

1. PET・SPECTによる分子イメージング

4) SPECT イメージング

銭谷 勉・渡部浩司・飯田秀博

PETやSPECTなどの核医学的診断法は、トレーサー標識技術（リガンド、ナノ粒子、ペプチド、タンパクの放射性同位元素による標識）と解析技術の融合により、病態生理学や病態生化学的な変化を非侵襲・高感度かつ高精度で観察することができ、実験小動物から臨床まで応用可能な分子イメージング手法である。本稿で紹介するSPECT装置はPET装置に比べ感度の点で劣るが、標識薬剤の供給が商業ベースで整備されており、安価で手軽に検査が実施できるため臨床の場で広く普及している。本稿では、標準的なSPECT装置の構成を概説したうえで、それぞれの用途に特化した様々なSPECT装置を紹介する。さらに、当研究グループが開発したSPECTでの定量的機能画像の解析技術について述べる。

はじめに

近年、生体内分子動態を臓器の多細胞構築を有した状態で把握したり、遺伝子発現や制御を発生・分化・再生の各段階で追跡するニーズが高まってきている。そのための新しい方法論として提案されたのが「生体内分子の挙動を画像化する技術」、すなわち分子イメージングである。ただし、分子イメージング自身の起源は、陽電子断層撮像法（positron emission tomography : PET）や単一光子断層撮像法（single photon emission computed tomography : SPECT）などに代表される核医学からきており、それ自体は非常に歴史が古い。近年、小動物用PET、SPECTの進歩、magnetic resonance imaging (MRI)、光学イメージングの急速な発展、新しいプローブの開発などが相まって、それらの複合技術的な観念として分子イメージングという分野が

発展してきた。

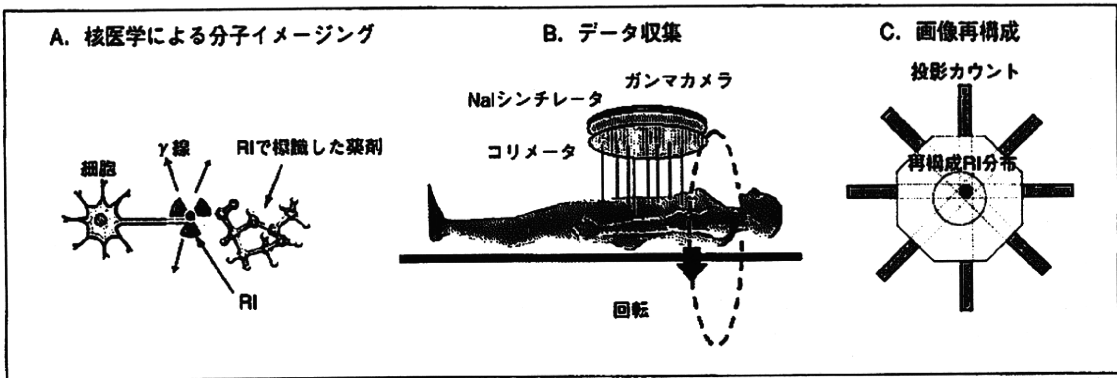
放射性同位元素（radioisotope : RI）を用いるPET、SPECTなどの核医学的手法は、非侵襲的な生体内のトレーサー追跡技術の中でも高い感度を有し、かつトレーサーの集積量に比例した信号強度を提示するため、定量的な評価が可能である。また、トレーサーの設計に依存して、組織や細胞レベルの生理機能から、遺伝子発現やペプチド、タンパクの動態および受容体分布などの分子機能までを「同一の手段」で可視化・評価できることから、分子イメージング技術として注目されている（図1A）。

本稿で紹介するSPECTはPETに比べ定量性や感度の点で劣るが、使用する放射性薬剤の半減期が長いこと、薬剤供給が商業ベースで整備されており、PETのようにサイクロトロンや合成装置などの大掛かりな設備を必要としないので、安価で手

key words

核医学、放射性同位元素、トレーサー、SPECT、コリメータ、2核種同時収集、画像再構成、半導体検出器、心臓専用SPECT装置、モバイル型ガンマカメラ、SPECT-CT、SPECT/PET、定量的SPECT画像再構成、血流量定量

図1 SPECTの概念図



軽に検査が実施できる。また近年、高血圧や高脂血症などの循環器疾患に関与する遺伝子が明らかになってきており、疾患発現に先行する病態生理の把握が重要になる。このとき、安静時のみの組織血流量や基質代謝量に加えて、種々の生理的・薬理的な賦活に対する反応性、例えば血管反応性や代謝自動調節能などが指標になると考えられている。これらの診断にはSPECTが利用でき、すでに定性的なイメージング評価法が多く臨床診断および臨床研究などに利用されている。

PETとともに分子イメージング技術の主流となりつつあるSPECTであるが、小動物用SPECTに関する説明は別稿の「動物用PET/SPECT (82～87頁参照)」に譲るとして、本稿では主に臨床の場で発展してきたSPECTの技術的な側面について概説する。

1. SPECT装置

SPECT装置は、患者用ベッド、ガンマカメラおよびこれを患者の周りを回転させるためのガントリーから構成される。SPECTは1個の γ 線を放出して壊変する単一光子放出核種をRIとして用い、これで標識した放射性薬剤を体内に投与し、目的の臓器や組織に集まったRIから放出される γ 線を体外のガンマカメラが体の周りを回転しながら捉える(図1B)。収集した多方向からの投影データを画像再構成して、放射能濃度の三次元分布が得られる(図1C)。

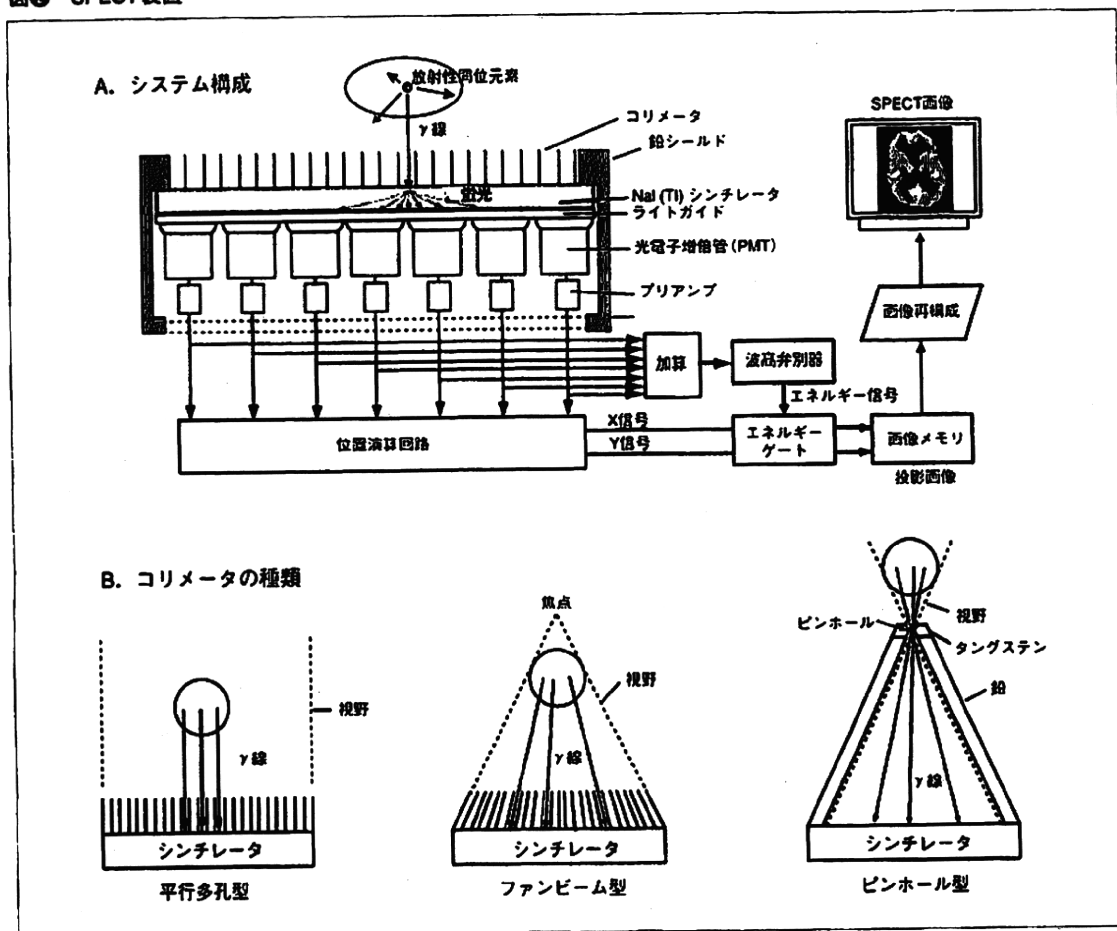
1. システム構成

SPECT装置の構成を図1Aに示す。SPECTでは、検出器の前に装着されたコリメータによって、 γ 線の飛来方向が特定される。シンチレータに入射した γ 線は、光電効果などの相互作用により吸収され、吸収エネルギーに比例した蛍光を発生する。蛍光は光電子増倍管群で検出され、出力信号強度は蛍光位置からの距離に依存し、後段の位置演算回路により蛍光発光位置が計算される。また、すべての光電子増倍管の出力を加算して作られたエネルギー信号は、波高弁別器で評価され、設定されたエネルギーウィンドウ内であれば、 γ 線の位置に対応した画像のマトリクスのカウントを1だけ増加させる。設定した時間内に蓄積されたカウントが1枚の投影画像となる。

2. コリメータ形状と用途

コリメータ形状は用途に応じて、平行多孔型、ファンビーム型、ピンホール型などがある(図2B)。最も一般的な平行多孔型は、心筋などの体幹部のような広い有効視野を必要とする場合に使用される。解像度は10mm前後である。ファンビーム型は、比較的小さな臓器を拡大撮像するために使用され、頭部撮像などに有効である。ピンホール型は、被写体をピンホールに近づけることで拡大像が得られるため、1mm以下の超高解像度撮像が可能で、甲状腺などの体表に近い小さな臓器や、マウスやラットなどの小動物の撮像に効果的である。小動物用SPECT装置はピンホール型を用いたものが主流である。

図2 SPECT装置



3. 画像再構成

収集された投影データは、画像再構成されSPECT画像が得られる。現在のSPECT画像再構成法は、解析的なフィルター補正逆投影法 (filtered back-projection: FBP) と統計学に基づく逐次近似手法のOSEM (ordered subset expectation maximization) 法に大別できる。OSEM法²⁾はノイズ抑制効果があり、FBP法でみられる線状アーチファクトが少ない。また、被写体内での吸収や散乱、解像度低下など画質を劣化させる物理現象や幾何学を画像再構成過程に容易に組み込むことができ、定量的に関わる補正が可能である。

4. 2核種同時収集

PETの場合、対象とする放射性薬剤はすべて511keVのγ線を放出するので、複数の薬剤の弁別

を行うのは困難である。一方、表①のようにSPECTでは使用する核種によって特定のエネルギーのγ線をもつので、複数の核種を同時に投与して同時に複数の核種のデータ収集も可能である。例えば、²⁰¹Tl(70keV)と^{99m}Tc(140keV)、²⁰¹Tl(70keV)と¹²⁵I(159keV)などの組み合わせが可能である。

II. 様々なSPECT装置

前項では汎用的なSPECT装置について述べたが、半導体検出器を利用したものや用途に特化した専用装置も開発されている。本項では、様々なSPECT装置を紹介する。

1. 半導体検出器

半導体素子を用いた検出器は、エネルギー分解能、空間分解能、計数率特性に優れ、シンチレー

表① SPECT検査に使用される代表的な放射性核種

Isotope	Energy	Half life	Tracer	Application
^{99m} Tc	140 keV	6.01 hr	MDP/HMDP	bone scan
			MIBI	myocardial perfusion
			tetrofosmin	myocardial perfusion
			TRODAT	dopamine transporter
²⁰¹ Tl	70 keV	72.9 hr	TlCl	myocardial perfusion
¹²³ I	159 keV	13.3 hr	BMIPP	beta-oxidation
			MIBG	sympathetic
			β-CIT	dopamine transporter
			Iomazenil	benzodiazepine receptor
¹³¹ I	364 keV	8.04 day		thyroid
⁶⁷ Ga	93, 185, 300 keV	3.26 day	citrate	tumor

タの代替として研究されてきたが、均一な半導体結晶を大量に製造することが難しかったため歩留まりが悪く、しかも高価であったためなかなか普及しなかった。近年、製造技術が向上し、均一性および生産性が改善され、製品として普及しつつある。半導体の材料としては、CdZnTe (CZT) や CdTe が使用されている。光電子増倍管を使用しないことと、付属の電子回路の集積化により、小型・軽量化が可能である。現在ではポータブル用や小動物用 SPECT として半導体検出器を用いたものが製品化されている。

2. モバイル型ガンマカメラ

Digirad 社は、光電子増倍管の代わりに半導体センサーのフォトダイオードを使用することによって、周辺のデッドスペースをなくした有効視野 20×20cm の小型軽量ガンマカメラを開発した。乳房腫瘍のセンチネルリンパ節などの近接撮像に有効である。キャスターでの移動が可能で、手術室などで使用できる。また、心臓検査用の回転椅子を組み合わせて心臓 SPECT 画像を得ることもできる。

3. 心臓専用 SPECT 装置

心臓検査専用の小型検出器を用いた SPECT 装置が開発されている。患者はリクライニングシートに座って、リラックスした状態で検査が受けられる。D-SPECT は縦長の CZT 検出器 10 個が胸囲を半周囲うように固定配置されて、個々が心臓を向くように独立に制御される。解像度は一般の SPECT 装置の 2 倍で、高感度ゆえ、心筋 SPECT 画像が約 3

分で収集可能である。

4. ハイブリッド装置

SPECT-CT 装置は、1つのガントリー内にガンマカメラと X 線 CT ユニットが搭載されており、1回の検査で SPECT 画像と X 線 CT 画像を得ることができる。2つの利点があり、1つは X 線 CT 画像からの吸収マップを用いて SPECT 画像の吸収補正ができること、もう1つは X 線 CT からの解剖学的画像を SPECT 画像に重ね合わせることで RI 集積部位の同定が容易にできることである。

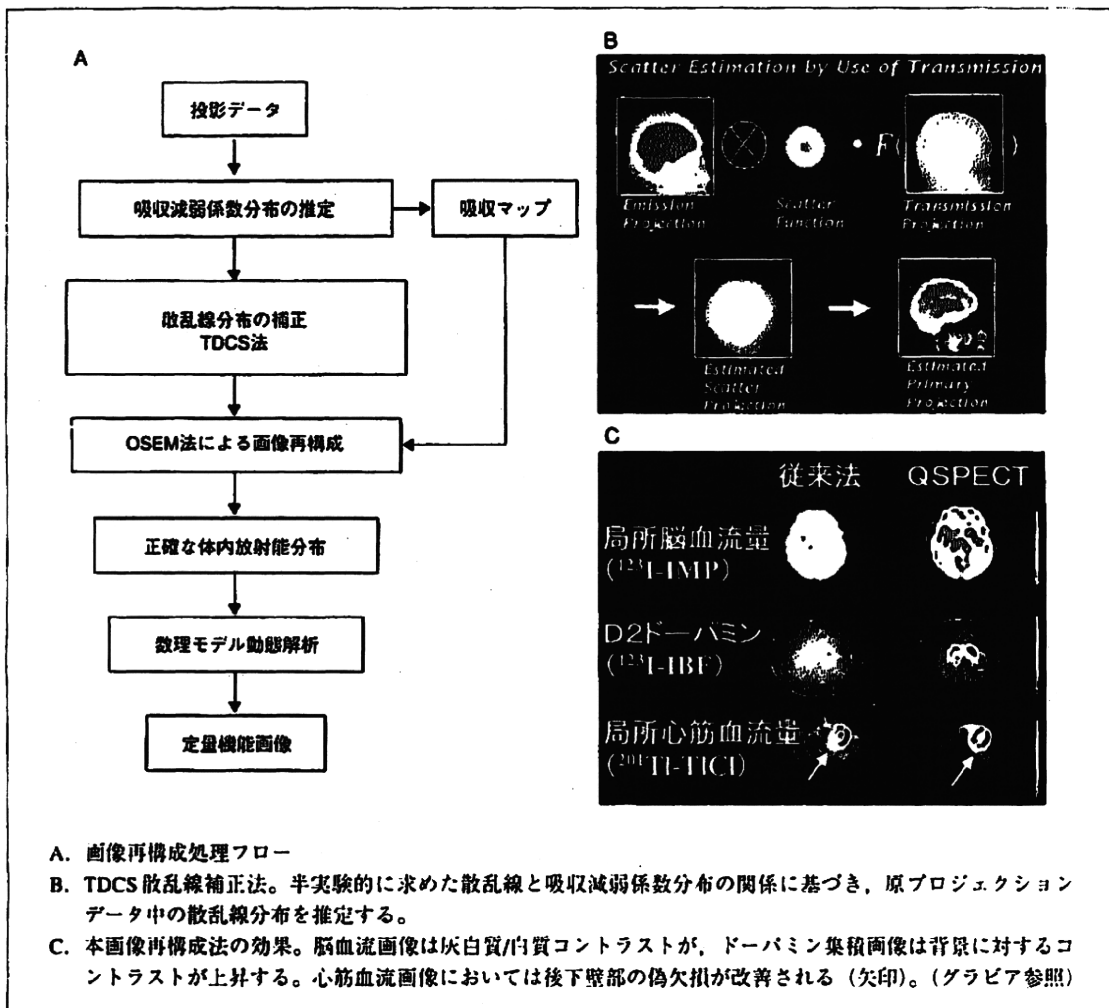
また、比較的半減期が長く (109 分)、輸送が可能な ¹⁸F-FDG による腫瘍イメージングの普及により、ポジトロン核種が撮像可能な SPECT/PET 兼用装置も開発されている。シンチレータは高エネルギー用に通常よりも厚いものが用いられている。^{99m}Tc (140keV) と FDG (511keV) などの同時検査が可能である。

Ⅲ. 定量的 SPECT 画像再構成および解析技術

SPECT は装置構成が単純であり、機器の個体差はほぼ画像再構成ソフトウェアに依存する。したがって、画像再構成ソフトウェアさえ標準化できれば臨床画像の標準化は比較的容易である。SPECT 装置はすでに多くの施設 (国内だけで 1000 施設、2600 台) で稼動しており、定量化・標準化が実現できれば大規模な臨床試験が可能となる。

当研究グループでは、従来は困難とされていた SPECT 画像診断において PET 同様に脳・心筋の機

図④ 定量的SPECT画像再構成



能画像の定量化に成功した。投影データの散乱線分布の補正を行い、これを吸収補正を組み込んだOSEM法で画像再構成することで、正確な体内放射能分布が得られる(図④A)。また、散乱線補正を図④Bに示す transmission-dependent convolution subtraction (TDCS) 法を用いることにより、散乱線補正を行わない従来法のSPECT画像再構成と比べて、画像の定量精度およびコントラストを顕著に改善することができる(図④C)。

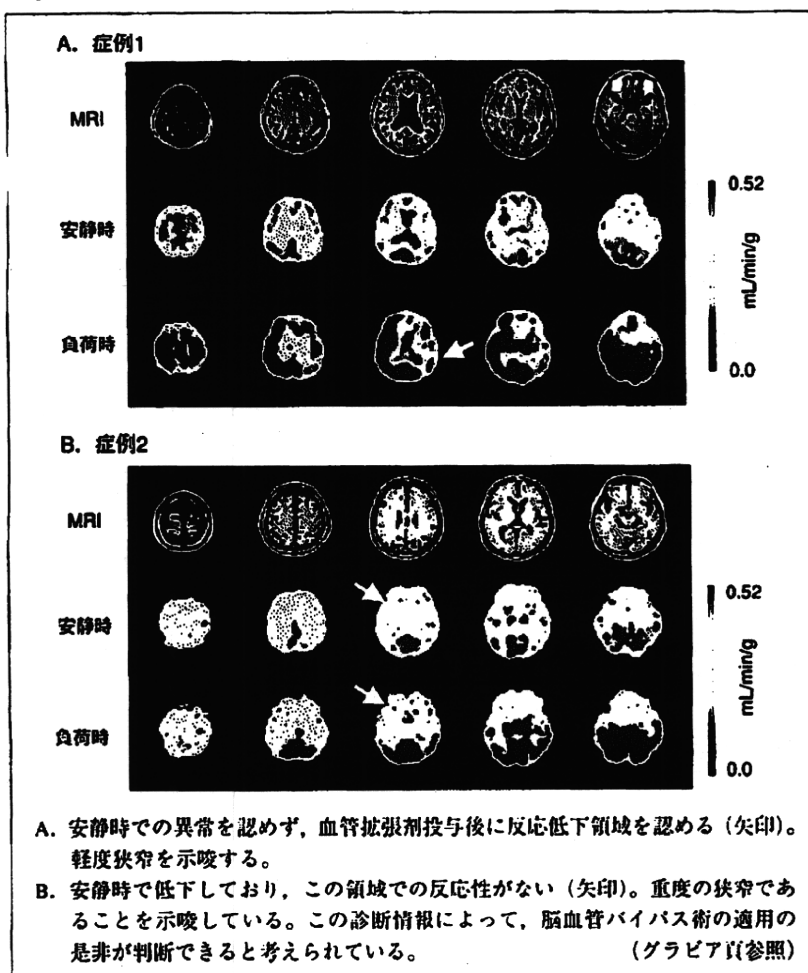
生理機能を定量的に評価するには、トレーサの挙動を数理モデル化して、その挙動を解析する必要がある。SPECT製剤では、局所組織血流量、

脂肪酸代謝およびこれらの血管壁透過係数や種々の受容体結合能などの生理・生化学的パラメータが推定できる。

局所脳血流量定量では、 ^{133}Xe 、 ^{123}I -iodoamphetamine (IMP)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -bicisate (ECD) などがトレーサーとして使用される。なかでも、 ^{123}I -IMPを用いたARG法¹⁰⁾(IMPARG法)は脳からの緩やかな洗い出しをよく補正し、広い血流領域で定量が可能である⁶⁾。また、1点採血による簡便な検査が可能なることから多くの施設で利用されてきた。

脳血流や心筋血流だけでなく血管反応性は血管

図④ ^{125}I -IMPを使って得た安静時と血管拡張剤投与後の脳血流画像の例



病変の早期診断・早期治療につながる重要な指標であることから、このIMPARG法を利用した、1回の検査で安静時と血管拡張剤投与後の局所血流量および血管反応性を定量評価するDual Table ARG法が開発された⁷⁾。当研究グループが開発したQSPECTは、上記の定量的画像再構成法とDual Table ARG法を組み合わせたソフトウェアであり、施設や装置に依存しない絶対定量値が得られるため、施設を超えた多施設での新規治療法の臨床評価法として期待されている。図④は実施例である。

おわりに

本稿で紹介したSPECT技術は小動物イメージングにも同様に利用できる。実験小動物から臨床まで統一的な核医学手法によって、血流などの生理的機能から種々の受容体、遺伝子発現、ペプチド・タンパクなどの疾患関連物質の体内動態までを観察できる分子イメージングの創薬・再生医療への貢献は、今後さらに高まることが期待される。

用語解説

1. ARG法：autoradiography法の略称。1回のSPECT撮影と1回の動脈採血によって局所脳血流量を求める

方法。

参考文献

- 1) Zeniya T, Watabe, et al : Eur J Nucl Med Mol Imaging 31, 1166-1172, 2004.
- 2) 横井孝司：日放線技会誌 57, 523-529, 2001.
- 3) 森 一晃：新医療 3月号, 76-78, 2006.
- 4) Fukuchi K, Sago M, et al : J Nucl Med 41, 919-925,

2000.

- 5) Iida H, Narita Y, et al : J Nucl Med 39, 181-189, 1998.
- 6) Iida H, Itoh H, et al : J Nucl Med 35, 2019-2030, 1994.
- 7) Kim KM, Watabe H, et al : Neuroimage 33, 1126-1135, 2006.

参考文献

- *放射線技術学シリーズ核医学検査技術学，日本放射線技術学会 監，大西英雄，松本政典 他，オーム社，2002.
- *放射線医療技術学叢書(19) SPECT画像技術の基礎，日本放射線技術学会核医学分科会 編，日本放射線技術学会，2001.
- *最新臨床核医学(改訂第3版)，久田欣一 監，利波紀久，久保敦司 編，金原出版，1999.

銭谷 勉

- 1991年 山形大学工学部情報工学科卒業
- 1993年 山形大学大学院工学研究科情報工学専攻修士課程修了
- 株式会社日立メディコ(～1999年)
- 2001年 日本学術振興会特別研究員(～2002年)
- 2002年 山形大学大学院理工学研究科システム情報工学専攻博士後期課程修了
- 国立循環器病センター研究所放射線医学部(医薬品機構派遣研究員)
- 2006年 国立循環器病センター研究所先進工学センター放射線医学部特任研究員

- ・放射線利用技術データベース
<http://www.rada.or.jp/database/home4/normal/html-docs/index.html>

映像情報
Medical
A monthly Journal of Medical Imaging and Information

別刷

産業開発機構株式会社

高解像度定量ピンホールSPECTイメージング —小動物から臨床へ—

奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科*1 / 国立循環器病センター研究所 先進医工学センター
放射線医学部*2 / 筑波大学大学院 システム情報工学研究科*3

銭谷 勉*1,2 / 渡部浩司*2 / 工藤博幸*3 / 飯田秀博*2

はじめに

創薬や新規治療法の評価を目的とした前臨床研究において、ラットやマウスなどの小動物モデルを利用した *in vivo* イメージングは必要不可欠である。さらに近年の分子イメージング分野の発展に伴い、小動物専用イメージング装置がさかんに開発、製品化されている。その中でもPET (Positron Emission Tomography) やSPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) といった放射性同位元素を用いる核医学的検査手法は高い感度を有し、トレーサの集積に対して正確に比例した信号強度を提示するため、病態生理や病態生化学的な変化を定量的に評価することができることから、重要な役割を担っている。

臨床用SPECT装置の解像度は10mm程度であり、小動物の撮像には不十分である。ピンホールコリメータを利用すると小視野領域の像が拡大され、1mm以下の高解像度で小動物のイメージングが可能となる¹。このため、現在実用化されている小動物用SPECT装置は、ほとんどピンホールコリメータを採用している²。ピンホールコリメータで撮像した場合、体軸方向の画像歪とデータ欠損(トランケーション)という2つの定量性を劣化させる問題がある。われわれはこれらの問題に対して、2軸収集法およびトランケーションを許す撮像・画像再構成法を開発した。

本稿では、ピンホールSPECTによる高解像度イメージング技術を簡単に述べた上で、ピンホールSPECTにおいて定量画像を得るためにわれわれが開発した、画像歪とトランケーションの問題を改善するための撮像・画像再構成技術を概説する。また、これらの技術を応用した小動物SPECT装置についても述べたいと思う。

最近われわれは、ピンホールSPECTのヒトのような大きな被写体を対象とする局所高解像度定量イメージングへの利用を考えている。このためのトランケーションを許す画像再構成法に関しても、最後に述べる。

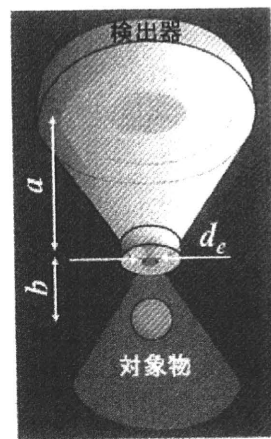
ピンホールコリメータによる 高解像度SPECT

SPECT装置は、原理的に放射性同位元素から放出されるガンマ線の飛来方向を特定するためのコリメータを必要とする。臨床用のSPECT装置では、一般的にパラレルホールコリメータが用いられており、解像度は10mm程度である。小動物イメージングでは対象臓器も小さいため、それに伴って高解像度が要求される。ピンホールコリメータは撮像対象がコリメータに近いほど像をより拡大できるため、空間解像度および感度を高くできる(図1)。1mm以下の解像度も比較的容易に実現できるため、小動物のイメージングに適している。

ピンホールSPECTにおける画像歪の改善

ピンホールコリメータを用いたSPECT装置では、原理上3次元のデータ収集を行っているが、コーンビーム型CTの3次元画像再構成法が必要となる。従来のピンホールSPECTでは、単一の円軌道で投影データを収集し、解析的なFiltered Back-Projection (FBP) 法によって画像再構成していた。この画像再構成法によると、図2(上)のように再構成された画像は体軸方向に歪み、視野内の解像度が不均一となるため定量評価が困難であり、研究の域を脱しなかった。FBP法に代えてOSEM (Ordered Subsets Expectation Maximization) などの統計学に基づいた逐次近似画像再構成法を適用することで、画像の中央付近では歪みが大幅に改善された³。しかし、視野の周辺では依然として解像度の劣化は残っている。

われわれは、この原因を投影データの不完全性に起因するものと仮説を立て、Tuyが導出したコーンビームCTで、3次元画像再構成に必要な完全データを収集するための条件「被写体と交わるすべての平面が焦点(ピンホール)軌道と交わる」⁴を満たすように撮像軌道を図2(下)のような複数回転軸軌道とし、



幾何学的解像度 (R_g)

$$R_g = (a+b) \frac{d_e}{a}$$

d_e : 実効的なピンホール径

システム解像度 (R_s)

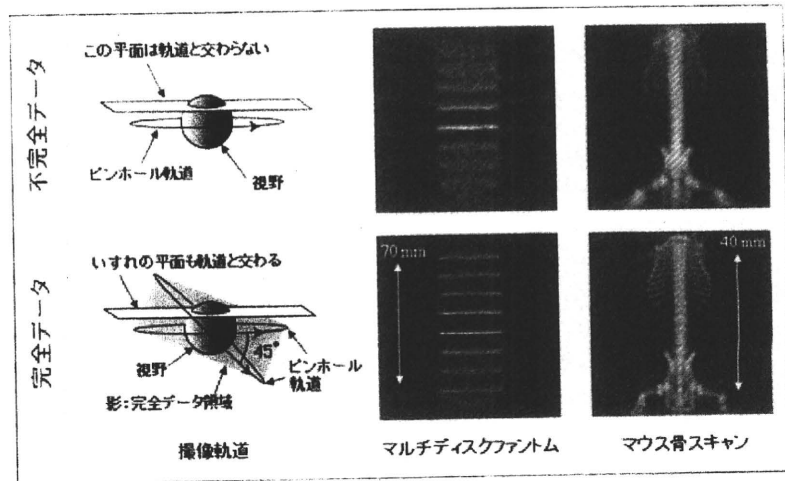
$$R_s = \sqrt{R_g^2 + \frac{b}{a} R_i^2}$$

R_i : 検出器固有解像度

解像度 $\propto d_e \times (a+b)/a$
 感度 $\propto d_e^2/b^2$

図1 ピンホールSPECTによる拡大撮像
撮像対象をコリメータに近づけるほど解像度や感度が改善される。

図2 従来の単一円軌道からの不完全データ(上)と開発した2軸収集軌道からの完全データ(下)による再構成画像の比較
マルチディスクファントム実験とマウス骨スキャン。従来法では画像中央断面以外は大きく歪み、完全データから再構成した画像では歪がなく、視野全体で均一な解像度が得られている。0.5mmの肋骨も鮮明に描出されている。



これに対応した3次元OSEM画像再構成法を開発した⁴⁾。これによって、歪みのない視野全体で均一な解像度を有する3次元画像を得ることに成功した。その結果、ピンホールSPECTにおいても定量評価が可能になった。同様の試みとして、Metzlerらはヘリカル軌道によって完全データ収集し、画像歪を改善することを示した⁶⁾。また、Beekmanらは多数のピンホールで被写体を囲むことで、検出器を静止した状態で近似的な完全データを取得している⁷⁾。

トランケーションを許す画像再構成法

ピンホールコリメータは、撮像対象がコリメータ

に近いほど感度および解像度を高くできるのが特長であるが、極端に近づけるとトランケーションが生じる。その結果、再構成画像の視野の周辺で極端にカウントが高くなるアーチファクトが生じ、画像全域でもカウントが過大評価されるので、定量評価の妨げとなる。

小動物を撮像する場合は、通常、被写体が視野からはずれないように、被写体からコリメータをある程度遠ざけて撮像する。ただし、これは解像度と感度について妥協することになる。われわれは、Defriseらが2次元X線CTを対象として提案したトランケーションを許す画像再構成理論⁸⁾を基に、これをピンホールSPECTに拡張した3次元画像再構成法TC-

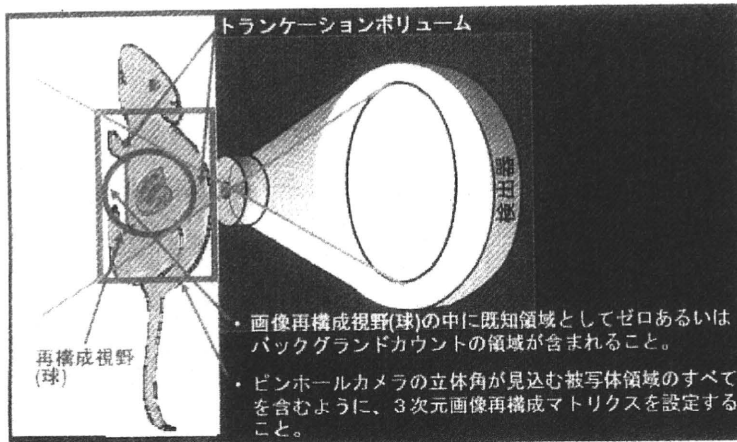


図3 ピンホールSPECTの3次元画像再構成において、トランケーションがあっても視野内は正確な画像を得るための再構成条件

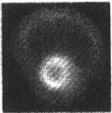

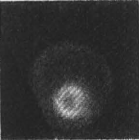
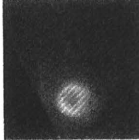
トランケーション	小	大	Counts/ min/ voxel
従来法	5.2 	5.6 	
TC-3DOSEM	4.7 	4.7 	

図4 TC-3DOSEMと従来法によって再構成されたラット心筋画像と心筋カウント

数値は心筋上のROIの平均カウント。実験データからトランケーション量の異なるデータを生成した。TC-3DOSEMではアーチファクトおよび過大評価が抑制され、またトランケーション量に依存しない定量画像が得られる。

3DOSEM (Truncation Compensated 3DOSEM) を開発した⁹⁾。本画像再構成理論では、図3に示すように、①画像再構成視野(球)の中に既知領域として被写体の外側のゼロあるいはバックグラウンドカウントのボリュームが含まれること、および②ピンホールカメラの立体角が見込む被写体領域をすべて含むように3次元画像再構成マトリクスを設定すること、この2つの条件下において、OSEMなどの逐次近似画像再構成法によって視野内は正確な値に収束する。本手法によって、トランケーションがあっても視野内においては定量性が確保される(図4)。

小動物用SPECT装置

われわれは、ラットの心筋血流量定量などを目的とした、小型で可搬性のある小動物専用SPECT装置を開発した。装置を小型化するために導入した小型高解像度検出器は、シンチレータが臨床用SPECT装置で使用されているような平板のNaIに代えて1.5mmピッチのピクセル型NaIを使用し、光電子増倍管(Photomultiplier Tube; PMT)も、従来の3インチの大型PMTによる配列に代えて5cmのフラット位置感応型PMTで構成されている。小型高解像度検出器とピンホールコリメータの拡大撮像技術を組み合わせ¹⁰⁾、コ

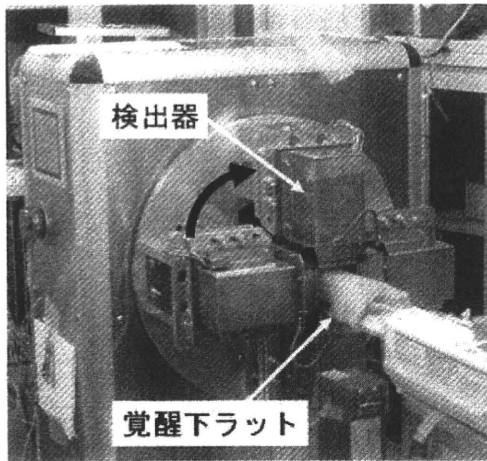


図5 われわれの開発した小動物専用マイクロSPECT装置

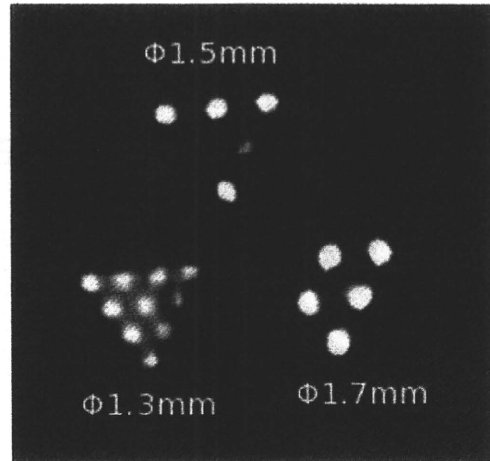


図6 マルチラインソースファントム画像
1.3mm径のラインソースが識別できている。

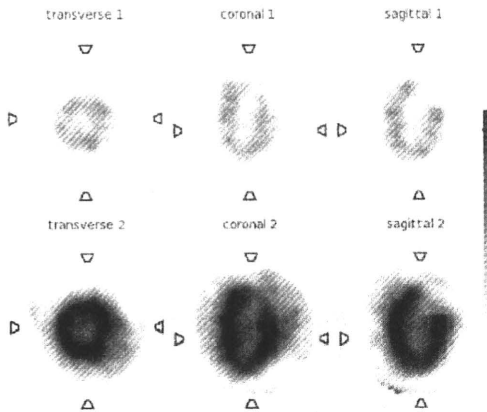


図7 本マイクロSPECT装置で得られた²⁰¹Tlによるラット心筋SPECT画像の1例
上：安静時、下：負荷時。安静時に対して、負荷時で血流が上昇しているのがわかる。

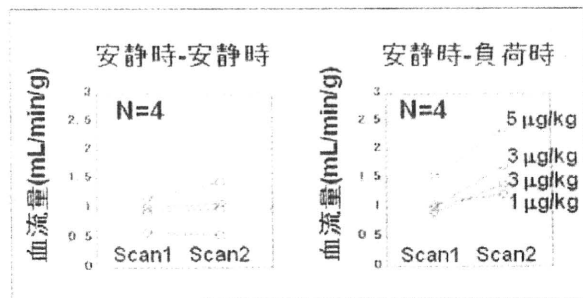


図8 本マイクロSPECT装置で得られた健常ラットの心筋血流量および血管反応性

コンパクトな小動物専用高解像度SPECT装置を開発した(図5)。ピンホールコリメータの欠点でもある低感度を補うことと高感度化のため、被写体の周囲に4台の検出器が90°間隔で配列されている。また、小動物ベッドが水平方向に回転可能となっており、異なる回転軸による撮像軌道で完全データ収集が可能である。

マルチラインソースファントム実験では、1.3mm径のラインが識別可能であった(図6)。また、本装置を用いて、覚醒下で健常ラットの心筋血流量および

血管反応性を評価した。²⁰¹Tlを2回投与して、安静時と安静時、および安静時と血管拡張剤による負荷時の血流量を測定した。図7は本実験で得られたラット心筋SPECT画像であるが、非常に鮮明である。一連の時系列画像を動態解析して血流値が計算され、安静時と安静時では血流値に変化はなく、安静時と負荷時では血管拡張剤の量に依存して血流上昇が確認できた。本装置および画像再構成法によって得られた画像から、ラット心筋血流量定量が可能であることが示された(図8)。





ファントムビットマップ	臨床SPECT (パラレルコリメータ+2D FBP)	ピンホールSPECT、 再構成マトリクス:小 (従来法)	ピンホールSPECT、 再構成マトリクス:大 (TC-3DOSEM)
			
ピンホール視野			
解像度	低	高	高(2mm FWHM理論値)
定量性	良	過大評価	良

図9 脳ファントムの再構成画像

臨床SPECTでは低解像度で詳細構造は見えない。ピンホールSPECTの局所高解像度撮像では、TC-3DOSEMによる再構成画像にて、従来法で存在していたアーチファクトや過大評価がなく、詳細構造が明瞭に描出されている。

ピンホールSPECTによる ヒト局所高解像度撮像

従来、ピンホールSPECTのような小視野検出器でヒトのように大きな被写体を撮像した場合、トランケーションは避けられず、それによるアーチファクトや過大評価により、定量評価は困難であった。トランケーションを許す画像再構成法を利用することで、小動物SPECTで確立したピンホールSPECTによる高解像度撮像技術が、ヒトのように大きな被写体であっても利用でき、局所小領域を拡大した高解像度定量SPECTイメージングが、トランケーションの影響なく可能となる。

ピンホールSPECTによるヒト脳局所高解像度定量撮像の可能性を評価するための物理ファントム実験を行った。ピンホールコリメータを取りつけた臨床用SPECTカメラを固定し、Hoffmanの脳ファントムを回転ステージ上で180°回転させて視野内にファントム外側の領域が含まれるように投影データを収集した。再構成マトリクスが小さい従来法と再構成マトリクスを大きくしたTC-3DOSEMで画像再構成した。また、一般の臨床用SPECTと解像度を比較する

ため、同じファントムをパラレルホールコリメータでデータ収集し、2D FBP法で画像再構成した。図9に示すように、臨床SPECTでは低解像度で詳細構造は見えなかった。また、ピンホールSPECTデータを従来法で再構成した場合はアーチファクトが見られ、視野全域でカウントが過大評価されていた。一方、ピンホールSPECTデータをTC-3DOSEMで再構成した場合、アーチファクトも過大評価もなく、高解像度で詳細構造が確認できた。

本撮像技術によって、微小腫瘍検出、血管ブランクイメージング、てんかん焦点同定、部分容積効果のない血流量測定などが可能になると考えられる。実際に、われわれは図10のような局所高解像度定量SPECT装置を開発中で、脳全域画像と局所高解像度画像を提供する。

おわりに

従来、研究の域を脱しなかったピンホールSPECTは、新しい撮像技術や画像再構成法の開発によって、高解像度かつ定量評価可能な小動物用SPECTとして実用化の域に達した。また、トランケーションを許

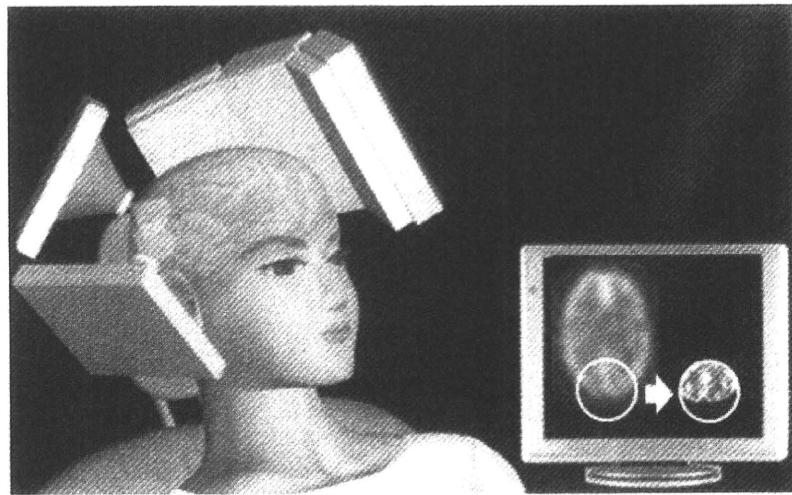


図10 頭部局所高解像度SPECT装置のイメージ図

す画像再構成法によって、ピンホールSPECTを利用したヒトの局所高解像度定量SPECTが開発されようとしている。これまで、解像度が低いといわれてき

たSPECT撮像において、新しい撮像技術や画像再構成法などの開発によって高解像度定量撮像が可能になりつつある。

参考文献

- 1) Meikle SR et al: Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies. *Phys Med Biol* 50(22): R45-61, 2005
- 2) 間賀田泰寛: 各社製品の性能比較. *PET journal* (2): 27-29, 2008
- 3) Vanhove C et al: Interest of the ordered subsets expectation maximization (OS-EM) algorithm in pinhole single-photon emission tomography reconstruction: a phantom study. *Eur J Nucl Med* 27(2): 140-146, 2000
- 4) Tuy HK: An inversion formula for cone-beam reconstruction. *SIAM J Appl Math* 43(3): 546-552, 1982
- 5) Zeniya T et al: A new reconstruction strategy for image improvement in pinhole SPECT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 31(8): 1166-1172, 2004
- 6) Metzler SD et al: Helical pinhole SPECT for small-animal imaging: a method for addressing sampling completeness. *IEEE Trans Nucl Sci* 50(5): 1575-1583, 2003
- 7) Beekman FJ et al: U-SPECT-I: a novel system for submillimeter-resolution tomography with radiolabelled molecules in mice. *J Nucl Med* 46(7): 1194-1200, 2005
- 8) Defrise M et al: Truncated Hilbert transform and image reconstruction from limited tomographic data. *Inverse Probl* 22(3): 1037-1053, 2006
- 9) Zeniya T et al: 3D-OSEM reconstruction from truncated data in pinhole SPECT. *Nuclear Science Symposium Conference Record*. 2007. NSS'07. IEEE. 4205-4207
- 10) Zeniya T et al: Use of a compact pixellated gamma camera for small animal pinhole SPECT imaging. *Ann Nucl Med* 20(6): 409-416, 2006

Antiproteinuric Effect of Cilnidipine in Hypertensive Japanese Treated with Renin-Angiotensin-System Inhibitors - A Multicenter, Open, Randomized Trial Using 24-Hour Urine Collection

Yoshikazu Miwa,¹ Takuya Tsuchihashi,² Yuko Ohta,² Mitsuhiro Tominaga,³ Yuhei Kawano,⁴ Toshiyuki Sasaguri,⁵ Michio Ueno,⁶ Hiroaki Matsuoka⁷

¹Department of Internal Medicine, Sasaguri Hospital, Fukuoka, Japan, ²Division of Hypertension, Clinical Research Institute, National Kyushu Medical Center, Fukuoka, Japan, ³Department of Internal Medicine, Kyushu Central Hospital of the Mutual Aid Association of Public School Teachers, Fukuoka, Japan, ⁴Division of Hypertension and Nephrology, Internal Medicine, National Cardiovascular Center, Osaka, Japan, ⁵Department of Clinical Pharmacology, Kyushu University, Fukuoka, Japan, ⁶Department of Internal Medicine, National Fukuoka-Higashi Medical Center, Fukuoka, Japan, ⁷Department of Hypertension and Cardioresenal Medicine, Dokkyo Medical University, Tochigi, Japan

Abstract

Sustained proteinuria is an important risk factor for not only renal but also cardiovascular morbidity and mortality. Although inhibitors of the renin-angiotensin system (RAS) have been shown to reduce proteinuria. Monotherapy with those drugs is often insufficient for optimal blood pressure (BP)-lowering and therefore, combined therapy is needed. Recent reports suggested that cilnidipine, a dual L-/N-type calcium channel blocker, has renoprotective effect by dilating both efferent and afferent arterioles. In this study, a multicenter, open, randomized trial was designed to compare the antiproteinuric effect between cilnidipine and amlodipine when coupled with RAS inhibitors in hypertensive patients with significant proteinuria. Proteinuria was evaluated by 24-h home urine collection for all patients. A total of 35 proteinuric (>0.1 g/day) patients with uncontrolled BP (>135/85 mmHg) were randomized to receive either cilnidipine (n = 18) or amlodipine (n = 17) after a 6-month treatment with RAS inhibitors and were followed for 48 weeks. At baseline, the cilnidipine group was older and had lower body mass index (BMI) compared to the amlodipine group. After 32 weeks of treatment, diastolic blood pressure (DBP) was slightly, but significantly reduced, in the cilnidipine group, although systolic blood pressure (SBP) and mean BP did not differ. The urinary protein did not differ at baseline (cilnidipine group 0.48 g/day, amlodipine group 0.52 g/day); however, it significantly decreased in the cilnidipine group (0.22 g/day) compared to the amlodipine group (0.50 g/day) after 48 weeks of treatment. Our findings suggest that cilnidipine is superior to amlodipine in preventing the progression of proteinuria in hypertensive patients even undergoing treatment with RAS inhibitors.

Keywords: proteinuria, cilnidipine, hypertension, renin-angiotensin system (RAS) inhibitor, randomized trial

INTRODUCTION

The presence of proteinuria is a well-established marker for renal dysfunction and furthermore, recent studies have demonstrated that proteinuria is an independent risk factor for cardiovascular disease (CVD) in patients with hypertension or diabetes (1–4). Therefore, the strict control of urinary protein is important to suppress not only the progression of renal dysfunction but also that of CVD.

Accumulating evidence has revealed that the renin-angiotensin system (RAS) plays an important role in the progression of the renal dysfunction (5). A number of clinical trials showed the renoprotective effect of

RAS inhibitors such as angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin II receptor blockers (ARB) in patients with renal insufficiency (6–8), and therefore, RAS inhibitors are assumed to be a first-line agent to the hypertensive patients with renal dysfunction. However, to control both hypertension and proteinuria, monotherapy using RAS inhibitors is generally insufficient. Most cases need the combined therapy and indeed, the combined therapy is recommended in the guidelines (9–11).

Calcium channel blockers (CCBs), the most commonly used anti-hypertensive agents in Japan, have a stable and powerful blood pressure (BP)-lowering

Address correspondence to Yoshikazu Miwa, MD, PhD, Department of Internal Medicine, Sasaguri Hospital, 94 Onaka, Sasaguri-Machi, Kasuya-Gun, Fukuoka, 811-2413, Japan. E-mail: nctmf039@yahoo.co.jp

Received 13 January 2009; revised 8 September 2009; 6 October 2009.

effect and are often used in combination with RAS inhibitors for the treatment of hypertension. Although the effect of CCBs on proteinuria is controversial, recent studies have reported the renoprotective effects of some kinds of CCBs. Cilnidipine, a dihydropyridine CCB, represents slow-onset, long-lasting BP-lowering effects by inhibiting L-type calcium channels as well as other conventional CCBs, and furthermore, has been reported to inhibit N-type calcium channels, which are densely distributed in the sympathetic nervous system (12). In the kidney, sympathetic nerves are distributed to both afferent and efferent arterioles in the glomeruli and contribute to the regulation of renal blood flow and the glomerular filtration rate (13, 14). The sympathetic nerve activity is increased in chronic renal insufficiency and thus, several researchers have tested the effect of cilnidipine on renal injury in animal models and have reported its benefit (15, 16).

Based on these clinical observations, several studies have reported the beneficial effect of cilnidipine on proteinuria (17–19). We also previously reported that switching conventional CCBs to cilnidipine decreased urinary protein excretion in the hypertensive patients with proteinuria (20). However, the additional renoprotective effect of cilnidipine to RAS inhibitors has not been fully investigated. In the present study, we compared the antiproteinuric effects between cilnidipine and amlodipine, a most commonly used CCB, when co-treated with RAS inhibitors in hypertensive patients with significant proteinuria.

METHODS

Participants

Participants were hypertensive patients who visited the outpatient clinic of the National Kyushu Medical Center, Kyushu Central Hospital, and National Cardiovascular Center. Each patient underwent 24-h home urine collection using a partition cup (proportional sampling method) (21) that collects a 1/50 por-

tion of 24-h urine. Inclusion criteria of this study were: taking RAS inhibitors for more than 6 months; in-office BP levels more than 135 mmHg systolic and 85 mmHg diastolic during the observation period; and presence of proteinuria greater than 0.1 g/day. Exclusion criteria were malignant hypertension, severe heart failure (\geq NYHA grade III), within 6 months following cardiovascular events, severe diabetes (HbA1c \geq 8.0%), possibility of pregnancy, and history of adverse effects when using CCBs.

Study Protocol

Between April 2003 and December 2005, 41 patients met the criteria and enrolled in this study (Figure 1). The patients were randomly assigned to receive cilnidipine (21 patients) or amlodipine (20 patients) using a computer-generated schedule. The randomization was stratified according to sex, causal disease (essential or renal), and serum creatinine level. Renal hypertension was defined as having granular casts in the urine. Since other causes of secondary hypertension were clinically ruled out, other patients were diagnosed as essential hypertension. If the patients were already treated with other CCBs, they were switched to cilnidipine or amlodipine. The patients who were taking other types of anti-hypertensive drugs continued to take them without changing the doses. Blood pressure was measured in the sitting position every month in each hospital throughout the study period. During the study, three patients in the cilnidipine group and three patients in the amlodipine group dropped out. The main reason of the withdrawal was unsuccessful urine collection and no adverse effect was observed in both groups. Thus, 17 patients in the cilnidipine group and 18 patients in the amlodipine group completed the protocol and were used for the analysis. The doses of cilnidipine or amlodipine ranged from 5 to 15 mg/day (mean 8.6 mg) and 2.5 to 5 mg/day (mean 4.6 mg), respectively.

This study protocol was approved by the ethical review committee of each hospital or institute. The

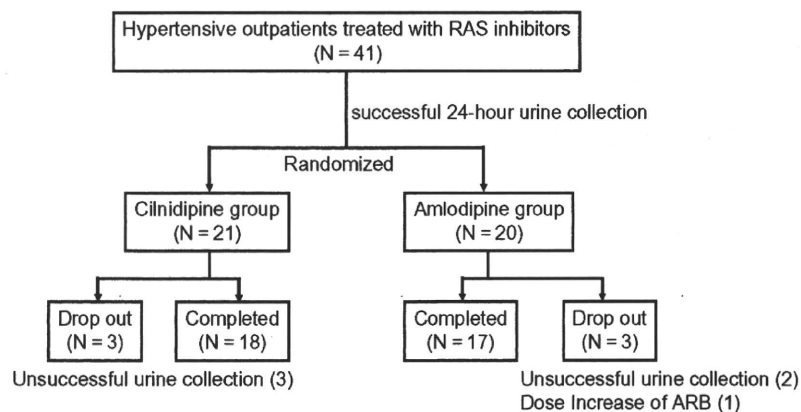


Figure 1. Profile of the trial.

detail procedure of the study was well explained and the written informed consent was obtained from all participants.

Statistical Analysis

Values are expressed as the mean \pm SE. The student's paired *t*-test was used to analyze the changes of variables from the baseline. Differences in variables between the groups were analyzed by ANOVA. The Mann-Whitney U test was also used to compare the changes in the variables during the study period between the cilnidipine and amlodipine groups. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. All analyses were performed using JMP6.0J software (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA)

RESULTS

Baseline characteristics of each group are shown in Table 1. Three of 18 patients in the cilnidipine group and 3 of 17 patients in the amlodipine group were diagnosed as renal hypertensive. Patients treated with cilnidipine were significantly older and had lower BMI than those treated with amlodipine. There were no significant differences in other parameters including BP, heart rate, serum creatinine, serum lipid levels, and urinary protein excretion. Baseline RAS inhibitors and preceding CCBs are shown in Table 2. The cilnidipine group showed a relatively higher usage of ACE inhibitors such as imidapril, enalapril, and alacepril; however, they did not show large differences. Preceding CCBs also did not show significant differences between groups.

Figure 2 shows the changes in BP during the 48 months of the follow-up periods. Systolic and mean BP did not change in either the cilnidipine or amlodipine group, while DBP showed a small, but significant decrease, at 40 weeks and 48 weeks after treatment compared to baseline (0 week) in the cilnidipine group.

Table 1. Characteristics of the subjects

	Cilnidipine group	Amlodipine group	<i>P</i>
Number	18	17	
Age (years old)	66.8 \pm 2.1	57.9 \pm 2.4	0.008
Sex (men/women)	9/9	9/8	NS
Hypertensive	15	14	NS
Chronic nephritis	3	3	NS
Systolic BP (mmHg)	140.9 \pm 3.0	135.6 \pm 2.4	NS
Diastolic BP (mmHg)	75.9 \pm 2.0	75.9 \pm 2.7	NS
Heart rate (beat/min)	71.1 \pm 1.4	72.7 \pm 1.7	NS
Body mass index (kg/m ²)	24.7 \pm 0.7	27.0 \pm 0.7	0.037
Serum creatinine (mg/dL)	0.82 \pm 0.10	0.91 \pm 0.08	NS
BUN (mg/dL)	14.7 \pm 1.1	16.8 \pm 1.3	NS
Total cholesterol (mg/dL)	188.1 \pm 7.7	205.0 \pm 5.9	NS
HDL cholesterol (mg/dL)	51.5 \pm 3.2	52.7 \pm 2.5	NS
Urinary protein (g/day)	0.46 \pm 0.14	0.52 \pm 0.11	NS

Data are means \pm SE.

Abbreviations: BP - blood pressure; BUN - blood urea nitrogen; HDL - high-density lipoprotein.

Table 2. Baseline RAS inhibitors and preceding CCBs

Drugs	Cilnidipine group	Amlodipine group
Baseline RAS inhibitors		
Losartan (25–100 mg/day)	10	7
Candesartan (4–12 mg/day)	2	5
Valsartan (40–120 mg/day)	1	4
Imidapril (5 mg/day)	2	0
Enalapril (5 mg/day)	1	0
Alacepril (25 mg/day)	1	1
Losartan (75 mg/day) & Imidapril (2.5 mg/day)	1	0
Preceding CCBs		
Amlodipine (2.5–5 mg/day)	6	6
Nilvadipine (8 mg/day)	3	2
Nifedipine CR (20–40 mg)	3	2
Nifedipine L (20 mg)	1	0
Benidipine (4–8 mg)	1	1
Nitrendipine (10 mg)	1	0
Diltiazem (100 mg/day)	1	0
Efonidipine (40 mg/day)	0	1
Azelnidipine (16 mg/day)	1	1
Cilnidipine (5–10 mg)	1	3

Abbreviations: RAS - renin-angiotensin system; CCBs - calcium channel blockers.

At 32, 40, 44, and 48 weeks after treatment, DBP was significantly lower in the cilnidipine group than in the amlodipine group (at 48 weeks: cilnidipine group 137.9/70.6 mmHg, amlodipine group 131.9/77.6 mmHg). As for the heart rate, a significant change was not observed after treatment and there were no significant differences in each period between groups (data not shown).

Changes in serum creatinine levels are shown in Figure 3. Serum creatinine levels did not show significant differences during the study period in both the cilnidipine group and the amlodipine group. No significant differences were observed between groups in each period. Although urinary protein excretion did not show differences between groups at baseline, it tended to decrease in the cilnidipine group at 24 weeks after treatment (Figure 4). Furthermore, 48 weeks after treatment, urinary protein excretion was lower in the cilnidipine group (0.22 \pm 0.05 g/day) compared to the amlodipine group (0.50 \pm 0.13 g/day).

DISCUSSION

In the present study, we showed a superior antiproteinuric effect of cilnidipine to amlodipine in hypertensive patients treated with RAS inhibitors by multicenter, open, randomized trial. Although several previous studies have reported similar results (18, 19), we firstly confirm the suppressive effect of cilnidipine on proteinuria using 24-h urine collection. Our results support the recent suggestion that cilnidipine, rather than conventional L-type CCBs, should be recommended as a second agent in hypertensive patients with significant proteinuria who are already treated with RAS inhibitors (19).

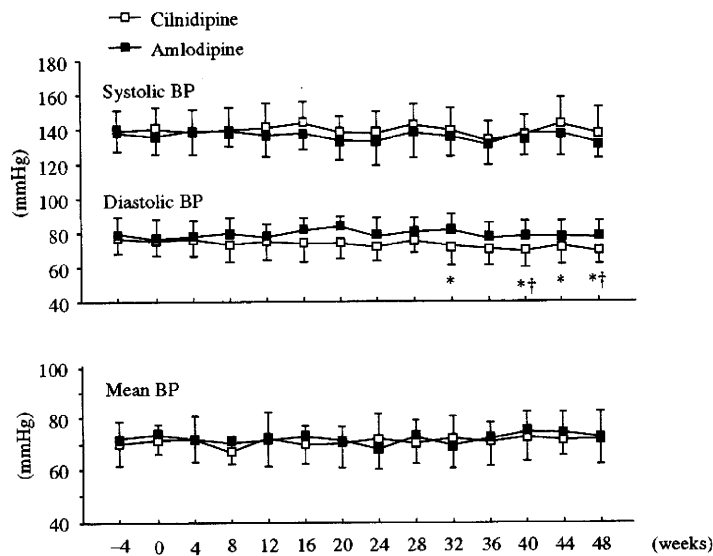


Figure 2. Changes in BP. Systolic BP and mean BP were almost the same in cilnidipine (open square) and the amlodipine (closed square) group. Diastolic BP was slightly decreased at 40 and 48 weeks compared to baseline (0 week) in the cilnidipine group and was significantly decreased at 32, 40, 44, and 48 weeks compared to the amlodipine group. Results are mean \pm SE. * P < 0.05 vs. amlodipine group. † P < 0.05 vs. 0 week.

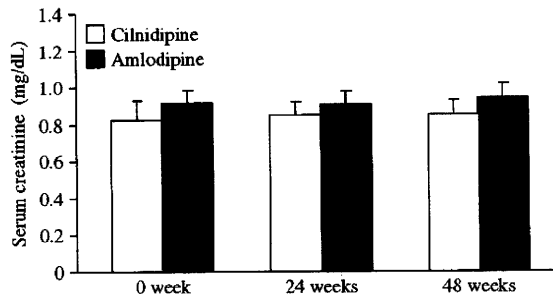


Figure 3. Changes in serum creatinine level. The serum creatinine level did not show significant differences during the study period in both the cilnidipine group (open bar) and the amlodipine group (closed bar). No significant difference was observed between groups.

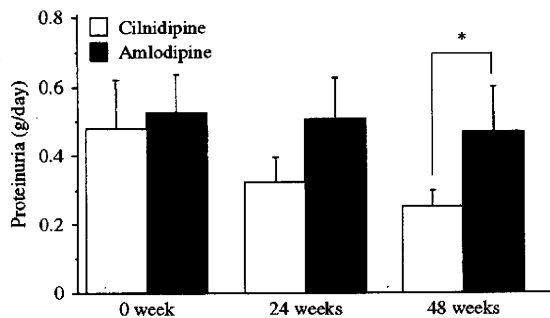


Figure 4. Changes in urinary protein. Urinary protein (g/day) was suppressed in the cilnidipine group (open bar) compared to the amlodipine group (closed bar) at 48 weeks after treatment. * P < 0.05.

Since the strict BP control significantly reduced proteinuria (22), it is clear that systemic BP influenced urinary protein excretion. In this study, most patients in both groups were pretreated with other CCBs and switched to cilnidipine or amlodipine, which has almost the same anti-hypertensive effects, resulting in the maintenance of similar BP levels during the study. However, cilnidipine elicited a small but significant decrease in DBP compared to amlodipine though systolic and mean BP showed no significant difference. In general, DBP is hard to reduce in young hypertensive patients compared to older patients. Age differences between groups may influence the difference in DBP. In addition, we are unable to exclude the possibility that the differences in BP level contributes to our result. However, proteinuria tended to decrease at 24 weeks after treatment when the BP level did not show a significant difference. Thus, the effect of cilnidipine seems to be attributable to its pharmacologic properties independent of BP-lowering effects.

A similar superior antiproteinuric effect of cilnidipine to amlodipine in Japanese has recently been reported by Fujita et al. (19). Although they evaluated proteinuria as urinary protein/Cr ratio, the study design was quite similar to ours. However, in their study, the participants had relatively severe renal damage and included many patients with diabetic nephropathy (39%) and primary renal disease (36%). Indeed, the values of urinary protein/Cr ratio were >1500 mg/g in more than half of the participants. Furthermore, in patients with hypertensive nephrosclerosis, antiproteinuric effect was relatively small and no difference was observed between cilnidipine and amlodipine. Conversely, in our

study, cilnidipine showed superiority against amlodipine though the etiology of most participants was essential hypertension and they had relatively small proteinuria. Our results indicate that cilnidipine is able to suppress proteinuria in patients with essential hypertension.

The characteristic renoprotective effect of cilnidipine seems to be related to its pharmacologic property to inhibit neuronal N-type calcium channels (23–25). It has been shown that most of conventional L-type CCBs preferentially dilate afferent glomerular arterioles by blocking the L-type, voltage-gated calcium channels that predominantly distribute in afferent arterioles (26). On the other hand, cilnidipine inhibits not only L-type but also N-type calcium channels, which are distributed to both afferent and efferent arterioles in the glomeruli (13, 14) and thus, cilnidipine is considered to dilate afferent and efferent arterioles. Actually, these effects of cilnidipine have confirmed in animal models, such as spontaneously hypertensive rats with hydro-nephrosis (27) and spontaneously hypertensive rat model of nephrosclerosis (15). Thus, the improvement of renal hemodynamics may assuredly account for the reduction of proteinuria in our study.

Previous studies suggest the other possible renoprotective effects of cilnidipine. In cultured rat mesangial cells, cilnidipine suppresses mesangial cell proliferation and the progression of extracellular matrix production (28). Cilnidipine has been shown to inhibit glomerular apoptosis and cellular proliferation in the nephrosclerosis model of spontaneously hypertensive rats (15). Although these nonhemodynamic actions may not be specific to cilnidipine, these actions may contribute to the renoprotective effects of cilnidipine. To elucidate the mechanism of antiproteinuric action of cilnidipine, further studies are required.

The renoprotective effect of RAS inhibitors has been supported by a number of clinical trials. A recent meta-analysis (29) indicated that the combination therapy of ACE inhibitor and ARB reduces proteinuria to a greater extent than either drug alone. However, this combined therapy might also lead excessive RAS inhibition resulting in the more frequent adverse events including acute renal failure and hyperkalemia. A recent study (30) reported that the combination therapy of ACE inhibitor ramipril and ARB telmisartan significantly reduces proteinuria compared to monotherapy, but it worsens major renal outcome such as dialysis, doubling of serum creatinine, and death. Which combination therapy is better in protecting kidney—ACE inhibitor and ARB, or RAS inhibitor and renoprotective CCB such as cilnidipine—should be examined in the future.

Small sample size and the varying characteristics at baseline between groups were important limitations in this study. However, patients in the cilnidipine group were older and had relatively higher SBP levels that might have led the higher possibility of progression of

renal dysfunction. These factors may diminish the beneficial effect of cilnidipine. In addition, for BP evaluation, we used in-office BP but did not utilize home BP measurement or 24-h BP monitoring. Although we previously reported that the effects of cilnidipine on the 24-h BP profile are similar to nifedipine slow release using ambulatory BP monitoring (31), we were unable to exclude the possibility that cilnidipine decreased nocturnal or morning BP rather than daytime BP, which resulted in a greater reduction in proteinuria.

Proteinuria is not only a marker of the glomerular and vascular injuries but also facilitates progression of renal dysfunction. Indeed, the reduction of proteinuria has been reported to suppress the progression of renal dysfunction independent of BP lowering (32–34). Thus, to suppress the progression of renal dysfunction and CVD, strict control of proteinuria as well as BP is very important. This open randomized study using 24-h urine collection indicates that cilnidipine reduces proteinuria in hypertensive patients even while being treated with RAS inhibitors. When a single use of RAS inhibitors is insufficient for BP lowering or proteinuria reduction, additional treatment with cilnidipine should be considered as one of the useful therapies.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ms. Kana Oie (Kyushu University) and Ms. Yuka Mihara (National Kyushu Medical Center) for their secretarial assistance.

Declaration of Interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- [1] Yudkin JS, Forrester RD, Jackson CA. Microalbuminuria as predictor of vascular disease in non-diabetic subjects. Islington Diabetes Survey. *Lancet* 1988;2:530–533.
- [2] Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D, Compese VM. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1998;16:1325–1333.
- [3] Schrader J, Luders S, Kulschewski A, et al. Microalbuminuria and tubular proteinuria as risk predictors of cardiovascular morbidity and mortality in essential hypertension: final results of a prospective long-term study (MARPLE Study). *J Hypertens* 2006;24:541–548.
- [4] Irie F, Iso H, Sairenchi T, et al. The relationships of proteinuria, serum creatinine, glomerular filtration rate with cardiovascular disease mortality in Japanese general population. *Kidney Int* 2006;69:1264–1271.
- [5] Remuzzi G, Ruggenenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997;51:2–15 (Review).
- [6] Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1993;329:1456–1462.
- [7] Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, et al. RENAAL Study Investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular

- outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:861-869.
- [8] Parving HH, Lehnert H, Bröchner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria Study Group. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*.2001; 345:870-878.
- [9] Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension; European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007;25:1105-1187.
- [10] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560-2572.
- [11] Guideline Subcommittee. Japanese society of hypertension guidelines for the management of hypertension (JSH 2004) *Hypertens Res* 2006;29(suppl):S1-S105.
- [12] Hirning LD, Fox AP, McCleskey EW, et al. Dominant role of N-type Ca²⁺ channels in evoked release of norepinephrine from sympathetic neurons. *Science* 1988;239:57-61.
- [13] Fogo AB. Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney Int Suppl* 2000;75:S15-21 (Review).
- [14] DiBona GF, Kopp UC. Neural control of renal function. *Physiol Rev* 1997;77:75-197 (Review).
- [15] Zhou X, Ono H, Ono Y, Frohlich ED. N- and L-type calcium channel antagonist improves glomerular dynamics, reverses severe nephrosclerosis, and inhibits apoptosis and proliferation in an I-NAME/SHR model. *J Hypertens* 2002;20:993-1000.
- [16] Konda T, Enomoto A, Matsushita J, Takahara A, Moriyama T. The N- and L-type calcium channel blocker cilnidipine suppresses renal injury in dahl rats fed a high-sucrose diet, an experimental model of metabolic syndrome. *Nephron Physiol* 2005;101:1-13.
- [17] Rose GW, Kanno Y, Ikebukuro H, et al. Cilnidipine is as effective as benazepril for control of blood pressure and proteinuria in hypertensive patients with benign nephrosclerosis. *Hypertens Res* 2001;24:377-383.
- [18] Kojima S, Shida M, Yokoyama H. Comparison between cilnidipine and amlodipine besilate with respect to proteinuria in hypertensive patients with renal diseases. *Hypertens Res* 2004; 27:379-385.
- [19] Fujita T, Ando K, Nishimura H, et al. Cilnidipine versus Amlodipine Randomised Trial for Evaluation in Renal Disease(CARTER) Study Investigators. Antiproteinuric effect of the calcium channel blocker cilnidipine added to renin-angiotensin inhibition in hypertensive patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 2007;72:1543-1549.
- [20] Tsuchihashi T, Ueno M, Tominaga M, et al. Anti-proteinuric effect of an N-type calcium channel blocker, cilnidipine. *Clin Exp Hypertens* 2005;27:583-591.
- [21] Tochikubo O, Uneda S, Kaneko Y. Simple portable device for sampling a whole day's urine and its application to hypertensive outpatients. *Hypertension* 1983;5:270-274.
- [22] Peterson JC, Adler S, Burkart JM, et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med* 1995;123: 754-762.
- [23] Oike M, Inoue Y, Kitamura K, Kuriyama H. Dual action of FRC8653, a novel dihydropyridine derivative, on the Ba²⁺ current recorded from the rabbit basilar artery. *Circ Res* 1990;67: 993-1006.
- [24] Fujii S, Kameyama K, Hosono M, Hayashi Y, Kitamura K. Effect of cilnidipine, a novel dihydropyridine Ca²⁺-channel antagonist, on N-type Ca²⁺ channel in rat dorsal root ganglion neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:1184-1191.
- [25] Uneyama H, Takahara A, Dohmoto H, Yoshimoto R, Inoue K, Akaie N. Blockade of N-type Ca²⁺ current by cilnidipine (FRC-8653) in acutely dissociated rat sympathetic neurones. *Br J Pharmacol* 1997;122:37-42.
- [26] Loutzenhiser R, Hayashi K, Epstein M. Divergent effects of KCl-induced depolarization on afferent and efferent arterioles. *Am J Physiol* 1989;257:F561-564.
- [27] Fujii S, Hosono M, Hayashi Y, Kimura K. Cilnidipine, a novel dihydropyridine derivative, dilates glomerular efferent arterioles by N-type Ca²⁺-channel blockade. *J Hypertens* 1998;16 (suppl 2):S182 (abstract).
- [28] Sugiyama T, Imai E, Moriyama T, Horio M, Hori M. Calcium channel blockers inhibit proliferation and matrix production in rat mesangial cells: possible mechanism of suppression of AP-1 and CREB activities. *Nephron* 2000;85:71-80.
- [29] Kunz R, Friedrich C, Wolbers M, Mann JF. Meta-analysis: effect of monotherapy and combination therapy with inhibitors of the renin angiotensin system on proteinuria in renal disease. *Ann Intern Med* 2008;148:30-48.
- [30] Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, et al. ONTARGET investigators. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 2008;372:547-553.
- [31] Minami J, Ishimitsu T, Kawano Y, Numabe A, Matsuoka H. Comparison of 24-hour blood pressure, heart rate, and autonomic nerve activity in hypertensive patients treated with cilnidipine or nifedipine retard. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:331-336.
- [32] The GISEN Group (Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia) Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet* 1997;349:1857-1863.
- [33] Sarafidis PA, Khosla N, Bakris GL. Antihypertensive therapy in the presence of proteinuria. *Am J Kidney Dis*. 2007;49:12-26 (Review).
- [34] Ruggenenti P, Perna A, Remuzzi G; GISEN Group Investigators. Retarding progression of chronic renal disease: the neglected issue of residual proteinuria. *Kidney Int* 2003;63: 2254-2261.