

4 カルシウムの吸収と排泄

POINT

- 腸管および腎臓における Ca（再）吸収機構には、能動輸送系の経細胞輸送経路と受動輸送系の傍細胞輸送経路がある。
- 能動輸送系は、①Ca チャネルを介した管腔側から細胞内への流入、②Ca 結合蛋白による細胞内移動、③交換体やポンプを介した血管側への放出、の三つのステップで構成されている。
- 受動輸送系には、タイトジャンクションに存在する Claudin 蛋白が、注目されている。

はじめに

カルシウム (Ca) は、骨格の形成と維持から神経機能の時間的、空間的制御に至るまでのプロセスで重要な役割を果たしている、すべての生物に不可欠なミネラルである。血中 Ca イオン (Ca^{2+}) 濃度の維持は、食事摂取により得られた Ca が、生体唯一の流入路である小腸からの Ca 吸収に始まり、腎臓における Ca 再吸収および排泄、そして骨への Ca の動員および遊離による骨代謝の調節により保たれており、その調節は、腎臓、骨そして副甲状腺から産生される内分泌ホルモンである活性型ビタミン D₃[$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$]、副甲状腺ホルモン (PTH)、線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) および α -klotho による臓器間相互作用が、鍵を握っている (図 1-4-1)。

腸管および腎臓における Ca (再) 吸収機構には、上皮細胞を介した経細胞輸送 (能動輸送) 経路と 上皮細胞間のタイトジャンクションを介した傍細胞輸送 (受動輸送) 経路がある。とくに、Ca の能動輸送系は、①Ca チャネルを介した管腔側から細胞内への流

入、②Ca 結合蛋白による細胞内移動、③交換体やポンプを介した血管側への放出、の三つのステップにより構成されている。これまで小腸および腎臓での (再) 吸収において、管腔膜における細胞内への Ca^{2+} 流入路の分子実体について多くの研究成果が報告されている。

本稿では、生体内における Ca の吸収と排泄について、小腸および腎臓における Ca 輸送担体の役割と調節機構について概説する。

I. カルシウムの生体での役割

Ca は、生体内におけるもっとも主要なミネラルであり、その厳密な調節は、骨石灰化や筋収縮、神経伝達、ホルモン分泌、血液凝固などさまざまな生物学的機能に必須である。体内には約 1,000~1,200g の Ca が存在するが、99% 以上が骨と歯に分布し、ハイドロキシアパタイト [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] として骨格などの硬組織を形成している。残り 1% は、細胞や血液中に常に一定の濃度で存在している。

血中の Ca 濃度は 8.4~10.2 mg/dL 程度の範囲に保たれており、正常値を 10 mg/dL と

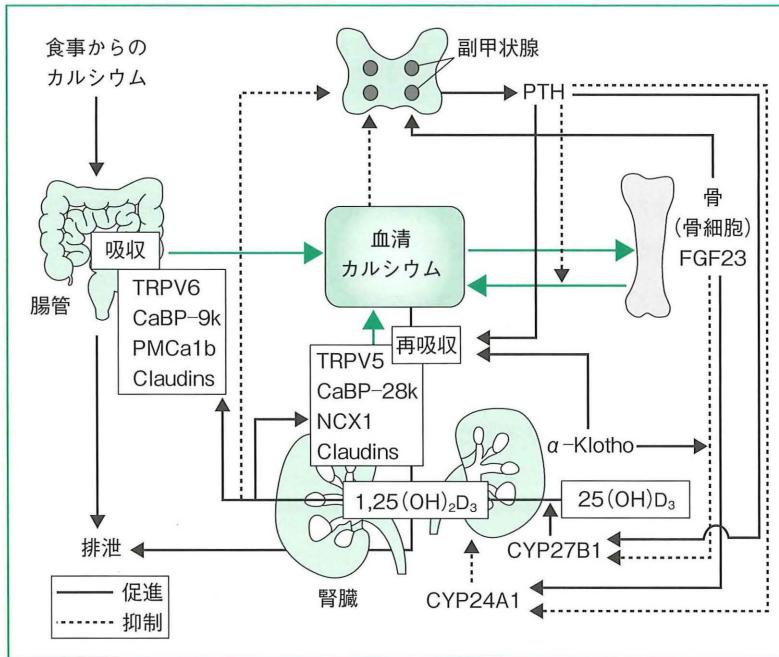


図 1-4-1 臓器間相互作用による生体カルシウム代謝調節

すると、そのうち 4 mg/dL はアルブミンと結合しており、1 mg/dL はリンなど他のイオンと結合しているため、血中の Ca^{2+} は、血中に存在する Ca 量の約半分 (5 mg/dL) に保たれている。このわずかな Ca^{2+} には、筋肉や神経の興奮性の制御、細胞膜の機能維持、細胞内のセカンドメッセンジャー、ホルモン分泌調節や酵素の活性化など多彩な生理作用が存在する¹⁾。

II. カルシウム吸収および再吸収

小腸は消化管の大部分からなり、十二指腸、空腸、回腸で構成されている。大腸は小腸後から始まり、盲腸、結腸、直腸から構成されている。能動輸送系による Ca 吸収は、おもに十二指腸と空腸上部で行われるが、受動輸送による Ca 吸収は、腸管全体で行われている。一方、腎臓での Ca 再吸収は、近位尿細管で 50%，ヘンレ係蹄で 20~30%，遠

位尿細管で 10~15%，さらに 5% 前後が集合管で行われる。したがって、糸球体で濾過された Ca のうち 95% 以上が腎にて再吸収される。遠位尿細管からの皮質集合管での Ca の能動輸送が、尿中 Ca 排泄量を左右するもっとも重要部位とされている。近位尿細管およびヘンレ上行脚に、タイトジャンクションを介した受動輸送経路の存在が知られており、この部位での Ca 再吸収は、Ca に特異的ではなく、水、ナトリウムの再吸収に伴う受動的傍細胞輸送および塩素イオン輸送により生じる電位差に依存した二次的輸送により行われている²⁾。

III. 小腸および腎臓におけるカルシウム経細胞輸送機構

1. 経細胞輸送系によるカルシウム吸収機構

経細胞輸送系による Ca 吸収機構は、①取り込み、②細胞内拡散と移行および③排出

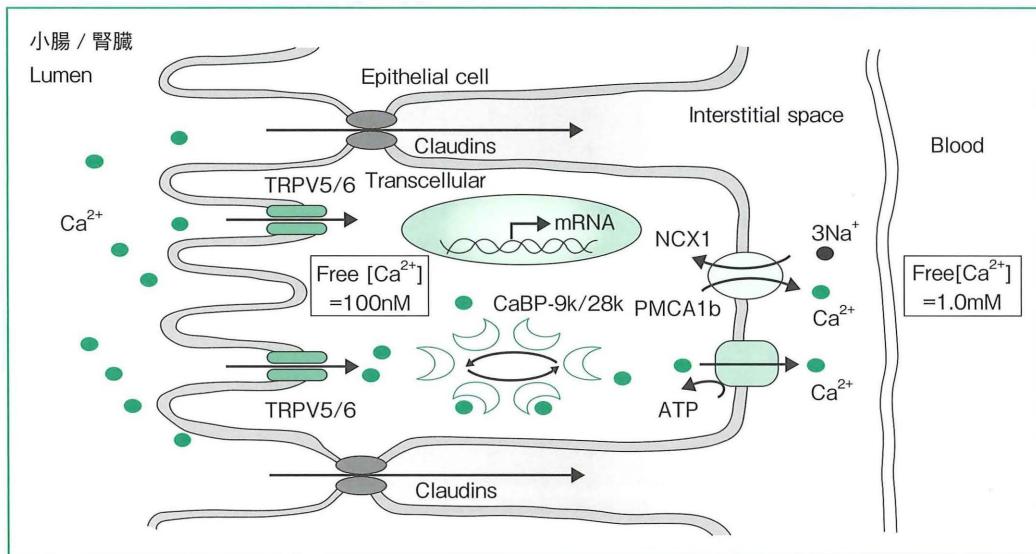


図 1-4-2 小腸および腎臓におけるカルシウム輸送機構

の連続した 3 ステップにより説明されている。十二指腸の管腔側には、transient receptor potential vanilloid type 6 (TRPV6) がおもに発現し、細胞内に流入した Ca^{2+} は、Ca 結合蛋白である Calbindin-D9k (CaBP-9k) に結合し、血管側へと移動、血管基底膜に存在する $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchanger (NCX1) と Ca^{2+} -ATPase (PMCA1b) により血管内へと吸収される。腎臓においては遠位尿細管 (DCT) と接合尿細管 (CNT) の管腔側に TRPV5 が存在し、細胞内に輸送された Ca^{2+} は、Calbindin-D28k (CaBP-28k) に結合し、細胞内を移行し、血管基底膜の NCX1 と PMCA1b により血管内へと再吸収される³⁾ (図 1-4-2)。

2. TRPV5 および TRPV6 の役割

腸管および腎臓における Ca (再) 吸收機構は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ による Ca 吸収促進作用の解明とともにその輸送機構の分子実態が明らかにされてきた。1999 年、Bindels らは、ウサギより、腎臓や胎盤にも発現する Ca^{2+} チャネル TRPV5 を同定した。ほぼ同時期

に、Hediger らは、小腸 Ca^{2+} 流入路の候補分子として Ca^{2+} 選択的な膜 6 回貫通型のイオンチャネルである TRPV6 を同定した^{4), 5)}。TRPV5 および TRPV6 の両者間のアミノ酸配列には、75% の相同性がある³⁾。実際、小腸および腎臓における TRPV5/6 の発現は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に応答し、ビタミン D 受容体 (VDR) 欠損マウスでは、これらチャネル分子の発現が著しく抑制されることから、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の Ca 吸収促進作用は、これら分子の発現調節により説明ができる^{6), 7)}。TRPV5 遺伝子の欠損マウスでは、受動輸送系が存在する近位尿細管での Ca^{2+} 輸送には影響しないが、能動輸送系を有する遠位尿細管部位での Ca^{2+} 輸送は著しく低下し、尿中 Ca^{2+} 排泄量が 6 倍増加する。また、TRPV6 遺伝子の欠損マウスでは、腸管 Ca 吸収が 60% 低下し、骨密度が減少する。これら両欠損マウスは、特発性高 Ca 尿症および Ca 吸収不良の患者と同様な症状を呈することから、両チャネルの機能障害は、ヒトでみられる Ca 代謝性疾患の原因となる可能性がある^{8), 9)}。これまでにヒトにおいて、TRPV5 および

表1-4-1 TRPV5およびTRPV6の発現、活性に及ぼす因子

調節因子	TRPV5	TRPV6	調節機序
Vitamin D	+	+	Transcription
PTH	+	=	Transcription
Estrogen	+	+	Transcription
Progesterone	ND	+	Transcription
Prednisolone	=	-	Transcription
Low dietary Ca ²⁺	+	+	Transcription
Tacrolimus	-	ND	Transcription
Acidosis	-	ND	Transcription/channel activity/trafficking
Klotho	+	+	Trafficking
Tissue kallikrein	+	=	Trafficking
S100A10/annexin 2	+	+	Trafficking
Rab11a	+	+	Trafficking
FKBP52	-	ND	Not known
Calmodulin	=	+	Channel activity
Calbindin-D28K	+	=	Channel activity
80K-H	+	ND	Channel activity
[Ca ²⁺] _i	-	-	Channel activity
[Mg ²⁺] _i	-	-	Channel activity
NHERF2/SGK1	+	ND	Not known
RGS2	=	+	Channel activity
BSPRY	+	ND	Not known
WNK4	+	ND	Trafficking

+ : 促進, - : 抑制, = : 変化なし, ND : 未決定

TRPV6の遺伝子上に変異は同定されていないが、TRPV6遺伝子のC157R, M378V, M681Tの一塩基多型(SNPs)が腸管過吸収性特発性高Ca尿症に関連しているとの報告がある^{10), 11)}。

これまでに、TRPV5/6発現および活性に影響する因子には、1,25(OH)₂D、PTH、FGF23、α-klothoやエストロゲンだけでなく、広範囲な腎疾患患者に処方されているタクロリムスおよびグルココルチコイド、プレドニゾロンなどの免疫抑制薬が報告されている(表1-4-1)。また、酸塩基状態はCaのイオン化状態に影響を与える。実際、慢性代謝性アシドーシス、合併症を伴う腎不全、遠位尿細管性アシドーシス、慢性下痢では、腎からのCa排泄の増加が起こる。また、マウ

スへの酸の負荷は、腎TRPV5発現が減少し、尿へのCa排泄が増加する³⁾。表1-4-1に示すように、TRPV5およびTRPV6の発現および活性に関与する多くの因子が報告されており、これら因子のCa代謝調節における役割を理解することは、腎不全時のミネラル代謝異常の治療およびCa管理に重要である。

3. CaBP-9KおよびCaBP-28Kの役割

ビタミンD依存性Ca結合蛋白であるCalbindin-D9k(CaBP-9k)およびCalbindin-D28k(CaBP-28k)は、小腸および腎臓にそれぞれ発現するほか、細胞への高濃度のCa流入が避けられない臓器である脳、骨、歯牙、内耳、胎盤、乳腺においても存在す

る。両者には Ca が特異的に結合するアミノ酸配列 (EF-hand モチーフ) が存在し、CaBP-9k に 2 カ所、CaBP-28k に 4 カ所同定されている。そのため、CaBP-9k/-28k は、細胞内に流入した Ca^{2+} と結合し、管腔側から血管基底膜への細胞内輸送に関わっているだけでなく、細胞内 Ca^{2+} の緩衝やセンターとしての役割も併せもつ²⁾。1,25(OH)₂D、PTH などの Ca 代謝調節ホルモンは、TRPV5 と同様に、両 CaBP-9k/28k の発現にも影響を与える。驚くことに、CaBP-9k 欠損マウスは、TRPV6 および PMCA1b の発現上昇が生じるため、Ca 代謝に異常は示さない。また、CaBP-28k 欠損マウスでは、中脳ドーパミン作動性ニューロンの脆弱性を示す^{12), 13)}。

4. PMCA および NCX の役割

Ca^{2+} -ATPase (PMCA) は、赤血球膜において Ca に高い親和性を有する分子として同定された。PMCA は、側底細胞膜に発現し、細胞質内の Ca を細胞外に排出するアデノシン三リン酸 (ATP) 依存性のトランスポーターであり、四つのアイソフォーム (PMCA1~4) が存在する。PMCA1 は全組織に存在するが、小腸においては、PMCA1b の発現が高く、主要な Ca 放出の役割を担っていると考えられている。実際、ビタミン D 欠乏のニワトリでは、小腸 PMCA1b の発現や活性が低下する。ナトリウム / カルシウム交換体 [$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX)] は、細胞膜を介する Na^+ の濃度勾配に従って Ca^{2+} を細胞外へ汲み出す役割を担っている。NCX は起電性であり、細胞膜を介して 3 個の Na^+ と 1 個の Ca^{2+} を交換輸送する。哺乳動物 NCX には、異なる遺伝子からなる三つのアイソフォーム (NCX1, NCX2, NCX3) があり、NCX1 は、

心臓、脳、腎臓、血管をはじめとする種々臓器に普遍的に発現し、NCX2 と NCX3 は、おもに脳、骨格筋に発現している²⁾。腎臓の NCX1 は、ネフロンの遠位部、側底細胞膜に発現しており、ビタミン D 合成酵素 CYP27B1 の遺伝子欠損マウスの腎臓では、NCX1 発現が、野生型の 10% にまで低下し、高 Ca 食および 1,25(OH)₂D 投与により回復する¹⁴⁾。

IV. 小腸および腎臓におけるカルシウム傍細胞輸送機構

近年、Ca (再) 吸収調節は、経細胞輸送系だけなく、傍細胞輸送系においても重要であるとされている。実際、TRPV6 および CaBP-9k の遺伝子欠損マウスにおいても、ビタミン D による腸管 Ca 吸収促進作用が残存していることや、十二指腸において、細胞間結合に重要な Cadherin-17 の発現が 1,25(OH)₂D₃ により抑制されること、反対に、小腸 Claudin-2 および Claudin-12 の発現は VDR 欠損マウスで低下し、ヒト腸管細胞において 1,25(OH)₂D₃ により発現が誘導されることが報告されている^{15), 16), 20)}。一方、腎臓では、輸送近位尿細管およびヘンレ上行脚には、タイトジャンクションを介した傍細胞輸送機構の存在が知られており、そこに発現する Claudin-16, Claudin-19 によって、 Ca^{2+} とともにマグネシウム (Mg) が輸送されている。重要なことに、Claudin-16/19 の遺伝子異常により家族性低 Mg 血症、高 Ca 尿症、腎石灰化を呈する¹⁷⁾。

近年、ナトリウムトランスポーターである epithelial sodium/proton exchanger 3 (NHE3) の遺伝子欠損マウスでは、腸管および腎臓での Ca 吸収および再吸収が抑制されることが報告されている。興味深いこと

に、NHE3 欠損マウスでは、小腸の Claudin-2 と Claudin-15、腎臓の Claudin-19 の mRNA 発現が有意に減少する。また、血清 Ca や PTH 濃度には変化がみられないが、血清 1,25(OH)₂D₃ および尿中 Ca 排泄率が上昇し、さらには、骨密度や骨量の低下を招くことが示された¹⁸⁾。このことから、NHE3 は、Ca（再）吸収に重要であることが示唆されている。

V. 腎機能異常に伴う カルシウム代謝異常

CKDにおいては、腎臓での 1,25(OH)₂D₃ 産生障害により、腸管 Ca 輸送系の発現が低下することによって、食事からの Ca が体内に十分に吸収されず、血中 Ca²⁺濃度が低下する。これが引き金となり、二次性副甲状腺機能亢進、腎性骨異栄養症、心血管組織の異所性石灰化が生じる。このように、CKD でみられる Ca・Pi・PTH の異常により引き起こされる病気に対して、「慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常 (CKD-mineral and bone disorder; CKD-MBD)」という概念が提唱されている¹⁹⁾。CKD-MBD の予防と治療には、血清 Pi および Ca 濃度の異常をできるだけ速やかに正常範囲内にコントロールすることが必要であり、炭酸 Ca や酢酸 Ca の Pi 吸着薬、ビタミン D 製剤、透析液からの Ca 負荷などが行われるが、この場合、高 Ca 血症への注意が必要となる。このように、CKD 患者における Ca 代謝の異常は、骨代謝異常、心血管イベントおよび生命予後にも関与することから、その管理は重要である。

おわりに

腸管および腎臓における Ca（再）吸収機

構は、TRPV5 および TRPV6 の発見により、Ca 輸送調節の分子機構の解明が進展した。また近年、受動輸送系における Ca 輸送関連分子の同定や遺伝子異常の解析が進むなど、Ca の吸収と排泄に関する謎が解明されつつある。これらの研究の発展は、ライフステージや CKD における Ca 代謝変動を理解する手がかりとなり、CKD-MBD の予防や治療時の Ca 管理に役立つことが期待される。

文 献

- 1) Peacock M : Calcium metabolism in health and disease. Clin J Am Soc Nephrol 2010 ; 5 : 23–30
- 2) Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ : Calcium absorption across epithelia. Physiol Rev 2005 ; 85 : 373–422
- 3) Hoenderop JG, Bindels RJ : Calcitropic and magnesiotropic TRP channels. Physiology 2008 ; 23 : 32–40
- 4) Peng JB, Chen XZ, Berger UV, et al : Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. J Biol Chem 1999 ; 274 : 22739–22746
- 5) Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, et al : Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. J Biol Chem 1999 ; 274 : 8375–8378
- 6) Bouillon R, Van Cromphaut S, Carmeliet G : Intestinal calcium absorption : Molecular vitamin D mediated mechanisms. J Cell Biochem 2003 ; 88 : 332–339
- 7) Hoenderop JG, Müller D, Van Der Kemp AW, et al : Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. J Am Soc Nephrol 2001 ; 12 : 1342–1349
- 8) Hoenderop JG, van Leeuwen JP, van der Eerden BC, et al : Renal Ca²⁺ wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. J Clin Invest 2003 ; 112 : 1906–1914
- 9) Bianco SD, Peng JB, Takanaga H, et al : Marked disturbance of calcium homeostasis in mice with targeted disruption of the Trpv6

- calcium channel gene. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 274–285
- 10) Muller D, Hoenderop JG, Vennekens R, et al : Epithelial Ca²⁺ channel (ECaC) in autosomal dominant idiopathic hypercalciuria. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1614–1620
 - 11) Suzuki Y, Pasch A, Bonny O, et al : Gain-of-function haplotype in the epithelial calcium channel TRPV6 is a risk factor for renal calcium stone formation. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 1613–1618
 - 12) Lee GS, Lee KY, Choi KC, et al : Phenotype of a calbindin-D9k gene knockout is compensated for by the induction of other calcium transporter genes in a mouse model. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 1968–1978
 - 13) Airaksinen MS, Eilers J, Garaschuk O, et al : Ataxia and altered dendritic calcium signaling in mice carrying a targeted null mutation of the calbindin D28k gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1488–1493
 - 14) Hoenderop JG, Dardenne O, Van Abel M, et al : Modulation of renal Ca²⁺ transport protein genes by dietary Ca²⁺ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in 25-hydroxyvitamin D₃-1alpha-hydroxylase knockout mice. *FASEB J* 2002; 16: 1398–1406
 - 15) Christakos S, Dhawan P, Ajibade D, et al : Mechanisms involved in vitamin D mediated intestinal calcium absorption and in non-classical actions of vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 183–187
 - 16) Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, et al : Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 1912–1921
 - 17) Sayer JA : Renal stone disease. *Nephron Physiol* 2011; 118: 35–44
 - 18) Pan W, Borovac J, Spicer Z, et al : The epithelial sodium/proton exchanger, NHE3, is necessary for renal and intestinal calcium (re) absorption. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 302: 943–956
 - 19) Moe S, Drueke T, Cunningham J, et al : Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy : a position statement from Kidney Disease : Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69: 1945–1953
 - 20) Benn BS, Ajibade D, Porta A, et al : Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D9k. *Endocrinology* 2008; 149: 3196–3205

(山本浩範, 竹谷 豊, 武田英二)