

アゼルニジピンによる腎微小循環の変化と腎保護効果

藤本 壮八

虚血による尿細管間質障害は、腎障害の重要な進展因子となる。尿細管間質の虚血は傍尿細管毛細血管 (PTC) の血流低下によって惹起される。すなわち、腎障害の進展抑制には、PTC 血流を保持することが重要と考えられる。新規に開発された長時間作用型ジヒドロピリジン系 Ca 拮抗薬 (Calcium Channel Blocker : CCB) であるアゼルニジピンは進行性腎障害に対して有効であることが報告されている。しかし、その腎保護機序の詳細は明らかになっていない。本研究は PTC 血流保持の観点から、新規 CCB アゼルニジピンの腎保護効果について検討を行ったものである。まず急性期実験として WKY ラットにアンジオテンシン II (AII) 30 nM/分 10分間経静脈的に投与し、投与後の糸球体及び PTC 血流を CCD ビデオマイクロスコープを用いて観察し血流速度等を計測した。さらにアゼルニジピン投与の効果を検討した。AII (30 nM/分. iv.) 投与により血圧の上昇と、輸入・輸出細動脈の収縮及び PTC の血流低下を認めた。アゼルニジピン (0.1 mg/kg) 投与により、輸入細動脈の拡張のみならず、輸出細動脈の拡張を認めた。さらに AII により低下した PTC 血流の回復を認めた。次に長期実験として AII (500 ng/kg/分) を14日間持続皮下投与し腎障害モデルを作成した。アゼルニジピン (30 mg/kg/日) による腎保護効果を検討した。AII 2週間後、組織虚血マーカー pimonidazole 陽性面積は増加し腎皮質部の広範な虚血が示された。PTC 内腔面積を計測したところ、AII 投与によりその減少を認めた。組織学的には皮質部尿細管の萎縮と間質繊維化を主体とする尿細管間質病変を認めた。アゼルニジピン投与により、腎皮質の虚血改善、PTC 面積保持、尿細管間質障害の抑制を認めた。以上の結果よりアゼルニジピンは、輸入・輸出細動脈を拡張し PTC 血流を保持することで AII による尿細管間質障害の進行を抑制することが明らかとなった。

(平成16年10月19日受理)

Renoprotective Effects of Azelnidipine by Improvements of Renal Microcirculation

Sohachi FUJIMOTO

Hypoxia induced tubulointerstitial injury is proposed to be associated with a progression of renal diseases. Tubulointerstitial hypoxia is caused by loss of peritubular capillary (PTC) blood flow. Therefore, maintenance of the blood flow in PTC may protect from loss of renal function. A long acting calcium channel blocker, azelnidipine, is useful in progressive renal disease. However, this mechanism is not elucidated well. The present study was made to elucidate whether azelnidipine, a new long acting calcium channel blocker, kept the blood flow in PTC and improved

a tubulointerstitial injury caused by angiotensin II (AII) in rats. At first, PTC blood flows in WKY rats were monitored using a pencil-lens interval microscope before and after intravenous AII (30 ng/min) infusion with or without azelnidipine (0.1 mg/kg). PTC blood flow was reduced after AII infusion. However, after bolus injection of azelnidipine, PTC blood flow was improved. Next, WKY rats were treated by chronic infusion of AII (500 ng/kg/min) via an osmotic minipump with or without the azelnidipine (30 mg/kg/day, orally) for 14 days. Tubulointerstitial damages (PTC loss, interstitial fibrosis, tubular atrophy) were observed in chronic AII treated rat kidney. These changes were associated with the hypoxic conditions measured by hypoxia biomarkers (intracellular accumulation of hypoxyprom-1 adducts and expression of hypoxia inducible factor-1 alpha protein). These tubulointerstitial injuries in AII infused rats were not blocked completely but reduced by azelnidipine treatment. The area of hypoxic condition in the kidney was also improved by azelnidipine. These findings suggest that azelnidipine may increase PTC blood flow and improve a renal hypoxia and tubulointerstitial injury by AII. (Accepted on October 19, 2004) *Kawasaki Igakkaishi* 30(2):111-122, 2004

Key Words ① Calcium channel blocker ② Tubulointerstitial injury
③ Azelnidipine ④ Peritubular capillary

はじめに

尿管間質障害は、腎障害の重要な進展因子である^{1)~3)}。傍尿管毛細血管 (PTC) 数の減少・消失と PTC の血流低下による虚血が、尿管間質障害の病態形成に重要な役割を果たしていることが示されている^{4)~6)}。従って、腎障害進展抑制に PTC 血流保持による組織低酸素の改善が有効であることが考えられる。

Ca 拮抗薬 (CCB) は、本邦において最も多く使用されている高血圧治療薬である。CCB の腎保護効果は、高血圧性腎障害モデルを中心に報告されている^{7)~10)}。また、最近、Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) や、International Nifedipine GITS Study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT) などの大規模臨床試験において、長時間作用型ジヒドロピリジン系 CCB が腎障害進行の抑制に有用であることが示されている^{11), 12)}。CCB は複数の機序を介して腎障害の進展抑制効果を発揮する。降圧自体が腎障害の進展抑制において重要であり、CCB は強力な降圧作用により腎保護に資する

ことが示されている。さらに CCB は腎血漿流量 (RPF) を増加させることも報告されている^{13)~15)}。

糖尿病性腎症や慢性糸球体腎炎など多彩な原因により末期腎不全が招来される。これまでにレニン・アンジオテンシン (R-A) 系が共通の腎障害進展機構の一部を構成していることが判明している。大規模臨床試験においてもアンジオテンシン II (AII) 受容体拮抗薬などの R-A 系阻害薬が降圧作用とは独立した腎保護作用を有することが示されてきた¹⁶⁾。AII は輸入細動脈と比較して輸出細動脈をより強く収縮させ、結果として糸球体内圧を上昇 (糸球体高血圧) させることが明らかになっている。一部のジヒドロピリジン系 CCB は AII による輸出細動脈の収縮を改善させ、糸球体内圧を低減させることが報告されている^{17)~19)}。しかし、CCB の PTC 血流に対する影響については、報告されていない。

アゼルニジピンは、2003年に本邦で開発された新規長時間作用型ジヒドロピリジン系 CCB である。アゼルニジピンは、優れた降圧効果だけでなく、心保護作用を有することも報告されている²⁰⁾。また、幾つかの実験モデルでは腎保

護効果も報告されている^{21)~23)}。本研究は、新規ジヒドロピリジン系 CCB アゼルニジピンを用いて腎内血行動態改善作用を介した腎保護効果を検証したものである。今回の検討により、アゼルニジピンが血圧を下げるだけでなく、PTC 血流を増加させ、尿細管間質の虚血を改善させることにより腎保護に働くことを明らかにした。

材料と方法

Treatments with angiotensin II and azelnidipine.

Analysis of the renal microcirculation.

すべての実験は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を受け、川崎医科大学の動物実験指針に基づき実施された。6 週齢体重 200~250 g 雄の Wistar ラット (Charles River Japan) を用いた。イソフルレン吸入麻酔下ラットに左頸静脈へカテーテルを留置し生理食塩水を持続注入 (0.05 ml/分) し血管を確保した。また、左の頸動脈へもカテーテルを留置し、血圧の測定を行った。腎皮質部における糸球体及び PTC 血流の観察・計測は、山本らの報告を基にニードルプローブ型の CCD ビデオマイクロスコープ (CCDV) を用い施行した^{24), 25)}。PTC 血流は、腎臓表面に CCDV を直接接触させ観察・記録した。糸球体血流は、腎臓被膜に 0.5-1 mm の小切開を入れ CCDV の先端を密着させ観察した。記録した輸入、輸出細動脈径の変化は、NIH image を用いて定量的に解析した。また、糸球体及び PTC 血流速度を計測するために、血管内を流れる赤血球 (RBC) 流速を測定し、解析プログラム MATLAB (MathWorks, Inc.) を用いて解析した。

まず、生理食塩水持続注入下で PTC 及び糸球体血流を観察・記録した。次に生理食塩水から、生理食塩水に溶解した AII の持続注入 (30 ng/分) に変更し、10 分後の PTC 及び糸球体血流を記録した。次に AII の持続注入下においてアゼルニジピン (三共株式会社、東京) を生理食塩水に溶解し 0.1 mg/kg 頸静脈よ

り投与した。アゼルニジピン投与 10 分後、PTC 及び糸球体血流を記録した。

Long term effects of angiotensin II on renal microcirculation and ameliorative effects with azelnidipine.

実験動物モデル

体重 170~200 g 雄性 Wistar ラット (Charles River Japan) を用いた。ラットの皮下に osmotic minipump (Alzet model 2001; Alza) 留置し、AII 投与群 (n = 16) として生理食塩水に溶解した AII を 500 ng/kg/分投与した。また対照群 (n = 8) には同様の方法で生理食塩水を 14 日間投与した。また、AII 投与ラットを 2 群に分け、薬剤投与群 (n = 8) ではアゼルニジピン 30 mg/kg/日を連日経口投与した。AII 又は生理食塩水投与 14 日後、24 時間蓄尿を行った。蓄尿終了後にエーテル麻酔下に屠殺し採血及び両腎臓を摘出した。摘出した腎臓の一部は 4% パラフォルムアルデヒドにて浸透固定を行い、パラフィン抱埋した。また、一部は Tissue Tec (サクラ ファインテクニカル、東京) により凍結固定を行った。

腎臓の組織病理学的検討

4 μ m のパラフィン抱埋切片を脱パラフィン後に periodic acid-Schiff 染色 (PAS 染色) を行った。PAS 染色した腎臓組織より、皮質における尿細管間質障害度を Velasquez らの方法²⁶⁾ に準じてドットマトリックス法により半定量的に評価した。すなわち炎症細胞浸潤、尿細管拡張・萎縮、間質繊維化、尿細管円柱部位の面積が各組織検体の全面積に占める割合をスコア化した。0 = 障害部位なし、1 = 0-25%、2 = 25-50%、3 = 50-75%、4 = 75-100% とし、各群 8 組織検体において、各組織検体で無作為に選択した 10 視野で計測した。10 視野のスコアを平均化し各組織検体の間質障害スコア (Interstitial injury score) とした。

PTCの検出

ラットの血管内皮マーカーである RECA-1 (rat endothelial cell Antigen) 抗原を用いて PTC の検出を行った。4 μm の凍結切片をアセトン固定し用いた。抗 RECA-1 モノクローナル抗体 (コスモバイオ, 東京) を Phosphate buffered saline (PBS) で 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度に希釈し, 4 $^{\circ}\text{C}$ で一晩反応させた。次に Histofine Simple Stain MAX-PO kit (ニチレイ, 東京) を用いて 0.02% 3, 3'-diaminobenzidine (Sigma-Aldrich Japan K.K.) で発色した。RECA-1 染色で検出された腎皮質部の PTC の内腔面積を画像解析プログラム NIH-image を用いて評価した。

組織虚血の検出

腎組織の虚血を Pimonidazole (hypoxyprobe-1; CHEMICON International, Inc. CA, USA) を用いて検出した。PBS で溶解した Pimonidazole hydrochloride 60 mg/kg を尾静脈より屠殺 2 時間前に投与した。パラフィン抱埋切片を脱パラフィン後に PBS で 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度に希釈した抗 Pimonidazole モノクローナル抗体 (CHEMICON International, Inc. CA, USA) で 4 度一晩反応させた。前述と同様の方法で 0.02% 3, 3'-diaminobenzidine で発色した。腎皮質の Pimonidazole 陽性面積の占める割合を, NIH-image にて評価した。

統計解析

すべての結果は, 平均値 \pm 標準誤差で表した。統計処理は, Statview SE (Abacus Concept, Inc, Berkeley, CA, USA) を用いた。各群間の比較は, Fisher's 多重比較法にて行い, 0.05 以下の危険率をもって有意差ありとした。

結 果

Evaluation of renal microcirculation in AII infusion rats.

AII による腎内微小循環変化に対するアゼルニジピンの改善効果を, PTC の血流速度, 輸出入細動脈径の変化を計測して評価した。収縮期血圧 (SBP) は, AII 投与により有意に上昇した (AII 投与前 101 ± 4 mmHg vs. AII 投与後 139 ± 5 mmHg, $p < 0.05$; **Fig. 2A**)。アゼルニジピンは, AII により上昇した SBP を有意に低下させた (アゼルニジピン投与後 118 ± 7 mmHg, $p < 0.05$ vs. AII 投与後 139 ± 5 mmHg **Fig. 2A**)。Figure 1 は, CCDV で記録した PTC 血流画像である。AII 投与により, PTC 径の縮小と PTC 面積の減少が認められた。アゼルニジピンの投与は, PTC 径の縮小及び PTC 面積の減少を改善した。AII 投与後の PTC における RBC の流速は, 投与前と比べ $55.2 \pm 10.8\%$ にまで有意に減少した (**Fig. 2B**)。アゼルニジピンは, AII 投与による PTC 内の RBC 速度の AII 投与前の $81.2 \pm 4.7\%$ に回復した (**Fig. 2B**)。

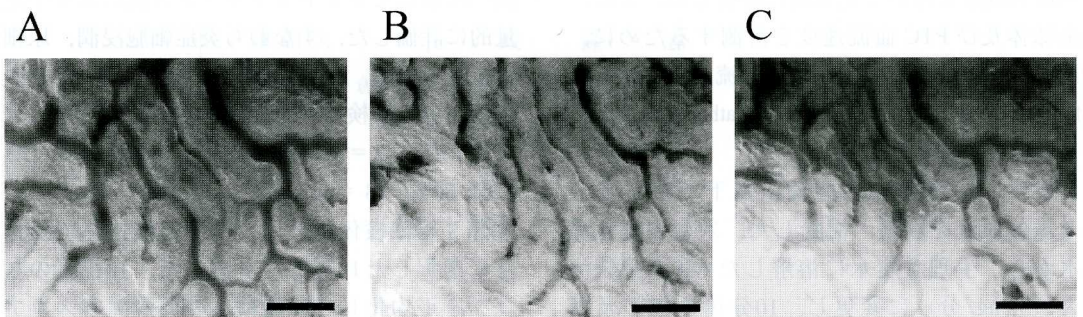


Fig. 1. Effect of azelnidipine on acute AII infusion-induced PTC microcirculation. Typical images of PTC hemodynamics in basal (A), after AII (30 ng/min) infusion (B) and after azelnidipine (0.1 mg/kg) administration (C) recorded by CCD videomicroscope. AII caused reduction of PTC volume. Azelnidipine recovered PTC volume in AII infusion. Scale bar ; 50 μm .

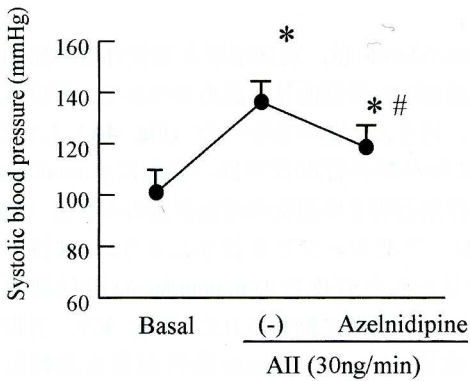
また、AIIは、投与前と比べ糸球体の輸入細動脈と輸出細動脈の径をそれぞれ $81.5 \pm 2.5\%$ と $76.1 \pm 1.3\%$ まで有意に収縮させた (Fig. 2C and 2D). アゼルニジピンは、AII投与前と比べ輸入細動脈を $110.3 \pm 4.1\%$ 拡張させた ($p < 0.05$; Fig. 2C). また輸出細動脈をAII投与前値の $89.2 \pm 1.7\%$ まで収縮が改善された (Fig. 2C and 2D).

Amerilarative effects with azelnidipine in long-term AII infused rats.

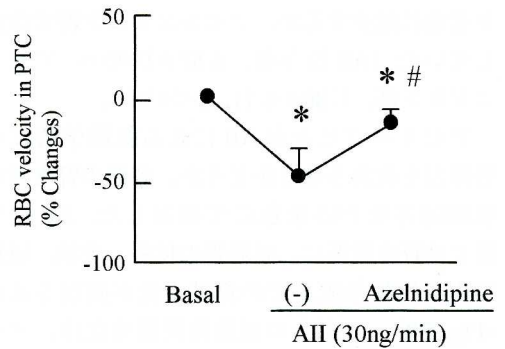
AII投与14日後の体重、血圧、腎重量、尿蛋

白排泄量、腎機能変化の結果を Table 1 に示す。AII投与群では、平均血圧の上昇が認められた (158.7 ± 3.6 mmHg, $p < 0.05$ vs. control) が、アゼルニジピン群では有意な降圧効果を認めた (AII投与群, 158.7 ± 3.6 mmHg vs. アゼルニジピン群, 126.8 ± 7.1 mmHg, $p < 0.05$). 体重及び右腎重量は、3群間では、有意な差は認められなかった。尿中蛋白の排泄量は、AII投与群で有意に上昇し、アゼルニジピン群では抑制された (AII投与群, 23.32 ± 3.13 g/day vs. アゼルニジピン群, 14.75 ± 1.37 g/day, $p < 0.05$). Creatinine clearance は、AII投与群によ

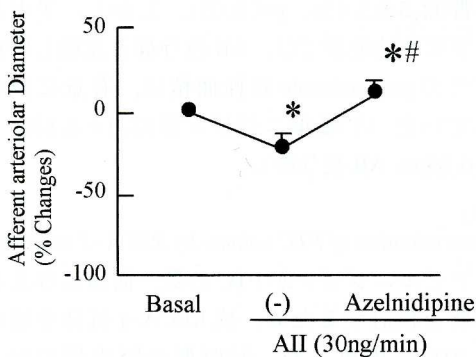
A



B



C



D

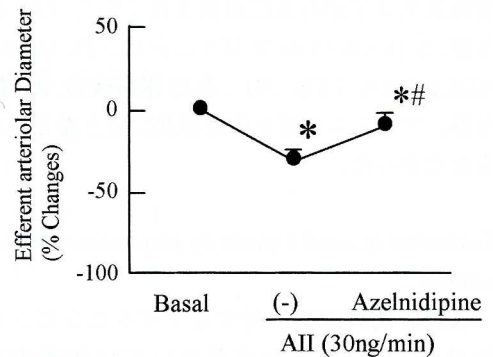


Fig. 2. Effects of azelnidipine on acute AII infusion-induced systolic blood pressure (A), RBC velocity in PTC (B), afferent arteriolar diameter (C) and efferent arteriolar diameter (D). AII (30 ng/min) infusion induced increase of systolic blood pressure, reduction of RBC velocity in PTC, and constrictions of afferent and efferent artery. Azelnidipine (0.1 mg/kg) injection reduced systolic blood pressure but not to basal level. Azelnidipine also recovered reduction of RBC velocity in PTC and constriction of afferent and efferent artery. The afferent artery was dilated more than basal level by azelnidipine but the efferent artery was not dilated as much as basal. * $p < 0.05$ vs. Basal, # $p < 0.05$ vs. AII infusion.

Table 1. Biological parameters of Ang II chronic infused rats.

	Control (N=8)	Ang II (N=8)	Ang II + Azelnidipine (N=8)
Body weight (g)	212.4 ± 4.7	198.6 ± 10.8	201.5 ± 9.5
Mean blood pressure (mmHg)	91.5 ± 3.4	158.7 ± 3.6 ^a	126.8 ± 7.1 ^{ab}
Right kidney weight (g/100 g BW.)	0.45 ± 0.01	0.47 ± 0.02	0.48 ± 0.02
Urinary protein (mg/day)	4.17 ± 0.81	23.32 ± 3.13 ^a	14.75 ± 1.37 ^{ab}
Creatinine clearance (mL/min/100 g BW.)	1.46 ± 0.09	0.67 ± 0.09 ^a	1.36 ± 0.11 ^b

mean ± SE, a ; $p < 0.05$ vs. Control, b ; $p < 0.05$ vs. Ang II

り有意に減少するが、アゼルニジピン群で改善していた (Ang II 投与群, 0.67 ± 0.09 vs. アゼルニジピン群, 1.36 ± 0.11 , $p < 0.05$).

アゼルニジピンが Ang II による組織学的にも腎障害を改善させるかどうか、各群の腎皮質の組織障害を PAS 染色にて検討した。Ang II 投与群では腎皮質部に、尿細管の拡張、萎縮、尿細管内に円柱形成などの組織変化が観察された (Fig. 3B)。これらの尿細管間質変化は、アゼルニジピン治療により有意に抑制された (Fig. 3C)。尿細管間質障害を半定量的に解析するとアゼルニジピン群では、Ang II 投与による尿細管間質障害スコアが有意に改善されていた (Ang II 投与群, 1.19 ± 0.15 vs. アゼルニジピン群, 0.70 ± 0.09 , $p < 0.05$; Fig. 3D)。糸球体病変は、Ang II 投与群、アゼルニジピン治療群共にほとんど認められなかった。

Evaluation of renal hypoxia by pimonidazole protein adducts.

尿細管間質障害に対するアゼルニジピンの効果が、PTC 血流の改善ひいては組織虚血の改善によるかどうかを虚血マーカーである pimonidazole を用いて解析した。Pimonidazole は、組織低酸素状態を検出するマーカーとなりうるということが報告されている²⁷⁾。対照群では、

pimonidazole は、皮髄境界と髄質外層の尿細管上皮細胞に陽性所見を認めるのみで、腎皮質では、ほとんど認めなかった (Fig. 4A)。しかし、Ang II 投与群の腎皮質では、有意に pimonidazole 陽性尿細管上皮細胞の増加が認められた (Fig. 4B)。アゼルニジピン投与により、Ang II 投与群で見られた腎皮質の pimonidazole 陽性細胞の増加は、著明に抑制された (Fig. 4C)。各群の腎皮質での pimonidazole 陽性面積を比較したグラフを Figure 4D に示す。pimonidazole 陽性面積は、対照群と比較し Ang II 投与群で著明に拡大していた (対照群 $9.4 \pm 3.3\%$ vs. Ang II 投与群 $33.5 \pm 5.4\%$, $p < 0.05$)。しかし、アゼルニジピン治療群では、Ang II 投与群と比較し腎皮質での pimonidazole 陽性面積は、有意に減少していた (アゼルニジピン群 $17.0 \pm 4.8\%$, $p < 0.05$ vs. Ang II 投与群)。

Determination of PTC volume by RECA-1 staining.

アゼルニジピンが PTC の数、面積に与える影響を検討するため、抗 RECA-1 抗体を用いて PTC を染色した。対照群の腎皮質では、PTC は均等に間質へ分布していた (Fig. 5A)。Ang II 投与群では、PTC の径が狭小化し、PTC 数の減少も認められた (Fig. 5B)。腎皮質における PTC の占める面積も対照群に比し Ang II 投

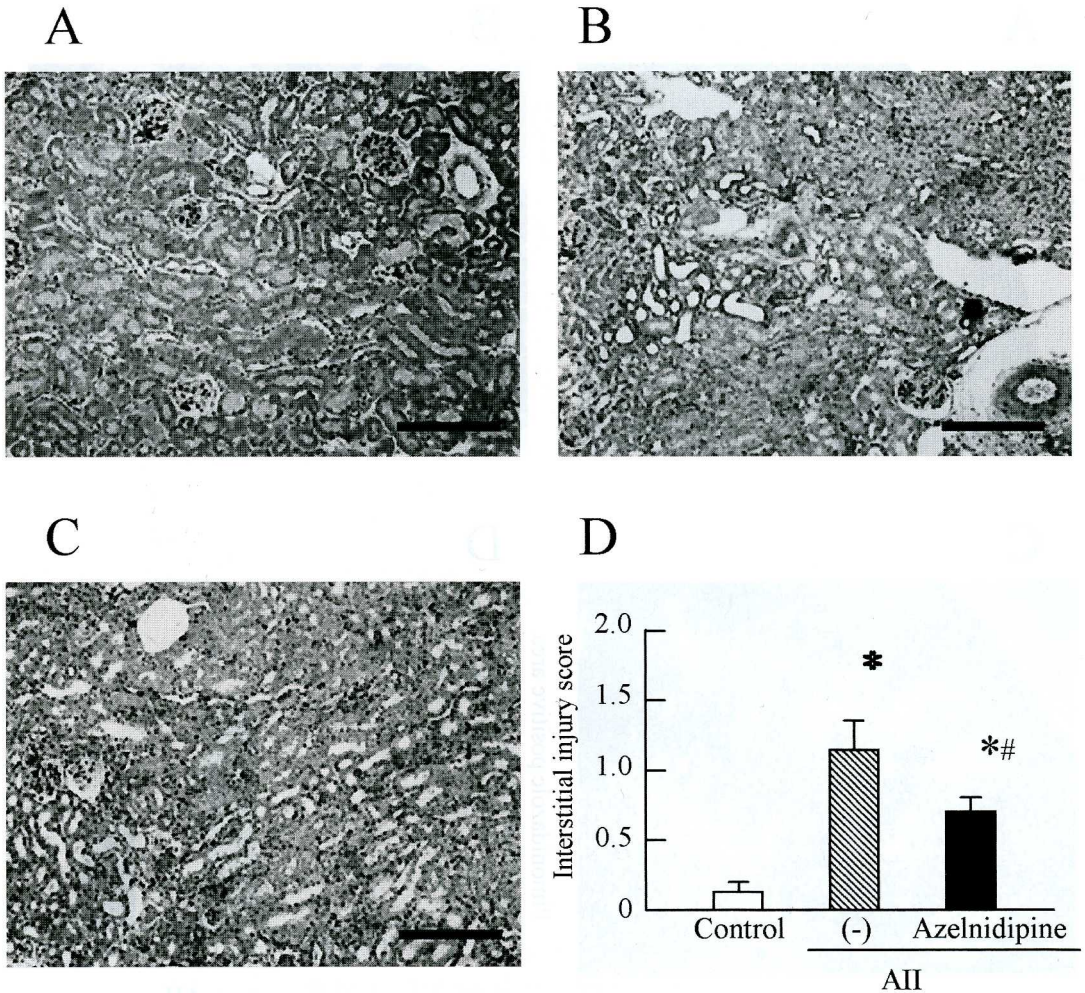


Fig. 3. Effects of azelnidipine on AII-induced interstitial injury. Light micrographs of rat renal cortex from control rat (A), AII (500 ng/kg/min) chronic infusion rat (B), and AII chronic infusion and azelnidipine (30 mg/day) treated rat (C) (PAS stain; Scale bar; 200 μ m). (D) Interstitial injury score. AII chronic infusion for 14 days developed focal interstitial injury. However, AII-induced interstitial injury was prevented by azelnidipine treatments. * $p < 0.05$ vs. control rats, # $p < 0.05$ vs. AII infusion rats.

与群では有意な減少が認められた(対照群, $33.4 \pm 3.0\%$ vs. AII投与群, $21.2 \pm 2.4\%$, $p < 0.05$; Fig. 5D). この結果は, PTCの血流がAII投与群で減少していることを推測させる. しかし, AII投与群でのPTCの径や数の変化はアゼルニジピン群では, 有意に抑制されていた(Fig. 5C). 腎皮質におけるPTCの占める面積もAII投与群に比し, 有意な上昇を認めた(アゼルニジピン群 $28.5 \pm 33\%$, $p < 0.05$ vs. AII投与群; Fig. 5D).

考 察

CCDVを利用し, 腎皮質表面のPTC及び糸球体の血流動態を直接観察した. この方法は, 生理的な状態での観測が可能で糸球体やPTCの微小循環血流変化の評価に利用できることが報告されている^{24), 25), 28)}. 今回の実験により以下の事実が判明した. 1) AIIは, 輸入細動脈と輸出細動脈を収縮しその下流であるPTCの

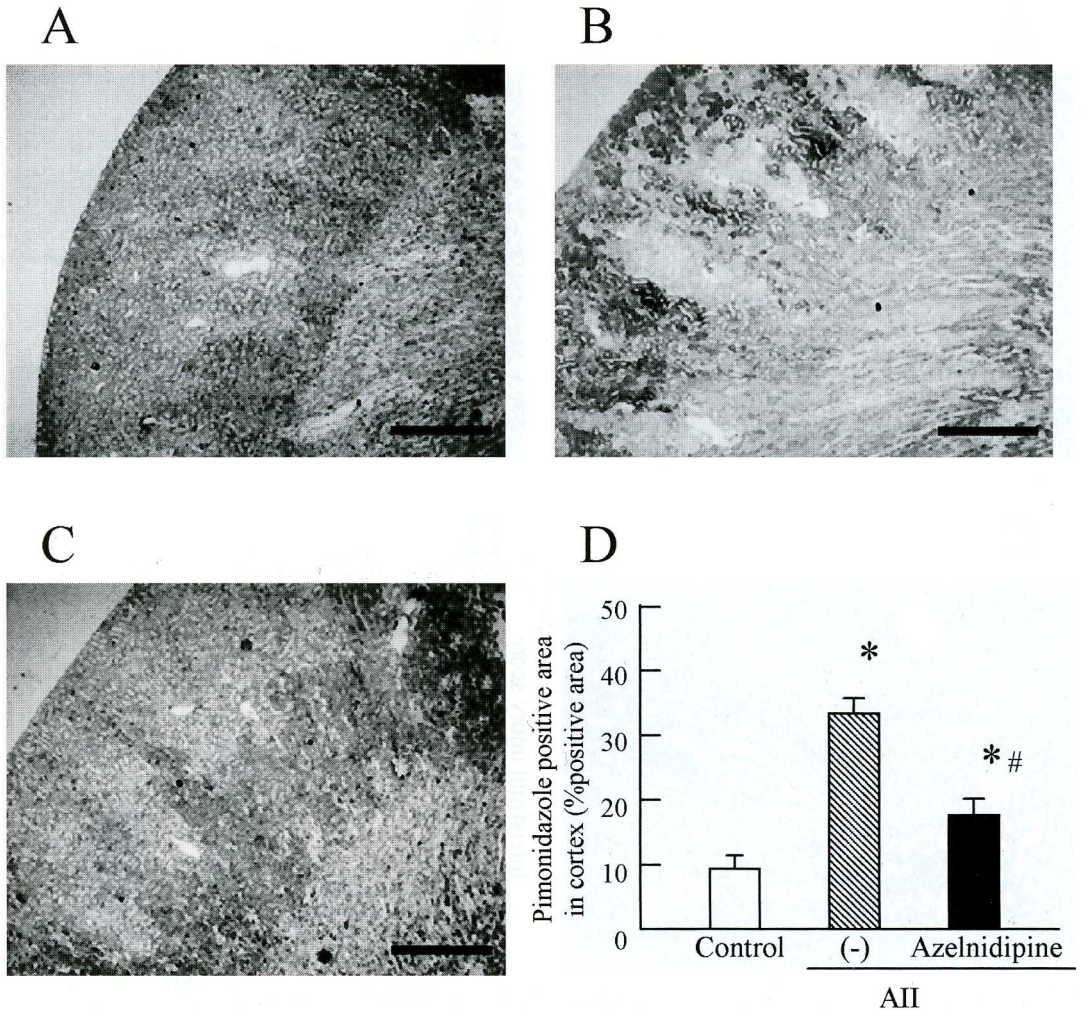


Fig. 4. Effects of azelnidipine on AII-induced hypoxia. Immunohistochemical micrographs of rat renal cortex stained with anti-pimonidazole antibody from control rat (A), AII (500 ng/kg/min) chronic infusion rat (B), and AII chronic infusion and azelnidipine (30 mg/kg/day) treated rat (C) (Scale bar; 1 mm). (D) Semiquantitative pimonidazole positive area in cortex. Hypoxia, determined by pimonidazole positive area, in renal cortex was enlarged in chronic AII infusion for 14 days. However, Azelnidipine treatment limited enlargement of AII-induced hypoxia in renal cortex. * $p < 0.05$ vs. control rats, # $p < 0.05$ vs. AII infusion rats.

血流を低下させる。2) アゼルニジピンは、AIIによる輸入細動脈と輸出細動脈の収縮を改善し、PTCの血流を増加させる。AIIは、輸出細動脈だけでなく輸入細動脈も収縮させることと、用量依存性にRPFを低下させることとが、すでに報告されている²⁵⁾。しかし、PTCの血流変化およびPTC血流を直接画像で観察しえた報告はない。今回の実験により、直接PTCの血流をin vivoで観察することが可能と

なり、AII投与によるPTC血流低下が明らかとなった。

AIIは、多彩な作用を介し腎障害に関与することが知られている。ラットへのAIIの高濃度持続投与は、高度な尿細管間質障害を引き起こす。しかし、糸球体障害は尿細管間質障害に比べ軽微であることが知られている^{29), 30)}。以前からAIIは、尿細管間質細胞の形質変化や^{29), 30)}、炎症細胞浸潤³¹⁾を惹起することが示

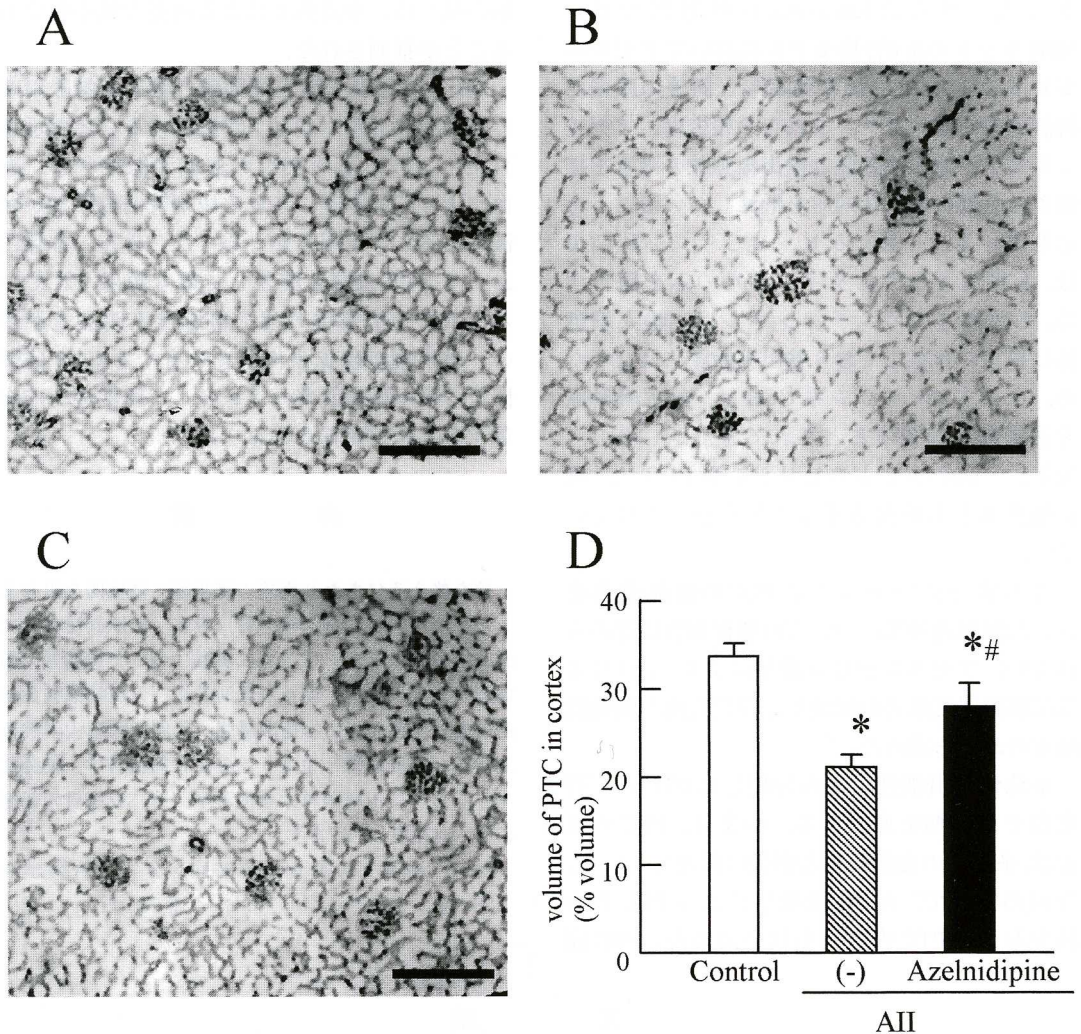


Fig. 5. Effects of azelnidipine on AII-induced reduction of PTC volume. Immunohistochemical micrographs of PTC in rat renal cortex stained with anti-RECA-1 antibody. (A) control rat. (B) AII chronic infusion rat. (C) AII chronic infusion and azelnidipine treated rat. (Scale bar ; 200 μ m). (D) Semiquantitative volume of PTC in renal cortex. The PTC volume that was provided by PTC number and PTC lumen was markedly reduced in AII treated rats and ameliorated by azelnidipine. * p <0.05 vs. control rats, # p <0.05 vs. AII infusion rats.

されていた。これらに加えて、今回の実験結果から、AIIは、PTC血流の低下により尿細管間質障害を引き起こすことが推測された。AII持続投与による腎障害モデルの実験でも、尿細管間質障害と、Pimonidazoleにより示した腎皮質部の組織低酸素の拡大が観察された。これらの結果から、AIIによるPTC血流低下が、腎皮質に血流低下と組織低酸素を引き起こし、尿細管間質障害を惹起していることが推測され

た。

Oizumiらは自然高血圧 (SHR) ラットを用いてアゼルニジピン 3 mg/kg/day の15週間投与によりRPFの増加を認めている³²⁾。Yagilらはアゼルニジピン投与による、RPFの変化をニカルジピンと比較し、同等の降圧下においてアゼルニジピンの有意なRPF増加を報告している²¹⁾。またアゼルニジピン投与によりGFRは増加したが、RPFの増加に比較し軽度で

あった。さらに Kanazawa らの報告では、SHR ラットの5/6腎摘モデルにおいてアゼルニジピンにより ACE 阻害薬投与と同等の尿蛋白抑制効果を認めた²²⁾。これらの報告は、アゼルニジピンが輸入細動脈と輸出細動脈の両者を拡張させ有効に糸球体内圧を低減していることを示している。一般にジヒドロピリジン系 CCB は、L型カルシウムチャンネルのみを阻害する。L型カルシウムチャンネルは、輸入細動脈に豊富に存在しており輸出細動脈にはないため、ジヒドロピリジン系 CCB は、輸入細動脈を選択的に拡張するとされてきた。しかし、近年、一部のジヒドロピリジン系 CCB は、輸出細動脈をも拡張させることが報告されている³³⁾。

これまでに CCB による PTC の血流改善を介した腎保護効果についての解析報告は認められない。アゼルニジピン投与により、AII による尿細管間質障害の軽減と、腎皮質部の組織低酸素の改善を認めた。

糸球体輸出細動脈から分岐した PTC は、腎皮質で血管網を形成する。つまり、PTC の血流は、糸球体の血流変化と密接に関連している。今回の実験で、AII 持続投与により PTC 数の減少および PTC 内腔狭小化を認めた。PTC 面

積の減少は、血流低下による内腔の狭小化であることが推測された。

AII 投与による輸入細動脈と輸出細動脈両者の収縮をアゼルニジピンが抑制することが示された。これにより PTC の血流が保持され、虚血によって引き起こされる尿細管間質障害が軽減されることが明らかとなった。現在、本邦において CCB は降圧薬として最も頻用されている。CCB の腎保護作用の詳細は不明な点が多い。輸出細動脈拡張作用をも有する CCB は腎間質の微小循環改善作用を介して腎保護的に作用することが明らかとなった。

謝 辞

稿を終えるにあたり直接の御指導、御検閲を賜りました川崎医科大学内科学(腎)教室 柏原直樹教授に深甚なる謝意を表すとともに実験について御助言、御協力いただいた同 佐々木環助教授、元川崎医科大学泌尿器科学教室 山本徳則講師、元岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学 佐藤稔先生ならびに川崎医科大学内科学(腎)教室員の皆様に厚くお礼申し上げます。

なお、本論文の要旨は第36回アメリカ腎臓学会(2003年、サンディエゴ)において発表した。

文 献

- 1) Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I : The progression of renal disease. *N Engl J Med* 318 : 1657-1666, 1988
- 2) Bohle A, Mackensen-Haen S, von Gise H : Significance of tubulointerstitial changes in the renal cortex for the excretory function and concentration ability of the kidney : a morphometric contribution. *Am J Nephrol* 7 : 421-433, 1987
- 3) Nath KA : Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 20 : 1-17, 1992
- 4) Bohle A, Mackensen-Haen S, Wehrmann M : Significance of postglomerular capillaries in the pathogenesis of chronic renal failure. *Kidney Blood Press Res* 19 : 191-195, 1996
- 5) Ohashi R, Kitamura H, Yamanaka N : Peritubular capillary injury during the progression of experimental glomerulonephritis in rats. *J Am Soc Nephrol* 11 : 47-56, 2000
- 6) Fine LG, Orphanides C, Norman JT : Progressive renal disease : the chronic hypoxia hypothesis. *Kidney Int Suppl* 65 : S74-S78, 1998
- 7) Dworkin LD, Benstein JA, Parker M, Tolbert E, Feiner HD : Calcium antagonists and converting enzyme inhibitors reduce renal injury by different mechanisms. *Kidney Int* 43 : 808-814, 1993

- 8) Harris DC, Hammond WS, Burke TJ, Schrier RW : Verapamil protects against progression of experimental chronic renal failure. *Kidney Int* 31 : 41–46, 1987
- 9) Brunner FP, Thiel G, Hermle M, Bock HA, Mihatsch MJ : Long-term enalapril and verapamil in rats with reduced renal mass. *Kidney Int* 36 : 969–977, 1989
- 10) Wenzel UO, Troschau G, Schoepp W, Helmchen U, Schwietzer G : Adverse effect of the calcium channel blocker nitrendipine on nephrosclerosis in rats with renovascular hypertension. *Hypertension* 20 : 233–241, 1992
- 11) Salvetti A, Ghiadoni L : Guidelines for antihypertensive treatment : an update after the ALLHAT study. *J Am Soc Nephrol* 15 Suppl 1 : S51–S54, 2004
- 12) Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, de Leeuw PW, Mancia G, Rosenthal T, Ruilope LM : Morbidity and mortality in patients randomised to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study : Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). *Lancet* 356 : 366–372, 2000
- 13) Yokoyama S, Kaburagi T : Clinical effects of intravenous nifedipine on renal function. *J Cardiovasc Pharmacol* 5 : 67–71, 1983
- 14) Bell AJ, Lindner A : Effects of verapamil and nifedipine on renal function and hemodynamics in the dog. *Ren Physiol* 7 : 329–343, 1984
- 15) Takakura S, Furuichi Y, Yamamoto T, Ogawa T, Satoh H, Mori J : Effect of nilvadipine on the development of neurological deficits in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 25 : 677–682 ; discussion 682–673, 1994
- 16) Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, Remuzzi G, Snapinn SM, Zhang Z, Shahinfar S ; RENAAL Study Investigators : Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 345 : 861–869, 2001
- 17) Carmines PK, Navar LG : Disparate effects of Ca channel blockade on afferent and efferent arteriolar responses to ANG II. *Am J Physiol* 256 : F1015–F1020, 1989
- 18) Fleming JT, Parekh N, Steinhausen M : Calcium antagonists preferentially dilate preglomerular vessels of hydronephrotic kidney. *Am J Physiol* 253 : F1157–F1163, 1987
- 19) Honda M, Hayashi K, Matsuda H, Kubota E, Tokuyama H, Okubo K, Ozawa Y, Saruta T : Divergent natriuretic action of calcium channel antagonists in mongrel dogs : renal haemodynamics as a determinant of natriuresis. *Clin Sci (Lond)* 101 : 421–427, 2001
- 20) Koike H, Kimura T, Kawasaki T, Sada T, Ikeda T, Sanbuissho A, Saito H : Azelnidipine, a Long-acting Calcium Channel Blocker with Slow Onset and High Vascular Affinity. *Annu Rep Sankyou Res Lab* 54 : 2–61, 2002
- 21) Yagil Y, Miyamoto M, Frasier L, Oizumi K, Koike H : Effects of CS-905, a novel dihydropyridine calcium channel blocker, on arterial pressure, renal excretory function, and inner medullary blood flow in the rat. *Am J Hypertens* 7 : 637–646, 1994
- 22) Kanazawa M, Kohzuki M, Yoshida K, Kurosawa H, Minami N, Saito T, Yasujima M, Abe K : Combination therapy with an angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor and a calcium antagonist : beyond the renoprotective effects of ACE inhibitor monotherapy in a spontaneous hypertensive rat with renal ablation. *Hypertens Res* 25 : 447–453, 2002
- 23) Oizumi K, Miyamoto M, Koike H : Effects of dihydropyridine Ca blockers on the renal function in nephrotic spontaneously hypertensive rat (SHR). *Biol Pharm Bull* 17 : 407–410, 1994
- 24) Yamamoto T, Tada T, Brodsky SV, Tanaka H, Noiri E, Kajiya F, Goligorsky MS : Intravital videomicroscopy of peritubular capillaries in renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 282 : F1150–F1155, 2002
- 25) Yamamoto T, Hayashi K, Matsuda H, Kubota E, Tanaka H, Ogasawara Y, Nakamoto H, Suzuki H, Saruta T, Kajiya F : In vivo visualization of angiotensin II- and tubuloglomerular feedback-mediated renal vasoconstriction. *Kidney Int* 60 : 364–369, 2001

- 26) Velasquez MT, Striffler JS, Abraham AA, Michaelis OE 4th, Scalbert E, Thibault N : Perindopril ameliorates glomerular and renal tubulointerstitial injury in the SHR/N-corpulent rat. *Hypertension* 30 : 1232-1237, 1997
- 27) Zhong Z, Arteel GE, Connor HD, Yin M, Frankenberg MV, Stachlewitz RF, Raleigh JA, Mason RP, Thurman RG : Cyclosporin A increases hypoxia and free radical production in rat kidneys : prevention by dietary glycine. *Am J Physiol* 275 : F595 - F604, 1998
- 28) Yamamoto T, Tomura Y, Tanaka H, Kajiyama F : In vivo visualization of characteristics of renal microcirculation in hypertensive and diabetic rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 281 : F571 - F577, 2001
- 29) Johnson RJ, Alpers CE, Yoshimura A, Lombardi D, Pritzl P, Floege J, Schwartz SM : Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension* 19 : 464-474, 1992
- 30) Giachelli CM, Pichler R, Lombardi D, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM, Johnson RJ : Osteopontin expression in angiotensin II-induced tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 45 : 515-524, 1994
- 31) Shao J, Nangaku M, Miyata T, Inagi R, Yamada K, Kurokawa K, Fujita T : Imbalance of T-cell subsets in angiotensin II-infused hypertensive rats with kidney injury. *Hypertension* 42 : 31-38, 2003
- 32) Oizumi K, Nishino H, Miyamoto M, Fukushige J, Fukami M, Koike H : Beneficial renal effects of CS-905, a novel dihydropyridine calcium blocker, in SHR. *Jpn J Pharmacol* 51 : 501-508, 1989
- 33) Hayashi K, Ozawa Y, Fujiwara K, Wakino S, Kumagai H, Saruta T : Role of actions of calcium antagonists on efferent arterioles--with special references to glomerular hypertension. *Am J Nephrol* 23 : 229-244, 2003