

【退任記念講義】

## 夢・挑戦

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

## HOPE AND CHALLENGE

Tatsuo HOSOYA

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

Attempts to clarify the renal handling of uric acid have been frustrated by the complexity of the renal excretion route; however, I dreamed of ascertaining its physiological mechanism at the molecular level. With the invaluable assistance of a number of outstanding researchers, I was able to successfully clarify the mechanism of urate transport in renal proximal tubules via such transporters as organic anion transporter, urate transporter 1, glucose transporter 9, and ATP-binding cassette transporter subfamily G2. Not only did I realize that having a dream and striving to attain it are extremely important things in life, but I also realized that doing so provides opportunities to be associated with many great colleagues..

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2013;128:157-61)

Key words: renal excretion of uric acid, renal handling of uric acid, physiological transporter

### I. 腎における尿酸排泄機序の研究の歴史

腎における尿酸排泄の排泄機序に関して長い間 4-component model が信じられてきた。これは分子生物学的に証明されたものではなく、生理学的、薬理学的あるいは臨床的に集積された成績より推論したモデルである (Fig. 1)。すなわち micro-puncture studyにより尿酸は糸球体基底膜を自由に通過することが判明していた。しかし健常人の尿酸クリアランス (CUA) はクレアチニンクリアランス (Ccr) の10%以下であり、尿酸は尿細管で90%以上再吸収されていることを思わせる結果であった。また腎細尿管における尿酸の再吸収障害が原因と考えられていた腎性低尿酸血症の症例の中に、CUAがCcrを上回る症例が存在することが判明し、尿酸が尿細管で分泌されていることも推測された。さらに抗結核薬であるPyrazinamideの投与により尿中尿酸排泄が著明に減少することが知られており、Pyrazinamideの機序とし

て尿酸の尿酸分泌抑制によるものと推定されていた。そして尿酸再吸収抑制薬であるProbenecidの尿酸排泄亢進作用が、Pyrazinamideで前処置をすると著しく減弱することより、尿酸は尿細管の分泌前後で再吸収をうけていると考えられるようになった。ところが、Guggino SEやRoch-Ramelらの研究により、Pyrazinamideの尿酸排泄抑制効果は分泌の抑制ではなく、再吸収の亢進であることが明らかとなり (Fig. 2)<sup>1)2)</sup>、4-component modelは根本的に見直されることになった。

### II. 尿酸のトランスポーターと腎性低尿酸血症

その後暗中模索の時代がしばらく続いたが、杏林大学薬理学教室の遠藤らによる有機アニオントランスポーター (OAT) に関連する一連の研究からOAT1とOAT3が血管側から尿細管細胞内へ尿酸を移送することが判明した (Fig. 3)<sup>3)</sup>。そして杏林大学薬理学教室と私どもの教室との共同研究に

より OAT family の一つである URAT1 が尿細管腔より尿酸を再吸収するトランスポーターであることが示され、この URAT1 のいくつかの mutation による機能低下あるいは欠損が腎性低尿酸血症の原因であることが判明した<sup>4)</sup>。そして尿酸排泄促進作用のある前述の probenecid, benzbromaron や ARB である losartan, 高脂血症治療薬の phenophybrate など多くの薬剤がこの URAT1 を阻害することにより尿中尿酸排泄を増加させていることも明らかとなった (Table 1)。ところが数多くの腎性低

尿酸血症を調査すると、URAT1 の mutation のない症例が少数ながら存在した。その頃 glucose transporter family の中で、その機能の詳細が不明であった Glut9 が尿酸を移送するトランスポーターではないかとの成績が発表され (Table 2), 我々も 5,000 例以上の健診データより血清尿酸 3 mg/dl 以下の 70 例を URAT1, Glut9 の遺伝子変異を解析した結果、47 例に URAT1 の mutation を、3 例に Glut9 の mutation のある腎性低尿酸血症を発見し、さらに Glut9 の尿酸輸送機能に関する検討も加えた (Fig.

### 4-component model

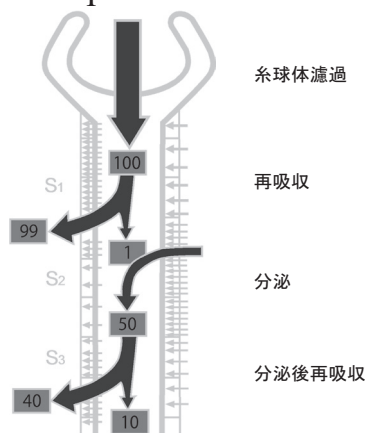


Fig. 1. 4-component model

### Paradoxical effects of pyrazinamide (pyrazinoate)

著作権の関係により画像を表示することができません。  
以下のURLをご参照ください。  
<http://ajprenal.physiology.org/content/266/F797>

Fig. 2. Paradoxical effects of pyrazinamide (pyrazinoate)<sup>1) 2)</sup>. 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. Roch-Ramel F, Werner D, Guisan B. Urate transport in brush-border membrane of human kidney. Am J Physiol. 1994; 266: F797-805. より転載

### SLC22 family tree

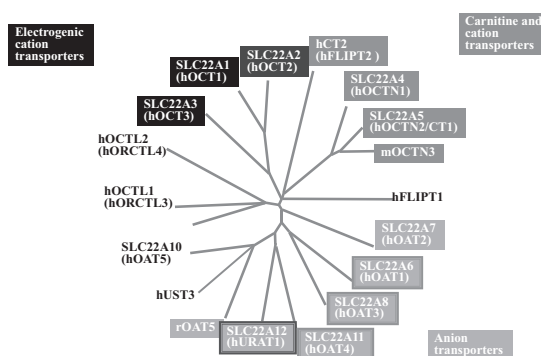


Fig. 3. SLC22 family tree<sup>3)</sup>. Koepsell H, Endou H. The SLC22 drug transporter family. Pflugers Arch. 2004; 447: 666-76. より転載

### The Flowchart for Clinicogenetic Analysis of Hypouricemia with GLUT9 Mutations

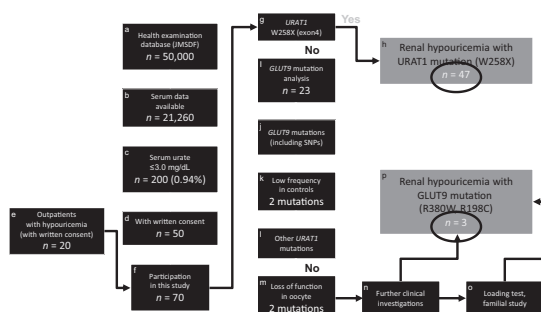


Fig. 4. The flowchart for clinicogenetic analysis of hypouricemia with GLUT9 mutations<sup>5)</sup>. Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, Nakayama A, Domoto H, Phetdee K, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. Am J Hum Genet. 2008; 83: 744-51. より転載

## IC50 of URAT1

### Uricosuric agents

Probenecid (IC50 < 100μM)

Benzbromarone (IC50 < 0.1μM)

### Angiotensin II receptor antagonists

Losartan (IC50 < 100μM)

Table 1. IC50 of URAT1

### Reports of GLUT9 influences Uric acid

**The GLUT9 gene is associated with serum uric acid levels in Sardinia and Chianti cohorts.**

Li S, Sanna S, Maschio A, Busonero F, Usala G, Mulas A, Lai S, Dei M, Orrù M, Albai G, Bandinelli S, Schlessinger D, Lakatta E, Scuteri A, Najjar SS, Guralnik J, Naitza S, Crisponi L, Cao A, Abecasis G, Ferrucci L, Uda M, Chen WM, Nagaraja R.

PLoS Genet. November 2007

**SLC2A9 influences uric acid concentrations with pronounced sex-specific effects**

Angela DÖring, Christian Gieger, Divya Mehta, Henning Gohlke, Holger Prokisch, Stefan Coassin, Guido Fischer, Kathleen Henke, Norman Klopp, Florian Kronenberg.

Nature Genetics, March 2008

**SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout**

Veronique Vitart, Igor Rudan, Caroline Hayward, Nicola K Gray, James Floyd, Colin NA Palmer, Sara A Knott, Ivana Kolcic, Ozren Polasek, Juergen Graessler.

Nature Genetics, March 2008

Table 2. Reports of GLUT9 influences uric acid

### Association analysis of ABCG2 variants in gout patients. MAF, minor allele frequency.

推定輸送活性	遺伝子型		被験者数		p値	オッズ比	95% CI
	Q126X	Q141K	痛風	健康成人			
機能1/4以下	I/I	C/C	16	8	3.39 × 10 <sup>-21</sup>	25.8	10.3~64.4
	I/C	Δ/C					
機能1/2以下	I/C	C/C	37	110	2.23 × 10 <sup>-9</sup>	4.34	2.61~7.24
	C/C	Δ/Δ					
機能3/4以下	C/C	Δ/C	72	308	2.29 × 10 <sup>-7</sup>	3.02	1.96~4.65
機能正常	C/C	C/C	34	439			

オッズ比は、ABCG2の機能低下のない遺伝子型の組合せC/C(Q14)およびC/C(Q126X)の場合との比較で計算した。機能低下を示すアレルには、下線を引いた。

Table 3. Association analysis of ABCG2 variants in gout patients. MAF, minor allele frequency<sup>8)</sup>. Matsuo H, Takada T, Ichida K, Nakamura T, Nakayama A, Ikebuchi Y, et al. Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: a function-based genetic analysis in a Japanese population. Sci Transl Med. 2009; 1: 5ra11. より引用改変

## III. 尿酸分泌の機序と ABCG2

ここまでで尿酸の再吸収あるいは腎性低尿酸血症の原因のほとんどは分子生物学的に解明されたと思われたが、尿酸の尿酸分泌に関しての詳細な機序は不明のままであった。台湾の痛風の濃厚な家系で4番染色体のある部分が原因遺伝子ではないかと推定されていたため、新しい研究手法であるGenome-Wide Association Scan (GVAS) による探索をした結果、既知のURAT1, Glut9などのいくつかの分子ともに尿酸と関連がある分子としてABCG2が候補遺伝子としてピックアップされてきた<sup>7)</sup>。

そこでABCG2について解析を行ったところ、ABCG2の機能異常は高尿酸血症の原因となることが判明した。またABCG2は尿酸管細胞内から尿細管腔へ尿酸を分泌するトランスポーターの遺伝子であることが判明した<sup>8)</sup>。またABCG2の機能異常と痛風の発症リスクの関係を調査したところ、ABCG2の機能低下は痛風発症のリスクの上昇と相関することが示された (Table 3)<sup>8)</sup>。さらにGVASなどによるいくつかの候補遺伝子などから、他の尿酸を移送するトランスポーターが発見され、長い間その詳細な機序が不明であった腎の尿酸ハンドリングに関して分子生物学的レベルでそのほとんどが解明されるに至った (Fig. 5)。

## Uric acid transporter in proximal tubules

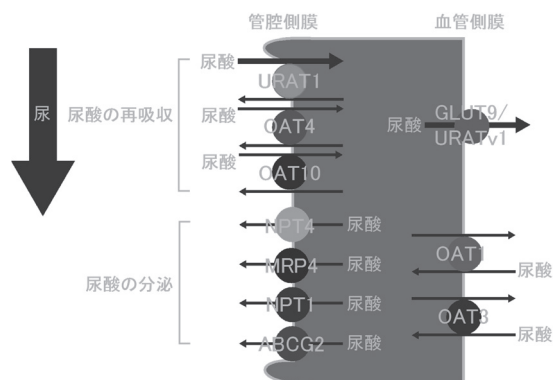


Fig. 5. Uric acid transporter in proximal tubules

#### IV. 腎の尿酸排泄機序の解明と私の挑戦

腎の尿酸排泄機序はきわめて複雑であり、私が尿酸代謝に関する研究を始めたころは推論に推論と積み重ねた4-component modelが提唱されていたが、ある実験結果が4-component modelの根本からくつがえすことになった。私はその頃この腎の尿酸排泄機序を推論ではなく、分子生物学的レベルで実証、解明したいという夢をもった。しかしその夢はある高名な腎臓病学の大先輩に「多くの研究者が挑戦して失敗しているかなり難しいテーマだ。余り深追いしない方が賢明かもしれない。」と示唆を受けたことがある。しかし私は夢を捨てきれずにいたところ、2000年代になり尿酸とは関係なく、腎の物質輸送に関してトランスポーターやチャネルの研究が進展し、遺伝的あるいは分子生物学的解析も加えられるようになってきた。そこで私達はその分野の先進的研究者に「研究手法を教えてください、そして尿酸転送するようなトランスポーターと一緒に見つけて欲しい」とお願いに上がったり、また同じような夢をもっている若手の研究者に仲間になってもらうように努力したりして、人脈または研究グループが形成されたのである。そしてTable 4に示すような協力者を得て、腎の尿酸排泄機序の概要が解明でき、また夢を持って挑戦するということは人脈や仲間を作るということも同時に教えられた。

#### Co laborators (研究時の所属)

遠藤 仁	(杏林大学)
安西 尚彦	(獨協大学)
榎本 篤	(名古屋大学)
細山田 真	(帝京大学)
市田 公美	(東京薬科大学)
久留 一郎	(鳥取大学)
松尾 洋孝	(防衛医大)
高田 龍平	(東京大学)

Table 4. Co laborators (研究時の所属)

#### V. おわりに

写真は1968年の東京オリンピックに陸上100mで優勝したボブ・ヘイズ氏である (Fig. 6)。インタビュアーの「100mで優勝するのにはどうしたらよいですか」との質問に対して、彼は「オリンピックの100mで優勝しようと思うことだ」と答えた。今日でこそオバマ氏が大統領となっている米国であるが、1950年代に一人の黒人の少年であったヘイズ氏が、このような夢を持ち挑戦し続けるためには多くのハンディキャップを乗り越える努力があったことは想像に難くないと思われる。

本学の後輩諸君には夢を持って挑戦してもらいたいと望んでいる。

#### 著者の利益相反 (conflict of interest: COI) 開示:

本論文の研究内容に関連して特に申告なし

#### 文 献

- 1) 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.
- 2) Roch-Ramel F, Werner D, Guisan B. Urate transport in brush-border membrane of human kidney. *Am J Physiol.*



Fig. 6. ボブ・ヘイズ (1942-2002)

- 1994; 266: F797-805.
- 3) Koepsell H, Endou H. The SLC22 drug transporter family. *Pflugers Arch.* 2004; 447: 666-76.
  - 4) 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.
  - 5) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, Nakayama A, Domoto H, Phetdee K, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet.* 2008; 83: 744-51.
  - 6) Anzai N, Ichida K, Jutabha P, Kimura T, Babu E, Jin CJ, et al. Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter URATv1 (SLC2A9) in humans. *J Biol Chem.* 2008; 283: 26834-8.
  - 7) Kolz M, Johnson T, Sanna S, Teumer A, Vitart V, Perola M, et al. Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. *PLoS Genet.* 2009; 5: e1000504.
  - 8) Matsuo H, Takada T, Ichida K, Nakamura T, Nakayama A, Ikebuchi Y, et al. Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: a function-based genetic analysis in a Japanese population. *Sci Transl Med.* 2009; 1: 5ra11.