

腎における尿酸排泄機序

細 谷 龍 男

東京慈恵会医科大学内科学講座腎臓・高血圧内科

MECHANISM OF URATE EXCRETION BY THE KIDNEY

Tatsuo HOSOYA

*Division of Kidney and Hypertension, Department of Internal Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

Research into the mechanism of urate excretion has stretched over many years, and it has been deduced by physiological and pharmacological means that the mode of transport of urate in the renal tubules is a very complex process. It has been stated that the excretion of urate by the kidney is a 4-component process consisting of filtration, reabsorption, secretion and post-secretory reabsorption. Recent research supports the 4-component model, having shown that the mechanisms of reabsorption and secretion operate throughout the proximal tubules, and since the amounts transported in the two directions differ, the direction of the transport is determined by the difference between these amounts. However, this model was deduced from physiological and pharmacological data, and has not been proven by molecular biological methods.

Since urate is present in the body as an organic acid, its carrier was thought perhaps to belong to the family of organic anion transporters (OAT), but efforts at cloning this carrier have not succeeded.

Emoto and the author et al searched for the OAT paralogs in the published human genome sequence, and identified the gene encoding human urate transporter 1 (URAT1).

To summarize the research up to this point, in the renal excretion of urate, URAT1 governs urate reabsorption; and if UAT in fact transports urate, it is possible that UAT also secretes it. Moreover, hOAT1 and hOAT2 may be responsible for transporting some of the urate from the blood vessels into the cells of the renal tubules.

Each component of the 4-component model is now being clarified by molecular biological methods.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2006; 121: 49-54)

Key words: urate, urate transporter I, organic anion transporter, kidney, renal excretion of urate

I. はじめに

腎における尿酸の排泄機序に関し、古くより研究がなされ、尿酸の尿細管における輸送形式は非常に複雑であると生理学あるいは薬理学的に推論されていたが、分子生物学的に輸送機構が解明されたものではなかった。

ヒトの腎における尿酸輸送の研究解明を困難に

していた原因として以下に示すごとくいくつかの点が挙げられる。

- ① 尿酸がプリン塩基の最終代謝産物であるのはヒトを含む一部の霊長類や鳥類などに限られており、他の種は尿酸酸化酵素：ウリケースによりアラントインへと代謝される。
- ② 尿酸の尿細管での輸送は再吸収と分泌と両

方向性を示す。

- ③ 尿細管の部位により分泌優位の部位と再吸収優位の部位があり、部位による不均一性がある。
- ④ 尿酸の輸送には著しい種差があり、分泌優位の種と再吸収優位の種がある。

このように糖やアミノ酸などのように再吸収という一向性を示す物質に比較して尿酸輸送は複雑であり、またモデル実験動物も得にくいという理由により、ヒトにおける尿酸の輸送機構の解明を困難にしていた。

しかし2001年の榎本と筆者らの研究により Urate transporter 1 (URAT1) が発見され¹⁾、このトランスポーターが尿酸の再吸収を司り、かつこのトランスポーターの異常が腎性低尿酸血症の原因となり、血清尿酸値を決定する重要な因子であることが判明し、腎における尿酸の輸送機構の分子生物学的解明が途についたといえる。

II. 4-コンポーネントモデルの成立

尿酸は分子量168の物質であり、解離定数5.8であることより、体液中ではpHに依存して尿酸と尿酸塩として存在し、血液中での尿酸の蛋白結合は約5%である²⁾。したがって血液中の尿酸は腎糸球体を自由に通過できると考えられ、この事実はマイクロパンチャー法により証明されている³⁾。腎糸球体を尿酸が自由に通過しているにもかかわらず、尿酸クリアランスは糸球体濾過率(GFR)の約10%の値を示す。この事実は少なくとも尿酸の約90%が尿細管で再吸収されていなくては説明できない。このようにして尿酸の再吸収の存在が明らかとなった。

一方、腎性低尿酸血症例の一部に尿酸クリアランスがクレアチニンクリアランスを上回る症例が存在した。このような症例は全再吸収障害型腎性低尿酸血症といわれ、尿細管での尿酸の再吸収機能が喪失しているものと考えられているが、GFRを尿酸クリアランスが上回るためには、尿細管で尿酸は分泌されていなければならないことになる。このような症例の存在より尿細管における尿酸の分泌が明らかとなった。

また抗結核薬のピラジナマイドの投与により、尿中尿酸排泄量が著しく低下することが経験され

た。この作用機序として尿酸の再吸収の亢進あるいは分泌の抑制が考えられるが、薬物の作用として再吸収の亢進よりは分泌の抑制の方が受け入れやすかったためか、ピラジナマイドの作用は尿酸分泌の抑制と考えられるようになり、尿酸の分泌量をピラジナマイドの負荷より推定するピラジナマイド抑制試験が考案された程である⁴⁾。しかし後に Guggino や Roch-Ramel らの膜小胞を用いた腎生理学的研究により、ピラジナマイドの尿中尿酸排泄低下作用は分泌抑制ではなくピラジナマイドの代謝産物であるピラジンカルボン酸が尿酸との交換基質となる再吸収亢進であることが判明し (Fig. 1)⁵⁾⁶⁾、ピラジナマイド抑制試験の意義を問い直されることとなった。

さらにプロベネシドは尿酸の再吸収を抑制することにより、尿中尿酸排泄促進作用を発揮するが、このプロベネシドの尿酸排泄促進作用は、尿酸分泌を抑制すると当時考えられていたピラジナマイドで前処置をすると、減弱することが観察された。この現象はプロベネシドの作用は分泌後再吸収であるため、尿酸の分泌を低下させるピラジナマイドの影響を受けるのであろうと説明され、分泌後再吸収が行われていることが推定された⁷⁾。すな

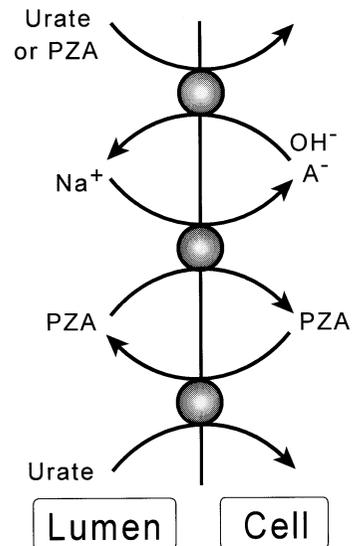


Fig. 1. Effects of pyradinamide
 PZ: Pyradinamide
 PZA: Pyradincarboxylic acid
 Guggino SE et al. J. Clin. Invest 1985.
 Roch-Ramel F et al. Am. J. Physiol 1994.

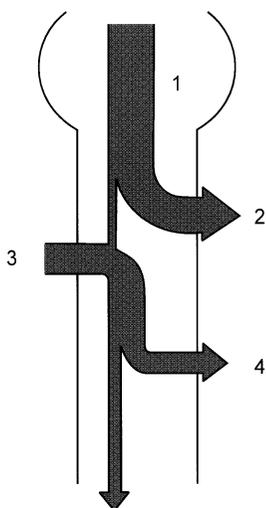


Fig. 2. 4-component model

- 1 Filtration
- 2 Reabsorption
- 3 Secretion
- 4 Postsecretory reabsorption

わち尿酸は尿管において分泌の前後で再吸収されているとの結論に達した。

このようにして濾過、再吸収、分泌、分泌後再吸収の4つの部分よりなる4-コンポーネントモデルが提唱され (Fig. 2), クリアランス試験やピラジナミド抑制試験などの結果より, 尿酸の濾過量を100%とした時, 再吸収が約99%, 分泌が約50%, 分泌後再吸収が約40%となり, 終末尿には濾過量の約10%が排泄されるとの比率まで推定された。最近の研究では近位尿管全体に再吸収, 分泌機構が存在し, 部位により両方向の輸送量が異なるため, この輸送量の相対的な差により, 見かけ上の尿酸輸送の方向が決定され⁸⁾, 4-コンポーネントモデルが形成されているものと理解されている。しかしこの4-コンポーネントモデルは生理学的, 薬理学的成績よりの推論であり, 分子生物学的に証明されたものではなかった。このような証明を困難にしていた理由は前述のごとく尿酸代謝や腎での尿酸の輸送には種差があり, モデル実験動物が得にくく, かつ尿酸の輸送が再吸収と分泌をくり返す複雑なものであった点があげられる。さらに尿酸排泄促進薬やピラジナミドの薬効も種によりかなりの差を認め研究をさらに困難なものにしていた。しかし前述のごとくピラジ

ナミドの作用が分泌抑制ではなく, 再吸収の亢進であることが判明したため, 長らく信じられてきた4-コンポーネントモデルを見直し, 腎での尿酸の輸送を分子生物学的に証明する必要性が生じていたと考えられる。

III. URAT1

尿酸は生体内で有機酸として存在することより, 尿酸の輸送体は杏林大学薬理学教室を中心に明らかにされている有機陰イオントランスポーター (OAT) ファミリーに属する可能性が予想されていたが⁹⁾, 前述の理由により尿酸輸送体のクローニングは成功していなかった。

榎本と筆者らは公開されたヒトゲノム概要配列中のOATパラログ遺伝子を探索し, ヒト尿酸トランスポーター (URAT1) をコードする遺伝子を同定した¹⁾。URAT1はOATと同様に12回膜貫通型構造を持つ分子であり, cDNA全長をプローブとして用いたノーザンブロット法では成人および胎児の腎臓に特異的に発現していた。またC末端ペプチドに対する特異的ポリクローナル抗体を用いた免疫染色で, URAT1は腎皮質の近位尿管腔側に局在することが確認された。またアフリカツメガエル卵母細胞にURAT1を発現させた実験系を用いたところ, URAT1を発現させた卵母細胞は尿酸を強力に取り込むことが判明し, その取り込み様式は酵素反応速度論に基づく特徴を有しており, ミカエリス定数は約 $370 \mu\text{M}$ であり, 血中より自由に濾過された尿酸を再吸収するのに十分な親和性を持っているものと考えられた。またこの卵母細胞に種々の物質を注入した実験より, URAT1の尿酸輸送は有機アニオンとの交換によって行われる尿酸/アニオン交換輸送体であることが判明した。とくにピラジナミドの最終代謝産物であるピラジカルボン酸や乳酸, ニコチン酸を卵母細胞に注入しておくと, 尿酸の取り込みが顕著に上昇した。この成績は, ピラジカルボン酸が尿酸輸送の交換基質であり, 前述のGuggino⁴⁾やRoch-Ramel⁵⁾の成績のごとくピラジナミドの作用が分泌の抑制ではなく, 再吸収の亢進であることが裏付けされるものであった。またURAT1の尿酸輸送は尿酸再吸収抑制薬であるプロベネシドやベンズブロマロンなどによっ

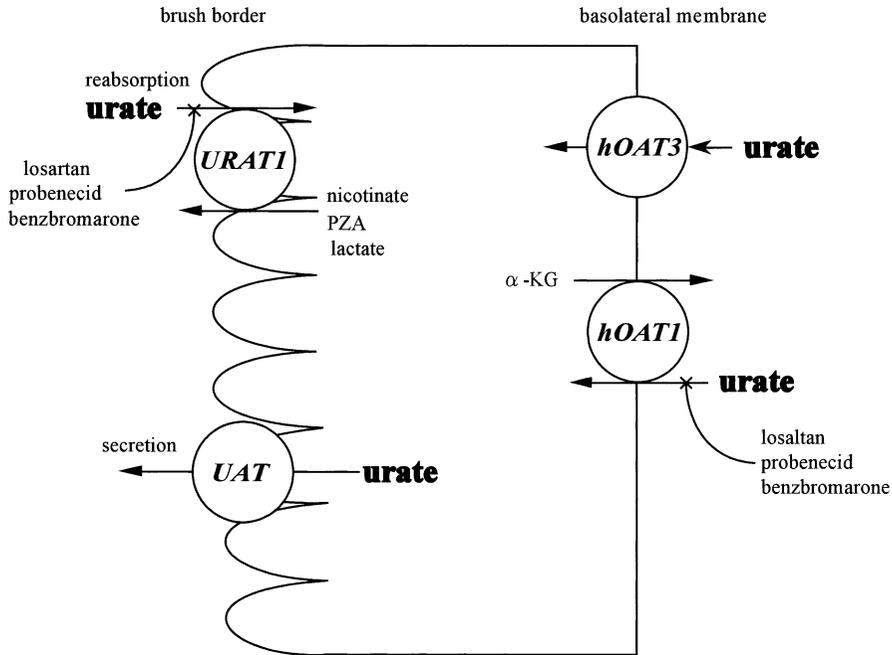


Fig. 3. Urate transport in renal proximal tubules of human kidney

て阻害されることもこの実験系より判明した。同様に血清尿酸低下作用のあるアンジオテンシン II 受容体拮抗薬であるロサルタンおよびその代謝産物である EXP 3174 も尿酸の輸送を阻害し、ロサルタンの血清尿酸低下作用は URAT1 の介した尿酸再吸収抑制による尿酸排泄促進であると考えられた。

また腎での尿酸排泄が亢進し低尿酸血症を呈する腎性低尿酸血症 3 例で本遺伝子の異常を認め、さらに我々は親戚関係のない 32 例の腎性低尿酸血症の検討を行ったところ、URAT1 の欠損が 30 例に認められた。この成績より URAT1 が血清尿酸を維持する最も重要なトランスポーターであることが推定された。しかし URAT1 の欠損がない例が 2 例存在したことによりさらなるトランスポーターの存在も示唆された。

IV. 他の尿酸トランスポーター/チャネル

URAT1 と同じ有機イオントランスポーターのファミリーに属する hOAT1 は特異的ポリクロナール抗体を用いた免疫染色では、腎臓では近位尿管の基底膜側に存在し、アフリカツメガエル卵母細胞の発現系を用いた実験では時間依存性に

尿酸の取り込みを認め、hOAT1 は血管腔より尿管細胞内への尿酸輸送に関与していると思われた¹⁰。また同じファミリーに属する hOAT3 も hOAT1 と同様に基底膜側に存在し、hOAT1 より輸送量はかなり少ないが、尿酸の輸送に関与している可能性がある¹¹。

近年、Abramson らによりブタ肝臓の尿酸酸化酵素（ウリケース）に対する抗体を用いてラットの cDNA のスクリーニングが行われ、322 アミノ酸残基より異なる蛋白質が単離された¹²⁾¹³⁾。この蛋白質は尿酸を酸化してアラントインにするウリケースの阻薬であるオキソニン酸で抑制されるなどウリケースに類似した性質を持ち、Urate transporter (UAT) と名付けられている。そして UAT は腎臓では近位尿管管腔側に発現されていることが報告されている¹⁴⁾。UAT の組み換え蛋白質を脂質二重膜に再構成すると、尿酸による膜電位依存性のチャンネル様電流が確認されており、UAT はトランスポーターではなくチャンネルではないかと推測されている。構造も UAT は 4 回膜貫通型と推測されており¹²⁾、通常のトランスポーターの 12 回膜貫通型と異なっている。しかし RI で標識された尿酸を用いた実験では UAT

による尿酸の移動は確認されておらず、UATの尿酸輸送に関していまだ不明の点も多い。

V. 尿酸の排泄機序の最近の考え方

ピラジナミドの作用が分泌の抑制ではなく、再吸収の亢進であることが判明し、ピラジナミド抑制試験の解釈が成り立たなくなり、4-コンポーネントモデル説を全面的に見直さなくてはならなくなった。その後薬剤負荷などによる薬理学的検討ではない分子生物学的研究が積み重ねられ、腎における尿酸の排泄機序が再構築されつつある。今までの研究成果をまとめ、現時点でのヒトの腎における尿酸の排泄機序を模式化するとFig. 3のごとくとなる。すなわちURAT1が尿酸の再吸収を司り、プロベネシド、ベンズプロマロン、ロサルタンなどの作用点となっているばかりでなく、ピラジナミドの再吸収亢進による尿酸排泄低下への作用点となっていると考えられる。また分泌に関しては、UATが本当に尿酸を輸送するのであれば、UATが尿酸の分泌を行っている可能性がある。また血管腔より尿細管細胞内への尿酸の輸送の一部はhOAT1やhOAT3が行っている可能性がある。

このようにして4-コンポーネント説の各々のコンポーネントが分子生物学的に解明されつつある。しかし腎性低尿酸血症例でURAT1の遺伝子に異常のない症例が存在することなどより、尿酸の再吸収を司る第二の尿酸トランスポーターの存在が予測されており、このトランスポーターが分泌後再吸収のコンポーネントを説明することになるかもしれない。また血清尿酸値には性差があることが知られており、この原因としてエストロゲンによる尿酸クリアランスの増加作用とほぼ判明しているが¹⁵⁾、URAT1などが性ホルモンにより調節を受けているか否かなど研究すべき課題は多い。さらに腎臓ではかなりのエネルギーを費やし尿酸の再吸収を行い、再吸収優位な尿酸動態により血清尿酸を維持している。この事実は尿酸が生体にとって必須な物質である可能性があるが、尿酸の生物学的意義は明らかになっていない。腎での尿酸排泄機序の研究を通して尿酸の生体内での存在意義が明確になるかもしれない。

文 献

- 1) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, Shigeta Y, Jutabha P, Cha SH, et al. Molecular identification of a renal urate-anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* 2002; 417: 447-52.
- 2) Eyngaarden JB. Uric acid. In: Pierson GM, editor. *The cyclopedia of medicine, Surgery, Specialties*. Philadelphia: Davis; 1955. p. 341.
- 3) Bordley J III, Richards AN. Quantitative studies of composition of glomerular urine of snakes and frogs, determined by an ultramicro adaptation of Folin's method. *J Biol Chem* 1993; 101: 193-221.
- 4) Steele TH. Urate secretion in man: the pyrazinamide suppression test. *Ann Intern Med* 1973; 79: 734-7.
- 5) Guggino SE, Aronson PS. Paradoxical effects of pyrazinoate and nicotinate on urate transport in dog renal microvillus membranes. *J Clin Invest* 1985; 76: 543-7.
- 6) Roch-Ramel F, Werner D, Guisan B. Urate transport in brush-border membrane of human kidney. *Am J Physiol* 1994; 266 (5 Pt 2): F797-805.
- 7) Diamond HS, Paolino JS. Evidence for a postsecretory reabsorptive site for uric acid in man. *J Clin Invest* 1973; 52: 1491-9.
- 8) Sica DA, Achoolwerth AC. Renal handling of organic anions and cations: excretion of uric acid. In: Brenner BM, editor. *The kidney*. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2000. p. 600-700.
- 9) Sekine T, Cha SH, Endou H. The multispecific organic anion transporter (OAT) family. *Pflugers Arch* 2000; 440: 337-50.
- 10) Hosoyamada M, Sekine T, Endou H. Molecular cloning and functional expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney. *Am J Physiol* 1999; 276: F122-8.
- 11) 木村弘章, 市田公美, 細山田真, 大野岩男, 遠藤仁, 細谷龍男. 有機陰イオントランスポーターhOAT3における尿酸輸送の解析. *痛風と核酸代謝* 2000; 24: 115-21.
- 12) Leal-Pinto E, Tao W, Rappaport J, Richardson M, Knorr BA, Abramson RG. Molecular cloning and functional reconstitution of a

- urate transporter/channel. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 617-25.
- 13) Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, Rappoport JZ, Najfeld V, Abramson RG. Function reconstitution, membrane targeting, geonic structure, and chromosomal localization of a human urate transporter. *J Clin Invest* 2001 ; 107 : 1103-15.
- 14) Hyink DP, Rappoport JZ, Wilson PD, Abramson RG. Expression of the urate transporter/channel is developmentally regulated in human kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001 ; 281 : F875-86.
- 15) 細谷龍男, 市田公美, 畝村さゆみ, 田部 晃, 岡部英明, 佐治正勝. 長距離走による尿酸代謝の動態と性差. *プリン・ピリミジン代謝* 1994 ; 18 : 11-7.