

腎微小循環と Ca チャネルサブタイプ

本間康一郎^{1,3} 林 晃一¹ 菅野 直希² 山口慎太郎¹
 脇野 修¹ 堀 進悟³ 伊藤 裕¹

要 旨：近年の研究により、電位依存性 Ca チャネルサブタイプ、すなわち L 型、T 型、N 型、P/Q 型、が腎細動脈や尿細管に存在し、これらの Ca チャネルの抑制が腎微小循環レベルで種々の影響をもたらすことが報告されている。ニフェジピンは、L 型 Ca チャネルに選択的に作用することより、ニフェジピンによる選択的輸入細動脈拡張作用は L 型 Ca チャネルの腎臓内分布の不均一性を意味し、さらに糸球体高血圧を誘導する可能性を示唆する。一方、最近開発された Ca 拮抗薬 (CCBs, ミベフラジルやエホニジピンなど) は L 型のみならず T 型 Ca チャネル抑制作用を有し、輸入・輸出細動脈を拡張させることから、両細動脈に T 型 Ca チャネルの存在と糸球体内圧低下作用を示す。興味深いことに、近年アルドステロンが腎疾患の増悪因子として確立され、副腎からの分泌に T 型 Ca チャネルが関与することが示されている。さらに、T 型 CCBs は炎症プロセスやレニン分泌を抑制し、腎障害を軽減する方向に作用する。同様に、N 型 Ca チャネルは末梢神経終末に存在し、N 型 CCBs (シルニジピンなど) は輸入・輸出細動脈に分布する交感神経による細動脈収縮を抑制し、糸球体内圧を低下させることが示唆される。したがって、腎臓には種々の Ca チャネルサブタイプが存在し、特定の CCBs により腎微小循環にさまざまな影響をもたらす。T 型、N 型 Ca チャネルに対する CCBs の多面的抑制作用は、腎血行動態ならびに非血行動態面から慢性腎臓病の進展機構に対して付加的な利点をもたらすことが考えられる。

(J Jpn Coll Angiol, 2011, 51: 133–138)

Key words: renal microcirculation, voltage-dependent Ca channels, T-type calcium channels, chronic kidney disease

はじめに

腎臓は心拍出量の約 20～30% という多量の血液供給を受け、糸球体ろ過や再吸収を行う過程で、生体の水電解質バランスを維持している。さらに腎臓は高血圧、糖尿病といった疾患の標的臓器でもある。そういったなかで ACE 阻害薬や ARB などのレニン・アンジオテンシン抑制薬が腎臓保護に働くことが明らかとなっている。一方、Ca 拮抗薬 (CCBs) も広く用いられている降圧薬であ

り、ニフェジピンやジルチアゼムといった L 型 Ca チャネルを抑制するタイプの薬剤は、糸球体ろ過量を増大させる。このことは、L 型 Ca チャネルが腎血管に存在することを示唆している。このような L 型 CCBs は糸球体内圧の指標である filtration fraction も上昇させることも明らかになっている。糸球体ろ過量は、主に糸球体血行動態により調節されており、糸球体前後に存在する輸入細動脈と輸出細動脈のバランスにより調節されている。しかしながら、GFR はコンスタントに維持されており、このことは輸入細動脈と輸出細動脈が異なる機序でコントロールされていることが考えられる。実際に、輸入・輸出細

¹ 慶應義塾大学医学部内科学教室腎臓内分泌代謝内科

² 東京慈恵会医科大学腎臓高血圧内科

³ 慶應義塾大学医学部救急医学教室

2010 年 9 月 28 日受理

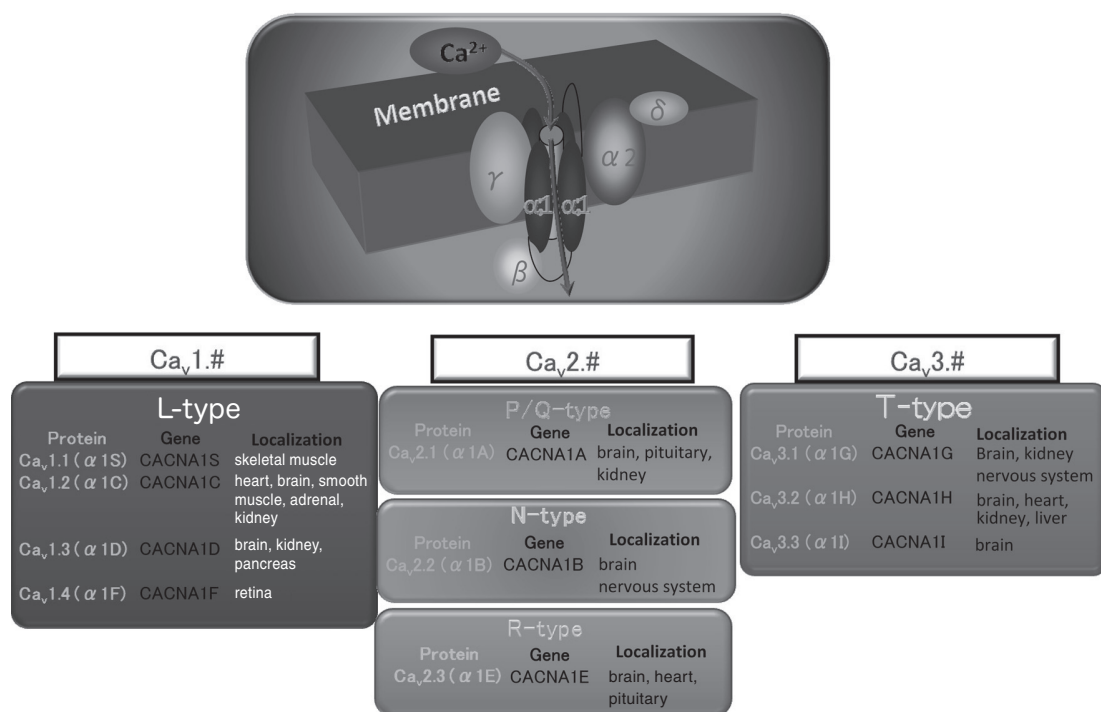


Figure 1 Ca₂ channel structure and nomenclature.¹⁾

動脈間では、構成細胞の形態も異なり、分子構造においても myosin heavy chain の isoform が異なる。最近では、T 型 Ca チャネルが心臓、副腎などさまざまな臓器に存在することが明らかになってきており、またエホニジピンやミベフラジルといった L 型のみならず T 型 Ca チャネルも抑制する薬剤が出てきており、腎保護およびその機序が明らかになりつつある。

Ca チャネルのサブタイプ

電位依存性 Ca チャネルは、電気生理学および薬理的性質により、高電位依存性 Ca チャネルである L, P/Q, N および R 型 Ca チャネルと、低電位依存性 Ca チャネルである T 型 Ca チャネルに分類することができる。高電位依存性 Ca チャネルの多くは基本的に α1, α2δ, β, γ の各サブユニットからなる 4 量体として機能している。これらのサブユニットのうちポアを形成する主要なサブユニットが α1 であり、他は調節サブユニットあるいは付属サブユニットとしてチャネル機能を制御している。一方、T 型 Ca チャネルは α1 サブユニット単独で機

能していると考えられており、現在までのところ付属サブユニットの機能的関与は報告されていない (Fig. 1)¹⁾。腎臓においては、Ca²⁺_v2.1(α_{1A})、Ca²⁺_v1.2(α_{1C})、Ca²⁺_v1.3(α_{1D})、Ca²⁺_v3.1(α_{1G})、and Ca²⁺_v3.2(α_{1H})といった α1 サブユニットが発現しており、L 型(Ca²⁺_v1.2, Ca²⁺_v1.3)、T 型(Ca²⁺_v3.1, Ca²⁺_v3.2)、P/Q 型(Ca²⁺_v2.1)として機能している。さらに腎臓は N 型 Ca チャネルを含めた非常に多くの神経支配を受けている。

Ca チャネルサブタイプと腎障害

1. 血行動態面より

腎障害の進展に大きく関与している糸球体内圧は、糸球体の前後に存在する輸入・輸出細動脈のバランスによりコントロールされている。L 型 Ca チャネルは輸入細動脈に存在し、T 型 Ca チャネルは輸入、輸出細動脈どちらにも存在することが明らかになっている。したがってこの分布の違いを考えると、L 型 CCBs は輸入細動脈を、T 型 CCBs は輸入、輸出細動脈を共に拡張させることが予想される。われわれの行った単離水腎症モデル実

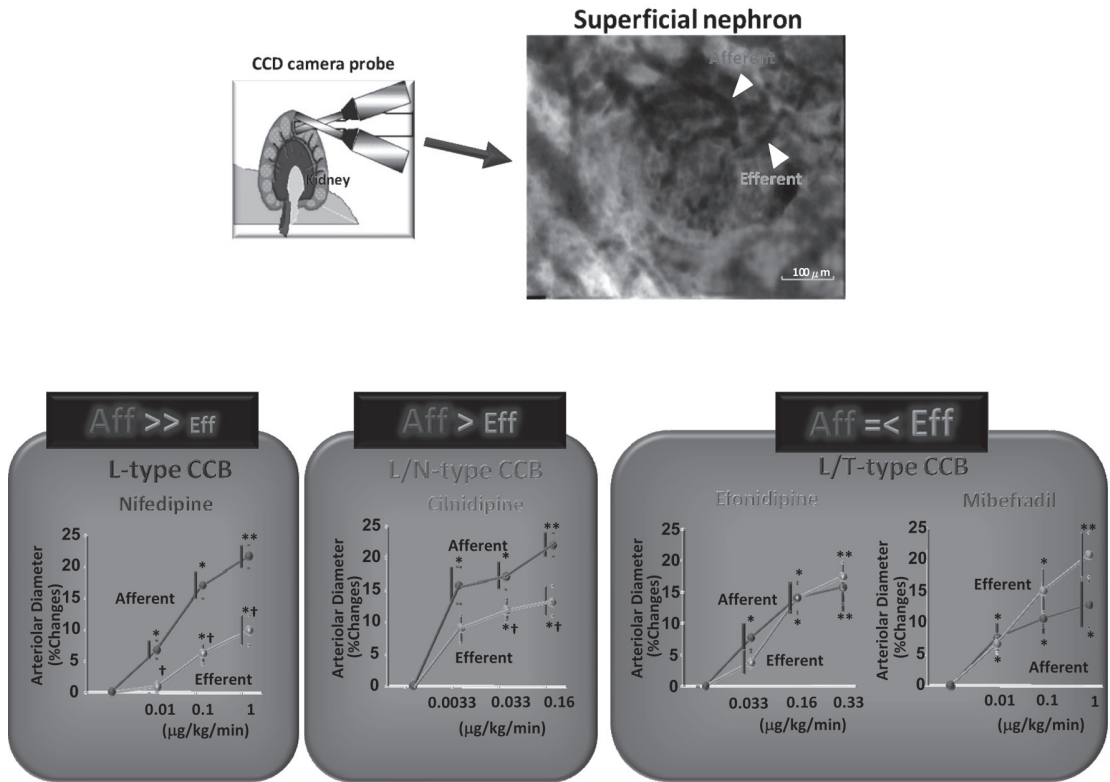


Figure 2 Effects of various Ca₂ channel blockers on in vivo renal microvessels and renal hemodynamics.³⁾

A: Direct in vivo visualization of renal microcirculation with the use of intravital pencil-type charge-coupled device video-microscopy.

B: CCBs with preferential blockade of L-type Ca₂ channels cause predominant afferent arteriolar action (nifedipine), whereas CCBs with blocking activity on L-/T-type Ca₂ channels dilate both afferent and efferent arterioles (efonidipine and mibefradil). Cilnidipine with L-/N-type Ca₂ channel-blocking action dilates both microvessels, although the response is greater in the afferent arteriole.

#P=0.05 vs baseline, *P<0.05 vs baseline, **P<0.01 vs baseline, § P<0.05 vs nifedipine, †P<0.05 vs afferent arterioles.

験系を用いた検討においても、T型Caチャネル抑制活性をもつエホニジピンやベニジピンといったCCBsは程度こそ違うものの輸出細動脈を拡張させた。一方、ニフェジピンやアムロジピンといったT型Caチャネル抑制活性を持たないCCBsは輸入細動脈のみを有意に拡張させた²⁾。さらに生理的状況に近い実験系であるin vivo CCDカメラ手技を用いた検討においても同様の結果を得ている(Fig. 2)³⁾。

腎臓の輸入・輸出細動脈といった微小循環を観察する実験系は神経活性の有無という観点からは大きく2つに分けられる。すなわち、単離水腎症モデルでは神経活性の影響は受けないが、in vivo CCDカメラ手技では神経活性の影響が残っている。N型Caチャネルは神経末

端に存在し、輸入、輸出細動脈ともに支配を受けているためにN型Caチャネル抑制活性を持つCCBsは単離水腎症モデルに比べてin vivo CCDカメラ手技においてより輸出細動脈を拡張させることが予想されるが、実際の検討においてもそのような結果となっている¹⁾。これらの結果より、Caチャネルのサブタイプのうち、L型CCBsは輸入細動脈を主に拡張させるため糸球体内圧を上昇させるが、対照的にT型およびN型CCBsは輸入のみならず輸出細動脈も拡張させるため糸球体内圧を上昇させないことが示唆される。実際に糸球体内圧の指標であるFiltration Fractionは、L型CCBsであるニフェジピンで上昇、T型CCBsであるミベフラジルとエホニジピンで低下、N型CCBsであるシルニジピンで不変となってい

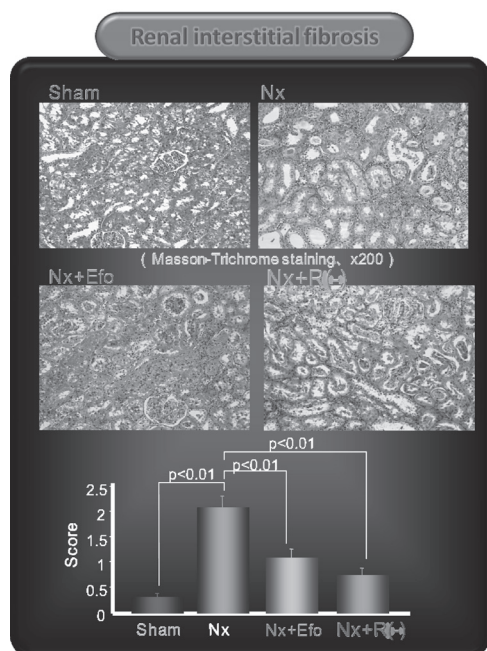


Figure 3 Effects of efonidipine and R(-)-efonidipine on morphological changes in subtotally nephrectomized rats.⁸⁾ Interstitial fibrosis and tubular casts in kidneys from SHR-Nx. Nx; 5/6 nephrectomy

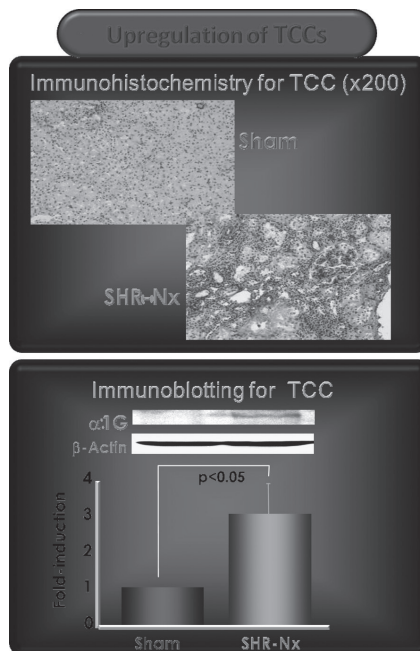


Figure 4 $\alpha 1G$ expression in the renal cortex of subtotally nephrectomized rats.⁸⁾ A: Immunohistochemistry for $\alpha 1G$ expression in kidneys from SHR-Nx. B: Immunoblot for $\alpha 1G$ protein in kidneys from SHR-Nx. Nx; 5/6 nephrectomy

る⁴⁾。この糸球体内圧の変化は尿タンパク、腎障害に影響する。L 型 CCBs であるニフェジピン、T 型 CCBs であるエホニジピン、ACE 阻害薬であるエナラプリルは腎不全ラットの血圧を同等に低下させても、尿タンパク増加率はニフェジピンで有意に高く、エホニジピンはエナラプリルと同等の尿タンパク抑制効果を示した。腎臓の組織学的な検討においてもこれと合致した結果が得られている⁵⁾。

2. 非血行動態面より

腎臓メサンギウム細胞を用いた検討では、炎症マーカーである NF- κ B を増加させた状態に L 型 CCBs であるニフェジピンを投与しても有意な変化を認めなかったが、T 型 CCBs であるエホニジピンを投与すると NF- κ B の上昇が抑制されたと報告されている⁶⁾。さらに、T 型 CCBs は白血球の接着を抑制するとの報告もあり⁷⁾、炎症のプロセスに関与している可能性が示唆されている。

さらなる T 型 CCBs の血行動態を介さない腎保護の機序としてわれわれの報告した Rho キナーゼの抑制が挙げ

られる。Rho キナーゼは、くも膜下出血後や冠動脈の血管 spasm における Ca 感受性の増強に関与しているが、細胞増殖、分化や遊走にも関与している。腎臓においては Rho キナーゼが腎障害の進行に関与しており、われわれはアンジオテンシン II 投与による Rho キナーゼの活性化を T 型 CCBs が抑制したことを報告している。ちなみに L 型 CCBs でこの反応は観察されなかった。このことは、T 型 CCBs が Rho キナーゼの抑制を介して腎障害の進展を抑制することを示唆しているが、さらなる検討のために T 型 CCBs であるエホニジピンの異性体であり、エホニジピンよりも T 型 Ca チャネルに特異性が高い R 体を用いた検討も行なった。その結果、腎不全ラットにおいて R 体は Rho キナーゼ活性を抑制させ、全身血圧に影響を与えることなく尿タンパクを減少させた⁸⁾。この Rho キナーゼは腎微小循環にも影響を与えることが明らかになっているが、輸入細動脈と輸出細動脈を 2:1 の割合で拡張させるため糸球体内圧には影響を及ぼないとされており⁹⁾、このことから T 型 CCBs の Rho キナー

ゼ抑制を介した腎保護作用は血行動態とは独立した機序である可能性が高いことが示唆される。

さらに、腎間質の繊維化についての検討においてエホニジピン、R 体ともに改善を認めた(Fig. 3)⁸⁾。興味深いことに、腎不全ラットでは T 型 Ca チャネルそのものの発現が上昇していた(Fig. 4)⁸⁾。このことが T 型 CCBs の改善効果の増強に関与している可能性が考えられる。腎間質の繊維化の機序として epithelial-mesenchymal transition(EMT)が注目されているが、腎不全ラットで上昇していた EMT のマーカーである α SMA やビメンチンの発現が、T 型 Ca チャネル投与により著明な抑制を認めており、T 型 CCBs の腎間質の繊維化抑制の機序として EMT の抑制が考えられた⁸⁾。

近年、T 型 Ca チャネルのアルドステロンとの関係も注目されている。アルドステロンは、腎臓の線維化に関わっているが、われわれはアルドステロンが血管平滑筋の Rho キナーゼを活性化することを報告している¹⁰⁾。既報ではアルドステロンの放出が L 型 CCBs に比べ T 型 CCBs で抑制されている¹¹⁾。さらにわれわれの検討においても腎不全ラットにおけるアルドステロン上昇を R 体投与により抑制されたことを確認している⁸⁾。

Ca チャネルサブタイプの臨床研究

われわれの施設を含めた多施設で行った CKD を伴う高血圧患者を対象に、腎機能に対するエホニジピンの効果についての前向きな検討においてエホニジピン投与群と ACE 阻害薬投与群では 2 年間を通して同等の降圧効果を認めた。しかしながら、腎機能を反映するクレアチニンクリアランスに関しては、ACE 阻害薬において低下する傾向が観察されたが、エホニジピン群では維持されていた。尿タンパクは両群ともに低下したが、興味深いことにエホニジピン群を最終平均血圧 100 mmHg 以下と以上に分けて解析したところ、100 mmHg 以上でも 100 mmHg 以下と同等に尿タンパクが減少していることが明らかになった¹²⁾。この結果はエホニジピンが全身血圧と独立して腎保護作用を発揮する可能性を示唆している。

さらに、大規模臨床試験において、高齢者を対象とした JATOS のサブ解析で、エホニジピンは GFR が 60 ml/min 以下の群でさえも GFR 低下の抑制にとどまらず、改善させている¹³⁾。AASK¹⁴⁾や INSIGHT¹⁵⁾といったほかの大規模研究において L 型 CCBs は GFR を低下もしくは維持させていることを考えると、この結果は注目に値す

ると考えられる。最後に CKD 患者を対象に T 型 CCBs と L 型 CCBs を直接比較した既法では、T 型 CCBs が L 型 CCBs に比べて、腎生存率の低下を抑制している¹⁶⁾。

今後の展望

このように、CCBs のサブタイプの中でも T 型 CCBs および N 型 CCBs が腎保護に有効であるというエビデンスが蓄積してきている。最近では、T 型 CCBs をマウスに投与すると高脂肪食による体重増加が抑制されたとの報告もあり¹⁷⁾、代謝面に対する T 型 Ca チャネルの関与も期待されている。

文 献

- 1) Hayashi K, Wakino S, Sugano N et al: Ca²⁺ channel subtypes and pharmacology in the kidney. *Circ Res*, 2007, **100**: 342–353.
- 2) Hayashi K et al: Calcium Antagonists in Clinical Medicine (3rd ed.)
- 3) Honda M, Hayashi K, Matsuda H et al: Divergent renal vasodilator action of L- and T-type calcium antagonists in vivo. *J Hypertens*, 2001, **19**: 2031–2037.
- 4) Honda M, Hayashi K, Matsuda H et al: Divergent natriuretic action of calcium channel antagonists in mongrel dogs: renal haemodynamics as a determinant of natriuresis. *Clin Sci (Lond)*, 2001, **101**: 421–427.
- 5) Fujiwara K, Kanno Y, Hayashi K et al: Renal protective effects of efonidipine in partially nephrectomized spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*, 1998, **20**: 295–312.
- 6) Hayashi M, Yamaji Y, Nakazato Y et al: The effects of calcium channel blockers on nuclear factor kappa B activation in the mesangium cells. *Hypertens Res*, 2000, **23**: 521–525.
- 7) Nebe B, Holzhausen C, Rychly J et al: Impaired mechanisms of leukocyte adhesion in vitro by the calcium channel antagonist mibefradil. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2002, **16**: 183–193.
- 8) Sugano N, Wakino S, Kanda T et al: T-type calcium channel blockade as a therapeutic strategy against renal injury in rats with subtotal nephrectomy. *Kidney Int*, 2008, **73**: 826–834.
- 9) Nakamura A, Hayashi K, Ozawa Y et al: Vessel- and vasoconstrictor-dependent role of rho/rho-kinase in renal microvascular tone. *J Vasc Res*, 2003, **40**: 244–251.
- 10) Sugano N, Hayashi K, Wakino S et al: Diverse effects of T-type voltage-dependent calcium channels on Rho/Rho-

- kinase pathway in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**: e107 abstract.
- 11) Imagawa K, Okayama S, Takaoka M et al: Inhibitory effect of efonidipine on aldosterone synthesis and secretion in human adrenocarcinoma (H295R) cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, **47**: 133–138.
 - 12) Hayashi K, Kumagai H, Saruta T: Effect of efonidipine and ACE inhibitors on proteinuria in human hypertension with renal impairment. *Am J Hypertens*, 2003, **16**: 116–122.
 - 13) Hayashi K, Saruta T, Goto Y et al: Impact of renal function on cardiovascular events in elderly hypertensive patients treated with efonidipine. *Hypertension Research*, in press.
 - 14) Astor BC, Yi S, Hiremath L et al: N-terminal prohormone brain natriuretic peptide as a predictor of cardiovascular disease and mortality in blacks with hypertensive kidney disease: the African American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK). *Circulation*, 2008, **117**: 1685–1692.
 - 15) de Leeuw PW, Ruilope LM, Palmer CR et al: Clinical significance of renal function in hypertensive patients at high risk: results from the INSIGHT trial. *Arch Intern Med*, 2004, **164**: 2459–2464.
 - 16) Omae K, Ogawa T, Nitta K: Influence of T-calcium channel blocker treatment on deterioration of renal function in chronic kidney disease. *Heart Vessels*, 2009, **24**: 301–307.
 - 17) Uebele VN, Gotter AL, Nuss CE et al: Antagonism of T-type calcium channels inhibits high-fat diet-induced weight gain in mice. *J Clin Invest*, 2009, **119**: 1659–1667.

Renal Microcirculation and Ca²⁺ Channel Subtypes

Koichiro Homma,^{1,3} Koichi Hayashi,¹ Naoki Sugano,² Shintaro Yamaguchi,¹ Shu Wakino,¹ Shingo Hori,³ and Hiroshi Itoh¹

¹Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan

²Division of Nephrology and Hypertension, Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

³Department of Emergency and Critical Care Medicine, School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan

Key words: renal microcirculation, voltage-dependent Ca channels, T-type calcium channels, chronic kidney disease

It was recently reported that voltage-dependent calcium channel subtypes, namely L-, T-, N-, and R/Q-types, are expressed in renal arterioles and renal tubules, and inhibiting these channels exerts various effects on renal microcirculation. For example, selective blockade of L-type calcium channels with nifedipine preferentially dilates afferent arterioles and possibly induces glomerular hypertension. On the other hand, recently developed calcium channel blockers (CCBs) such as mibefradil and efonidipine block both T-type and L-type calcium channels, and consequently dilate afferent and efferent arterioles, leading to lowering of intraglomerular pressure. Interestingly, aldosterone has recently been recognized as a factor exacerbating renal diseases, and its secretion from the adrenal gland is mediated by T-type calcium channels. Furthermore, T-type CCBs were shown to ameliorate renal dysfunction by suppressing inflammatory processes and renin secretion. Based on the histological basis that N-type calcium channels are present in peripheral nerve terminals innervating both afferent and efferent arterioles, it was also suggested that N-type CCBs such as cilnidipine suppress renal arteriolar constriction induced by enhanced sympathetic nerve activity, thereby lowering intraglomerular pressure. Taken together, various calcium channel subtypes are present in the kidney and blockade of selective channels with distinct CCBs exerts diverse effects on renal microcirculation. Inhibition of T-type and N-type calcium channels with CCBs is anticipated to exert pleiotropic actions that would retard progression of chronic kidney disease through modulation of renal hemodynamic and non-hemodynamic processes.

(*J Jpn Coll Angiol*, 2011, **51**: 133–138)

Online publication April 1, 2011

脈管学 Vol. 51 No. 1