

7 血管石灰化の発症機序

POINT

- 血管石灰化は心血管疾患/脳卒中の発症および生命予後に影響を与える。
- 受動的因子（カルシウム・リン積上昇）のみならず，能動的因子（血管平滑筋細胞の形質転換）も血管石灰化発症に関与する。
- 血管石灰化発症機序を理解することは，治療戦略を考えるうえで重要である。

はじめに

健康な生体において歯および骨組織のみが石灰化するという事実は，生体内の石灰化が非常に厳密なシステムで制御されていることを示している。CKD 患者ではこの制御システムに異常をきたすため，血管などの軟部組織に病的石灰化を生じる。近年の研究により，CKD 患者における血管石灰化病変形成には，カルシウム (Ca)・リン (P) 積上昇という受動的因子のみならず，血管平滑筋細胞の骨(芽)細胞様細胞への形質転換といった能動的因子が関与することが知られるようになった。血管石灰化は心血管疾患/脳卒中の発症および生命予後に影響を与えるため，その発症機序を理解することは治療戦略を考えるうえでも重要である。本稿では，CKD 患者に認められる中膜石灰化の発症機序のうち，治療介入可能な項目あるいは治療介入に関連する項目に焦点を絞り概説する。

I. CKD 患者における血管石灰化促進因子

1. ミネラル代謝異常（高 P 血症，高 Ca 血症，低 Mg 血症）

高 P 血症は，もっとも重要な血管石灰化促進因子の一つである。CKD 患者の血管では，血管平滑筋細胞から放出されるアポトーシス体や基質小胞，あるいは変性・断片化したエラスチンを核に，ハイドロキシアパタイト (HA) が形成される。HA は熱力学的に安定なリン酸カルシウム化合物であり，血清 P および Ca の基準値がそれぞれ $1.0 \sim 1.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ， $2.2 \sim 2.6 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ であるのに対して，HA の溶解度積 (K_{sp}) は 37°C で $1.0 \times 10^{-58.6}$ と非常に低い。このため，高 P 血症・高 Ca 血症は HA の沈着を促進し，受動的血管石灰化を進行させる。一方，マグネシウム (Mg) には HA の成長抑制あるいは溶解度上昇作用があり，低 Mg 血症では受動的血管石灰化が促進される。

ミネラル代謝異常は能動的石灰化にも関与する。細胞外液 P 濃度上昇は，ナトリウム依存性リン共輸送体 (Pit-1) を介して血管平滑筋細胞内 P 濃度上昇を引き起こし，血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換

を促進する¹⁾。また細胞外液 Ca 濃度上昇は、基質小胞における matrix GLA 蛋白量を減少させるとともに matrix metalloproteinase 2 (MMP2) を活性化させ、石灰化の核となる annexin A6-phosphatidylserine 複合体形成を促進し、能動的石灰化に寄与する²⁾。一方、低 Mg 血症が能動的血管石灰化に与える影響については不明な部分が多く、今後の検討課題である。

2. 二次性副甲状腺機能亢進症

二次性副甲状腺機能亢進症は CKD 患者における骨ミネラル代謝異常の重要な治療ターゲットであり、副甲状腺垂全摘術やシナカルセト塩酸塩投与により血管石灰化が抑制される可能性が示唆されている^{3),4)}。しかし、血管平滑筋培養細胞や大動脈の培養系において、副甲状腺ホルモン (PTH) が石灰化を直接誘導することではなく、二次性副甲状腺機能亢進症による血管石灰化は、骨からのミネラル誘導 (骨血管相関)などを介した二次的なものであると考えられる。

3. 尿毒素

CKD 患者ではインドキシル硫酸 (IS) をはじめとする尿毒素が体内に蓄積する。IS は培養血管平滑筋細胞の骨芽細胞様形質転換を誘導し、Dahl 食塩感受性ラットの血管石灰化を促進することから、能動的血管石灰化に関与すると考えられる。また、ヒト CKD 患者においても血清 IS 濃度が高いほど大動脈石灰化が強く、AST-120 服用により腹部大動脈石灰化が抑制される可能性が、後ろ向き観察研究から示唆されている⁵⁾。しかし、AST-120 による治療介入が実際にヒト血管石灰化を抑制するか否かは現在のところ不明である。

4. 栄養不良および炎症

malnutrition (栄養障害), inflammation (炎症), atherosclerosis (動脈硬化) は CKD 患者で高頻度に認められ、これらはそれぞれ相加もしくは相乗的に作用して CKD 患者の予後を悪化させる (MIA 症候群)。炎症が能動的血管石灰化を促進することは、さまざまな検討で確認されており、培養血管平滑筋細胞では interferon- γ , tumor necrosis factor- α (TNF- α), oncostatin M が骨型 alkaline phosphatase (ALP) を誘導し、動物モデルでは TNF- α が Msx2-Wnt シグナル系を活性化し、血管石灰化を促進する⁶⁾。また、栄養障害も血管石灰化促進性に作用することが、極端な蛋白制限を行った腎不全動物の実験結果から示唆されている⁷⁾。ヒトにおいても低栄養や炎症の存在と石灰化抑制因子 fetuin-A の血清濃度が逆相関することが観察研究で明らかになっている⁸⁾。適切な栄養管理は健康な生体を維持するうえで必須であり、栄養の側面から新たな血管石灰化治療法開発が可能かもしれない。

II. CKD 患者における血管石灰化抑制因子

1. Matrix GLA 蛋白 (MGP)

MGP はビタミン K 依存性 γ カルボキシル化により活性化される蛋白質で、BMP-2 作用の調節や HA との直接作用を介して、能動・受動の両面から血管石灰化を抑制する。正常血管には γ カルボキシル化された MGP が存在するが、中膜石灰化を生じた血管では γ カルボキシル化 MGP が減少し、石灰化抑制作用がない非 γ カルボキシル化 MGP (ucMGP) が集積する⁹⁾。MGP は血管組織だけではなく血中にも存在するが、MGP ノックアウトマウスの大動脈石灰化が血管平滑筋

に特異的に MGP 発現を回復させたマウスでは消失するのに対し、血清 MGP レベルを回復させたマウスでは消失しないため、MGP は血管局所で作用する血管石灰化抑制因子であると考えられる¹⁰⁾。

ビタミン K 作用不足は MGP の機能不全による血管石灰化を引き起こすため、動物血管石灰化モデル作製のためワルファリン投与がしばしば行われる。またヒトにおいてもワルファリン使用と血管石灰化が関連し、透析患者においてビタミン K (menaquinone-4) 不足が血管石灰化を予測することが観察研究で明らかになっている¹¹⁾。心房細動に対する抗凝固療法の RCT では、ダビガトランがワルファリンに対する非劣性のみならず優越性を示しており、高度腎障害患者でなければ、血管石灰化抑制の面からも抗凝固療法としてダビガトラン使用が勧められるかもしれない¹²⁾。また、リバーロキサパンの使用も考慮されよう。

2. RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B), RANKL (RANK ligand), OPG (osteoprotegerin)

骨の健康と血管の健康は関連（骨血管相関）しており、OPG はその鍵を担う分子である。破骨細胞は、単球/マクロファージ系前駆細胞の受容体 RANK に、骨細胞が発現する RANKL が結合することで分化誘導される¹³⁾。一方、血管平滑筋細胞では RANKL 刺激が RANK-BMP4 (bone morphogenetic Protein 4) 経路を活性化し、血管平滑筋細胞の石灰化を促進する¹⁴⁾。OPG は RANKL のデコイレセプターであり、RANK-RANKL シグナルを抑制するため、骨においては破骨細胞分化を、血管においては血管平滑筋細胞の骨芽細胞様形質転換を抑制する。このため、OPG ノックアウトマウスでは骨

粗鬆症と同時に血管石灰化が生じる¹⁵⁾。

OPG と血管石灰化に関する最大の問題は、ヒト観察研究では血清 OPG 高値と血管石灰化進行に正の相関を認めることである。マウスとヒトで一見相反する結果が得られる理由は未だ明らかになっていないが、ノックアウトマウスは OPG 欠乏状態に関する情報を提供するが、OPG 過剰状態に関する情報を提供しない点には注意が必要であろう。また OPG は TNF- α をはじめとする炎症性サイトカインにより発現が誘導されることが知られており、ヒトで認められる血清 OPG 高値は、単に炎症を反映している可能性も否定できない。OPG ノックアウトマウスの表現型を見るかぎり、OPG は骨血管相関の鍵を担っていると考えられ、OPG に対する理解を深めることは、血管石灰化の治療を考えるうえでも大切であろう。

3. Fetuin-A

血清蛋白の一つである fetuin-A (α_2 -Heremans-Schmid glycoprotein) は、リン酸カルシウムと親和性の高い蛋白質である。血管石灰化は血管平滑筋から放出される基質小胞を核に進行することが知られているが、fetuin-A は annexin を介して血管平滑筋細胞に取り込まれ、基質小胞に蓄積され、基質小胞を核とした HA の成長を抑制する¹⁶⁾。また、CKD 患者などにおいて血中に出現する fetuin-A とミネラルの複合体は、異所性石灰化ストレスの強さを反映する^{17), 18)}。血中 fetuin-A 濃度は炎症や低栄養で低下することが知られており、血中 fetuin-A を維持する観点からも、炎症と栄養のコントロールは重要であると考えられる。

4. ピロリン酸 (PPI)

PPI はリン酸カルシウム沈着を阻害する物

質である。細胞外PPiを合成する酵素(Enpp1)欠損によりマウスおよびヒトで重度の中膜石灰化が生じることは、PPiが生理的石灰化抑制因子として重要な役割を担っていることを示唆する。血清ALPレベルと血管石灰化に相関があることが知られているが、ALPによりPPiが無機リンに分解されることがその原因の一つである。

PPiは生体内で速やかに分解されるため、PPi投与により血管石灰化を治療するのは困難である。PPiのP-O-P構造をP-C-P構造に変え、分解抵抗性をもたせた構造類似体がビスフォスフォネート(Bis)であり、動物血管石灰化モデルでは、第一世代Bisも第二世代以降のBisも血管石灰化を抑制できることが知られている⁷⁾。しかしヒトにおいては第一世代Bisが少数の透析患者を対象とした検討において血管石灰化を抑制したとの報告があるものの、腎機能正常者や保存期CKD患者を対象とした検討において、第二世代以降のBisによる血管石灰化進行抑制作用は明らかではない^{19), 20)}。CKD患者ではBis蓄積性の問題もあり、BisをCKD患者の血管石灰化治療として用いる場合は、注意が必要であると考えられる。

おわりに

以上、中膜石灰化の発症機序のうち、治療介入に関連する項目に焦点を絞り概説した。今後、血管石灰化発症メカニズムのさらなる理解の深まりとともに、十分な臨床的治療効果の望める治療法の開発が期待される。

文 献

- 1) Jono S, McKee MD, Murry CE, et al : Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000 ; 87 : E10-E17
- 2) Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, et al :

Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization. *Circ Res* 2011 ; 109 : e1-e12

- 3) Bleyer AJ, Burkart J, Piazza M, et al : Changes in cardiovascular calcification after parathyroidectomy in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2005 ; 46 : 464-469 **RCT 以外の介入研究**
- 4) Raggi P, Chertow GM, Torres PU, et al : The ADVANCE study : a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011 ; 26 : 1327-1339 **RCT**
- 5) Goto S, Kitamura K, Kono K, et al : Association between AST-120 and abdominal aortic calcification in predialysis patients with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2012 e-pub **観察研究 (後向き)**
- 6) Shioi A, Katagi M, Okuno Y, et al : Induction of bone-type alkaline phosphatase in human vascular smooth muscle cells : roles of tumor necrosis factor- α and oncostatin M derived from macrophages. *Circ Res* 2002 ; 91 : 9-16
- 7) Price PA, Roublick AM, Williamson MK : Artery calcification in uremic rats is increased by a low protein diet and prevented by treatment with ibandronate. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 1577-1583
- 8) Wang AY, Woo J, Lam CW, et al : Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005 ; 20 : 1676-1685 **観察研究 (前向き)**
- 9) Schurgers LJ, Teunissen KJ, Knapen MH, et al : Novel conformation-specific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein : undercarboxylated matrix Gla protein as marker for vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25 : 1629-1633
- 10) Murshed M, Schinke T, McKee MD, et al : Extracellular matrix mineralization is regulated locally ; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004 ; 165 :

625-630

- 11) Fusaro M, Noale M, Viola V, et al : Vitamin K, vertebral fractures, vascular calcifications, and mortality : Vitamin K Italian (VIKI) dialysis study. *J Bone Miner Res* 2012 ; 27 : 2271-2278 観察研究 (前向き)
- 12) Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al : Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 1139-1151 RCT
- 13) Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al : Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med* 2011 ; 17 : 1231-1234
- 14) Panizo S, Cardus A, Encinas M, et al : RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ Res* 2009 ; 104 : 1041-1048
- 15) Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al : Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1260-1268
- 16) Chen NX, O'Neill KD, Chen X, et al : Fetuin-A uptake in bovine vascular smooth muscle cells is calcium dependent and mediated by annexins. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ; 292 : F599-F606
- 17) Matsui I, Hamano T, Mikami S, et al : Fully phosphorylated fetuin-A forms a mineral complex in the serum of rats with adenine-induced renal failure. *Kidney Int* 2009 ; 75 : 915-928
- 18) Hamano T, Matsui I, Mikami S, et al : Fetuin-mineral complex reflects extraosseous calcification stress in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 1998-2007 観察研究 (後向き)
- 19) Toussaint ND, Elder GJ, Kerr PG : Bisphosphonates in chronic kidney disease ; balancing potential benefits and adverse effects on bone and soft tissue. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009 ; 4 : 221-233
- 20) Hill JA, Goldin JG, Gjertson D, et al : Progression of coronary artery calcification in patients taking alendronate for osteoporosis. *Acad Radiol* 2002 ; 9 : 1148-1152 RCT以外の介入研究

(松井 功, 濱野高行, 猪阪善隆)