依存性の全身マネージメントの上で酸化ストレスは直接に心血管細胞の機能を制御するのみならず、神経系にも関与し循環調節に影響を与えることから重要と考えられる。また、酸化ストレスは心血管イベントのリスクファクターである高血圧、糖尿病の発症にも関与し、さらに、特に、レニンアンジオテンシン系、肥満、糖尿病は、さらに、酸化ストレスを増大させる病態である。動物実験では酸化ストレスの抑制が、新たな治療法として有望視されているが、臨床研究の結果は十分に得られているとはいえない。今まで行われてきたレニンアンジオテンシン系阻害剤、スタチンといった薬剤の臨床研究で培ったノウハウをうまく活用し、酸化ストレスをターゲットにした治療法の安全性と有用性、特に、どのような患者に有効であるかが示されることを期待したい。

文献

- 1) Julius S, Nesbitt SD, Egan BM, Weber MA, Michelson EL, Kaciroti N, Black HR, Grimm RH, Jr., Messerli FH, Oparil S, Schork MA: Feasibility of treating prehypertension with an angiotensin-receptor blocker. *N Engl J Med*, 354(16): 1685-1697, 2006.
- 2) Mu S, Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, Marumo T, Yatomi Y, Geller DS, Tanaka H, Fujita T: Epigenetic modulation of the renal beta-adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. *Nat Med*, 17(8): 1220, 2011.
- 3) Droge W: Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82(1): 47-95, 2002.
- 4) Grune T, Reinheckel T, Davies KJ: Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J*, 11(7): 526-534, 1997.
- 5) Schaller MD, Borgman CA, Cobb BS, Vines RR, Reynolds AB, Parsons JT: pp125FAK a structurally distinctive protein-tyrosine kinase associated with focal adhesions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89(11): 5192-5196, 1992.
- 6) Acker H: Mechanisms and meaning of cellular oxygen sensing in the organism. *Respir Physiol*, 95(1): 1-10, 1994.
- 7) Feig DI, Soletsky B, Johnson RJ: Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial. *JAMA*,

- 300(8): 924-932, 2008.
- 8) Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Soto V, Avila-Casado C, Franco M, Zhao L, Johnson RJ: Treatment with the xanthine oxidase inhibitor febuxostat lowers uric acid and alleviates systemic and glomerular hypertension in experimental hyperuricaemia. *Nephrol Dial Transplant*, 23(4): 1179-1185, 2008.
 - 9) Yang J, Kamide K, Kokubo Y, Takiuchi S, Horio T, Matayoshi T, Yasuda H, Miwa Y, Yoshii M, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Tomoike H, Miyata T, Kawano Y: Associations of hypertension and its complications with variations in the xanthine dehydrogenase gene. *Hypertens Res*, 31(5): 931-940, 2008.
 - 10) Lassegue B, Griendling KK. NADPH oxidases: functions and pathologies in the vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 30(4): 653-661, 2012.
 - 11) Shimosawa T, Shibagaki Y, Ishibashi K, Kitamura K, Kangawa K, Kato S, Ando K, Fujita T: Adrenomedullin, an Endogenous Peptide, Counteracts Cardiovascular Damage. *Circulation*, 105(1): 106-111, 2002.
 - 12) Wang H, Shimosawa T, Matsui H, Kaneko T, Ogura S, Uetake Y, Takenaka K, Yatomi Y, Fujita T: Paradoxical mineralocorticoid receptor activation and left ventricular diastolic dysfunction under high oxidative stress conditions. *J Hypertens*, 26(7): 1453-1462, 2008.
 - 13) Matsui H, Shimosawa T, Uetake Y, Wang H, Ogura S, Kaneko T, Liu J, Ando K, Fujita T: Protective effect of potassium against the hypertensive cardiac dysfunction: association with reactive oxygen species reduction. *Hypertension*, 48(2): 225-231, 2006.
 - 14) Matsui H, Ando K, Kawarazaki H, Nagae A, Fujita M, Shimosawa T, Nagase M, Fujita T: Salt excess causes left ventricular diastolic dysfunction in rats with metabolic disorder. *Hypertension*, 52(2): 287-294, 2008.
 - 15) Violi F, Sanguigni V, Loffredo L, Carnevale R, Buchetti B, Finocchi A, Tesaro M, Rossi P, Pignatelli P: Nox2 is determinant for ischemia-induced oxidative stress and arterial vasodilatation: a pilot study in patients with hereditary Nox2 deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26(8): e131-132, 2006.
 - 16) Cowley AW, Jr: Renal medullary oxidative stress, pressure-natriuresis, and hypertension. *Hypertension*, 52(5): 777-786, 2008.
 - 17) Feng D, Yang C, Geurts AM, Kurth T, Liang M, Lazar J, Mattson DL, O'Connor PM, Cowley AW, Jr: Increased expression of NAD(P)H oxidase subunit p67(phox) in the renal medulla contributes to excess oxidative stress and salt-sensitive hypertension. *Cell Metab*, 15(2): 201-208, 2012.
 - 18) Nagae A, Fujita M, Kawarazaki H, Matsui H, Ando K, Fujita T: Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension. *Circulation*, 119(7): 978-986, 2009.
 - 19) Kawakami-Mori F, Shimosawa T, Wang H, Ogura S, Mu S, Yatomi Y, Fujita T: NADPH oxidase-mediated Rac1 GTP activity is necessary for non-genomic actions of the mineralocorticoid receptor in the CA1 region of the rat hippocampus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 302(4): E425-32, 2012.
 - 20) Xing G, Shimosawa T, Ogihara T, Matsui H, Itakura K, Qingyou X, Asano T, Ando K, Fujita T: Angiotensin II-induced insulin resistance is enhanced in adrenomedullin-deficient mice. *Endocrinology*, 145(8): 3647-3651, 2004.
 - 21) Shimosawa T, Ogihara T, Matsui H, Asano T, Ando K, Fujita T: Deficiency of adrenomedullin induces insulin resistance by increasing oxidative stress. *Hypertension*, 41(5): 1080-1085, 2003.
 - 22) Tajiri K, Maruyama H, Sato A, Shimojo N, Saito T, Endo M, Aihara H, Kawano S, Watanabe S, Sakai S, Aonuma K: Prediction of Chronic Renal Insufficiency After Coronary Angiography by an Early Increase in Oxidative Stress and Decrease in Glomerular Filtration Rate. *Circ J*, 75(2): 437-42, 2011.
 - 23) Widder JD, Guzik TJ, Mueller CF, Clempus RE, Schmidt HH, Dikalov SI, Griendling KK, Jones DP, Harrison DG. Role of the multidrug resistance protein-1 in hypertension and vascular dysfunction caused by angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27(4): 762-768, 2007.
 - 24) Rey FE, Cifuentes ME, Kiarash A, Quinn MT, Pagano PJ: Novel competitive inhibitor of NAD(P)H oxidase assembly attenuates vascular O(2)(-) and systolic blood pressure in mice. *Circ Res*, 89(5): 408-414, 2001.
 - 25) Vendrov AE, Madamanchi NR, Niu XL, Molnar KC, Runge M, Szyndralewicz C, Page P, Runge MS: NADPH oxidases regulate CD44 and hyaluronic acid expression in thrombin-treated vascular smooth muscle cells and in atherosclerosis. *J Biol Chem*, 285(34): 26545-26557, 2010.
 - 26) Williams HC, Griendling KK: NADPH oxidase inhibitors: new antihypertensive agents? *J Cardiovasc Pharmacol*, 50(1): 9-16, 2007.
 - 27) Li JM, Newburger PE, Gounis MJ, Dargon P, Zhang X, Messina LM: Local arterial nanoparticle delivery of siRNA for NOX2 knockdown to prevent restenosis in an atherosclerotic rat model. *Gene Ther*, 17(10): 1279-1287, 2010.

- 28) Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Bohm M: Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet*, 376(9756): 1903-1909, 2010.
- 29) Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, Sobotka PA, Sadowski J, Bartus K, Kapelak B, Walton A, Sievert H, Thambar S, Abraham WT, Esler M: Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet*, 373(9671): 1275-1281, 2009.