

I 頻 度

低尿酸血症とは、血清尿酸値低値によって特徴づけられる疾患で、運動後急性腎不全や尿路結石を生じることがある。低尿酸血症の診断のための正常下限値は、1.5 mg/dL とするものから 4.0 mg/dL とするものまで、報告により幅がある¹⁾。一般的には、男女を問わず血清尿酸値 2.0 mg/dL 以下を低尿酸血症としている報告が多い。しかし、正常下限値を低く設定しすぎると、*URAT1/SLC22A12* や *GLUT9/SLC2A9* といった尿酸トランスポーター遺伝子のヘテロ変異による軽度の腎性低尿酸血症（血清尿酸値 2.0~3.0 mg/dL）を見逃す可能性があり、注意が必要である。

低尿酸血症の原因には、尿酸降下薬服用を含む薬剤性のものや重症疾患に合併する二次性のものも含まれる。そのため、入院患者では外来患者と比較し、低尿酸血症の頻度が上昇する傾向にある。入院患者の場合、低尿酸血症の頻度はわが国では 0.84%、米国では 0.97%と報告されている²⁾。血清尿酸値の正常値に幅があること、入院患者と外来患者で頻度に関係があることから単純な比較はできないが、低尿酸血症の頻度は男性で 0.14~0.22%、女性で 0.25~0.40%と報告されている¹⁾。米国の外来患者を対象とした研究では、低尿酸血症の頻度は 0.72%と報告されている²⁾。

II 原因と分類

尿酸は主に肝臓で 1 日当たり 700 mg 産生され、2/3 が腎臓から、残り 1/3 がそのほか（消化管など）から排泄される。表に示すように、低尿酸血症はその発症機序によって産生低下型と再吸収低下型（排泄亢進型）に分類される³⁾。このうち産生低下型によるものはきわめてまれで、低尿酸血症のほとんどは腎臓尿細管での再吸収低下による腎性低尿酸血症である。

1. 産生低下型

プリン体は細胞の DNA や食物中などに広く認

表 低尿酸血症の分類

A 尿酸産生低下型低尿酸血症
1. 特発性尿酸産生低下型低尿酸血症
2. キサンチン尿症（タイプ I, タイプ II）
3. モリブデンコファクター欠損症
4. purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損症
5. phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) 合成酵素活性低下症
6. 重症肝障害
7. 薬物の使用 (allopurinol, febuxostat など)
8. るいそう
B 尿酸再吸収低下型（排泄亢進型）低尿酸血症
1. 腎性低尿酸血症（1 型：URAT1 異常症, 2 型：GLUT9 異常症, 3 型：遺伝子未同定）
2. Fanconi 症候群
3. Wilson 病
4. ADH 不適合分泌症候群 (SIADH)
5. 悪性腫瘍
6. 糖尿病
7. 薬物の使用 (benzbromarone, probenecid, sulfipyrazone など)
8. 妊娠
9. 難治性下痢

（文献 3）より引用、一部改変）

められる物質であり、これが生体内で代謝され尿酸となる。ヒトを含む霊長類の一部では、尿酸をアラントインに分解する酵素であるウリカーゼが偽遺伝子となり、その機能が欠損している。そのため、ヒトでは尿酸がプリン体の最終代謝産物となっている。

産生低下型の低尿酸血症としては、先天性の酵素異常症であるキサンチンオキシダーゼ欠損症（キサンチン尿症）、purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損症、phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) 合成酵素活性低下型などがあるが、その頻度は低い。キサンチン尿症は、キサンチンオキシダーゼが遺伝的に不足し、プリン化合物を分解した際に生じるキサンチンから尿酸への変換が障害される。PNP 欠損症は、グアノシンからグアニン、イノシンからヒポキサンチンを生じる反応の両方を触媒する酵素である PNP が欠損した疾患である。PRPP 合成酵素活性低下型では、リボース 5-リン酸から PRPP への合成が障害される。そ

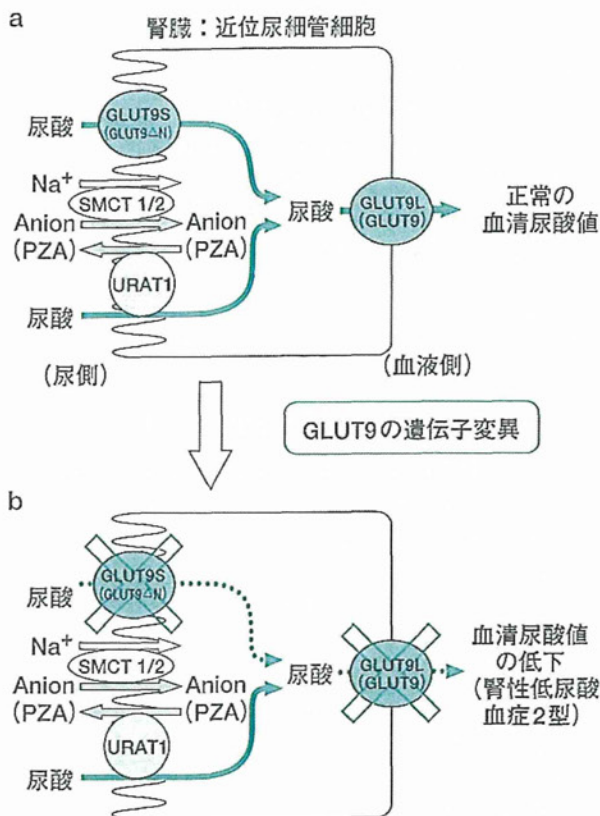


図 尿酸トランスポーターによる再吸収とその機能低下による腎性低尿酸血症の分子病態

腎臓での尿酸の再吸収は尿酸トランスポーターによって担われている。

a: 尿酸の生理学的再吸収。生理学的には、尿側の尿酸は URAT1 と GLUT9 によって近位尿細管細胞内に取り込まれ、GLUT9 によって血液側へと輸送される。

b: 腎性低尿酸血症における尿酸再吸収障害。GLUT9 の病変変異により尿酸輸送能が損なわれ、近位尿細管における尿酸の再吸収が障害される。その結果、尿酸の尿中排泄率が上昇し、血清尿酸値が減少する。

図は GLUT9 異常による腎性低尿酸血症 2 型の分子病態の例を示すが、URAT1 異常による腎性低尿酸血症においても同様な機序により血清尿酸値が低下する。

のほか、るいそうや重症肝障害でも低尿酸血症となる可能性があるほか、キサンチンオキシダーゼ阻害薬であるアロプリノールなど尿酸合成阻害作用をもつ薬剤の使用によるものも尿酸産生低下型低尿酸血症に含まれる。

2. 再吸収低下型

血清中の尿酸は腎臓糸球体で濾過された後、近位尿細管で再吸収される。近位尿細管での再吸収は尿酸輸送体（尿酸トランスポーター）によって担われる。尿酸は腎臓糸球体を自由に通過できると考えられているが、最終的な尿酸排泄率は通常 10% にも満たない。このことから、尿酸は近位尿細管で大部分が再吸収されることがわかる。

再吸収低下型は、Fanconi 症候群など他疾患に随伴してみられるもののほか、benzbromarone などの薬物使用による低尿酸血症と、尿酸トランスポーターの機能低下に起因する腎性低尿酸血症 (図) とに分類される。

Fanconi 症候群は先天性、後天性、また特発性に腎臓近位尿細管での再吸収が全般的に障害される疾患である。そのうち、先天性 Fanconi 症候群を呈するものとして、腎臓へのセルロプラスミン非結合銅の沈着に起因する Wilson 病がある。

ヒトの腎臓における生理学的な尿酸の再吸収は、主に URAT1 および GLUT9 の 2 つの尿酸トランスポーターがその役割を担っており、腎性低尿酸血症はこれらの原因遺伝子によって分類される。腎性低尿酸血症のうち URAT1 によるものを腎性低尿酸血症 1 型 (renal hypouricemia type 1: RHUC1), GLUT9 によるものを腎性低尿酸血症 2 型 (renal hypouricemia type 2: RHUC2) と呼ぶ⁴⁾。

日本人の腎性低尿酸血症のうち最も高頻度に見られるのは URAT1 の W258X 変異 [258 番目のアミノ酸であるトリプトファン (W) がストップコドンに置換された変異] である^{5,6)}。32 例の腎性低尿酸血症症例を対象とした研究では、30 例に W258X 変異がみられ、そのアレル頻度は 74.1% と報告されている⁶⁾。一般集団を対象に調査した場合も、W258X 変異アレル頻度は 2.30~2.37% と高値であることが報告されている⁷⁾。一方、アジア人以外を対象にした研究では、腎性低尿酸血症 1 型 (URAT1 が原因遺伝子) の報告は乏しく、ギリシャ人の腎性低尿酸血症 8 症例を対象とした調査では、W258X 変異は見出されなかった⁷⁾。ユダヤ人において腎性低尿酸血症 1 型が報告されて

いるが、これは W258X 変異によるものではなく R406C 変異によるものであった⁸⁾。次いで同定された腎性低尿酸血症 2 型の原因遺伝子は *GLUT9* である⁹⁾。*GLUT9* 解析において見出された R380W 変異〔380 番目のアミノ酸が、アルギニン (R) からトリプトファン (W) に置換〕および R198C 変異〔198 番目のアミノ酸がアルギニン (R) からシスチン (C) に置換〕では、両者ともほぼ完全に尿酸の再吸収能が消失していた。いずれの変異も、尿酸トランスポーター分子の膜貫通部位の近傍で、塩基性のアミノ酸が中性のアミノ酸に置換され電荷の消失が起きている。これにより、膜貫通部位の構造が変化し、尿酸輸送能が消失するものと考えられている⁴⁾。

現在、腎性低尿酸血症の原因遺伝子として報告されている既知の原因遺伝子は、*URAT1* と *GLUT9* のみである。しかし、腎性低尿酸血症のうち *URAT1* と *GLUT9* の両者に遺伝子変異を認めない症例が存在しており、新規遺伝子異常に起因する腎性低尿酸血症 3 型の存在が想定されている。今後、さらなる新規原因遺伝子の同定が待たれる。

文 献

- 1) 市田公美：【尿酸排泄異常の成因】腎性低尿酸血症。高尿酸血症と痛風 17：28-32, 2009
- 2) 久留一郎, 坪井麻理子, 重政千秋：遺伝性腎性低尿酸血症。日本臨牀 54：3337-3342, 1996
- 3) 松尾洋孝, 市田公美：GLUT9 の異常症。高尿酸血症と痛風 18：84-89, 2010
- 4) Kawamura Y, Matsuo H, Chiba T, et al：Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type 2 (RHUC2). Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 30：1105-1111, 2011
- 5) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al：Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. Nature 417：447-452, 2002
- 6) Ichida K, Hosoyamada M, Hisatome I, et al：Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of URAT1 gene on urinary urate excretion. J Am Soc Nephrol 15 (1)：164-173, 2004
- 7) 松尾洋孝：尿酸の再吸収機構と輸送体病—ゲノムワイド関連解析後の新展開。Annual Review 腎臓 2010：9-20, 2010
- 8) Dinour D, Bahn A, Ganon L, et al：URAT1 mutations cause renal hypouricemia type 1 in Iraqi Jews. Nephrol Dial Transplant 26 (7)：2175-2181, 2011
- 9) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al：Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. Am J Hum Genet 83：744-751, 2008

* * *

3. 腎性低尿酸血症

Renal hypouricemia

中山昌喜*¹ 松尾洋孝*¹ 市田公美*² 四ノ宮成祥*¹**Keywords** 腎性低尿酸血症, GLUT9/SLC2A9, URAT1/SLC22A12, 尿酸輸送体(トランスポーター), 運動後急性腎不全

I. 概 念

腎性低尿酸血症は、血清中の低尿酸値を特徴とする遺伝性疾患であり、疾患頻度は不明である。無症候性であることも多いが、合併症として運動後急性腎不全や尿路結石が問題となる。腎臓の近位尿細管における尿酸の再吸収障害に起因しており、原因遺伝子により腎性低尿酸血症1型 (renal hypouricemia type 1: RHUC1) と腎性低尿酸血症2型 (renal hypouricemia type 2: RHUC2) に分けられる¹⁾。それぞれ urate transporter 1 (URAT1/SLC22A12) と glucose transporter 9 (GLUT9/SLC2A9) の遺伝子変異が原因である。現在のところ根治療法はなく、合併症に対して対症療法を行う。腎性低尿酸血症そのものの予後は良好であり、十分な水分摂取などにより合併症を予防することが肝要である。

II. 病 態

尿酸輸送に関わる膜トランスポーター(尿酸輸送体)の遺伝子変異により、腎臓の近位尿細管細胞における尿酸再吸収機能が低下することが、基本的な病態である。

1. 尿酸について

プリン体は、細胞のDNAや食物中などに広く認められる物質であり、これが生体内で代謝され尿酸となる。ヒトを含む霊長類の一部では、尿酸

分解酵素であるウリカーゼ uricase は偽遺伝子となっており、その機能が欠損している。このため、ウリカーゼをもつマウスなどと比較すると、ヒトの血清尿酸値は高値を示す。血中に尿酸が過剰に存在する状態である高尿酸血症は、痛風や高血圧のリスクとなるなど、過剰な尿酸の不利益は広く知られている。一方で、尿酸は強力な抗酸化作用を有し、ヒトの血中における第一の抗酸化物質として(同じく抗酸化物質であるビタミンCの約6倍の濃度で存在する)、長寿(あるいはアンチエイジング)に関連する可能性も考えられている²⁾。

2. 腎臓における尿酸の動態

腎臓における尿酸の動態では、再吸収や分泌をつかさどる尿酸輸送体が重要な役割を担っている。腎糸球体において原尿中に濾過された尿酸は、その大部分が近位尿細管で再吸収される。ヒトの腎臓における生理学的な尿酸の再吸収は、主にURAT1³⁾およびGLUT9⁴⁾の2つの尿酸再吸収輸送体が担っている。*in vitro*の検討において、URAT1とGLUT9はどちらも高尿酸血症治療薬ベンズプロマロンにより、その再吸収機能が抑制される。

最近の研究により、尿酸分泌をつかさどる輸送体 ABCG2/BCRP (ATP-binding cassette, sub-family G, member 2)が見出されており、その遺伝子変異が痛風の主要な原因の一つであることも判明している⁵⁾。

*¹防衛医科大学校分子生体制御学講座
(〒359-8513 所沢市並木3-2)

*²東京薬科大学病態生理学教室

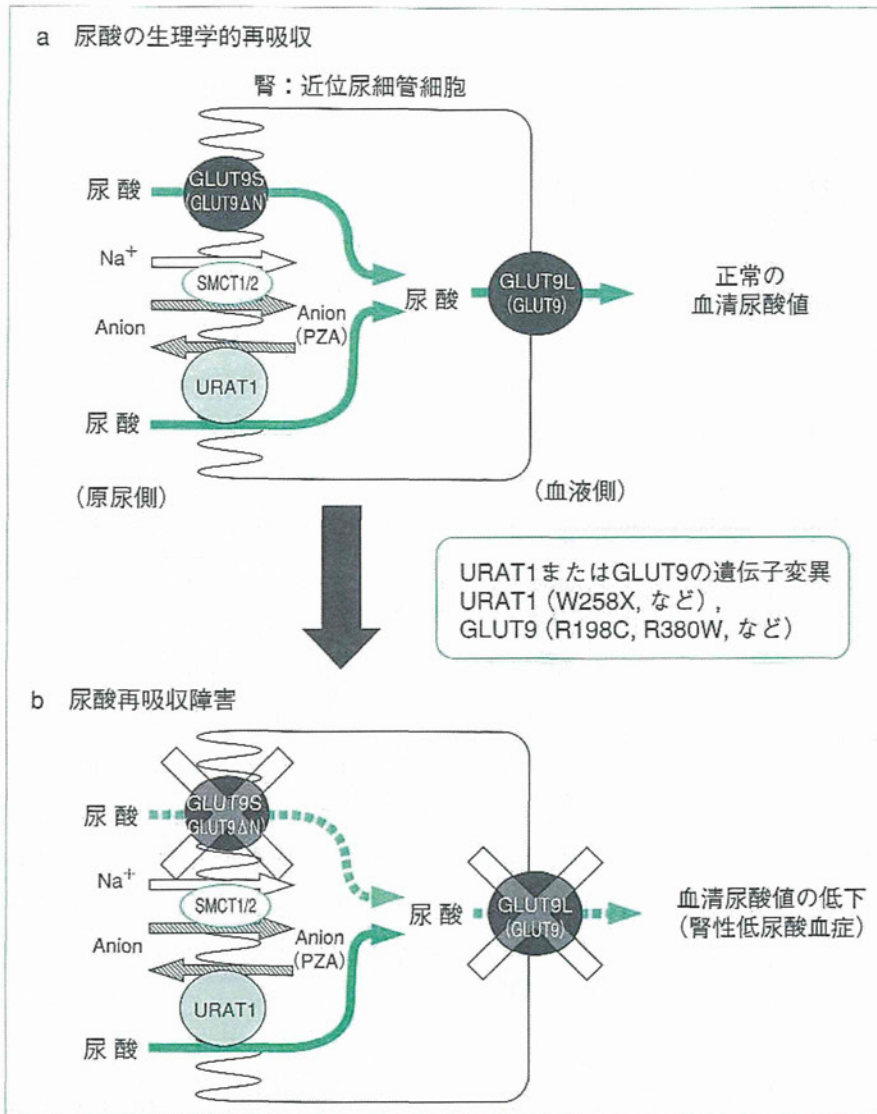


図 腎臓における尿酸の生理学的再吸収および障害の分子機構

腎臓の近位尿細管細胞における尿酸再吸収および障害の分子機構を示す。
a：尿酸の生理学的再吸収モデルにおいて、尿酸は原尿側から血液側へ、URAT1 および GLUT9 (アイソフォームである GLUT9L と GLUT9S に分けて表示している) という2つの膜輸送体を介して再吸収される。
b：URAT1 または GLUT9 に遺伝子変異があり、再吸収機能が低下すると、血清尿酸値は低下する (ここでは一例として、GLUT9 に遺伝子変異があった場合を示している)。PZA は URAT1 輸送体において尿酸と交換輸送され、尿酸の再吸収を促進することから、腎性低尿酸血症1型と2型の鑑別にピラジナミド負荷試験が使用できる。しかし、URAT1 または GLUT9 の遺伝子変異を直接解析した方が、被検者に対する負担が軽く、かつ簡便である。

3. 腎性低尿酸血症の発症機序と分類

URAT1 または GLUT9 の遺伝子変異により、近位尿細管における尿酸の再吸収機能が低下すると、原尿からの尿酸の再吸収は減少し、尿中への尿酸排泄が増加する。このため、血中の尿酸値は

減少し、腎性低尿酸血症が引き起こされる (図)。

腎性低尿酸血症の原因となる遺伝子変異にはいくつかのパターンが知られており、URAT1 遺伝子の機能消失変異である「W258X」変異³⁾ (URAT1 遺伝子の258番目のアミノ酸であるトリプトファ

表 腎性低尿酸血症の主な鑑別疾患

- A. 尿酸排泄亢進型低尿酸血症
- 腎性低尿酸血症 (1型: URAT1 異常症, 2型: GLUT9 異常症, 3型(?): 遺伝子未同定)
 - Wilson 病
 - Fanconi 症候群
 - ADH 不適合分泌症候群 (SIADH)
 - 悪性腫瘍
 - 糖尿病
 - 薬物の使用 (benzbromarone, probenecid, sulfipyrazone 等)
 - 妊娠
 - 難治性下痢
- B. 尿酸産生低下型低尿酸血症
- 特発性尿酸産生低下型低尿酸血症
 - キサンチン尿症 (タイプ I, タイプ II)
 - モリブデンコファクター欠損症
 - purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損症
 - phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) 合成酵素活性低下症
 - 重症肝障害
 - 薬物の使用 (allopurinol 等)
 - るいそう

ン (W) に対応するコドンが終止コドン (X) となる変異) は日本人の腎性低尿酸血症患者に最も高頻度に認められる。GLUT9 遺伝子では、やはり機能消失変異である「R198C」および「R380W」変異 (GLUT9 遺伝子の 198 番目または 380 番目のアルギニン (R) に対応するコドンがそれぞれシステイン (C) またはトリプトファン (W) となる変異) が、腎性低尿酸血症患者における遺伝子変異として最初に報告された⁴⁾。「R198C」および「R380W」はともに GLUT9 の膜貫通領域近傍の塩基性アミノ酸が中性アミノ酸に置換される変異で、これにより膜貫通部位の構造変化が引き起こされ尿酸輸送機能が消失するという機序が考えられている¹⁾。

URAT1 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症を「腎性低尿酸血症 1 型」、GLUT9 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症を「腎性低尿酸血症 2 型」と呼ぶが、URAT1 と GLUT9 のいずれにも変異を認めない症例が確認されていることから、「腎性低尿酸血症 3 型」⁶⁾ の存在が示唆される (表)。

Ⅲ. 診断および臨床検査

現時点では腎性低尿酸血症の診断・治療ガイドラインは存在しない。健康診断等で偶然発見されることが多いが、合併症を発症して初めて診断されることもある。血液・尿検査所見、合併症などを参考にして診断する。病型の判別には薬剤負荷試験が用いられることもあるが、患者への負担を考慮すると、尿酸輸送体の遺伝子検査によるタイプ分けが現実的であると考えられる。

1. 自覚症状・他覚症状

ほとんどの例では特別な自覚症状や他覚症状はなく、健康診断で偶然見つかることが多い。運動後に急性腎不全を発症する場合や尿路結石の症状を呈することがある。

2. 血液検査 (血清尿酸値)

低尿酸血症の基準について、過去の報告によれば血清尿酸値を「1.5 mg/dL 以下」とするものから「4.0 mg/dL 以下」とするものまで幅がある⁷⁾。一般にその基準を「2.0 mg/dL 以下」とするものが多いが、この場合、URAT1 や GLUT9 のヘテロ変異による軽度の低尿酸血症患者 (血清尿酸値 2.0~3.0 mg/dL) を見逃す可能性があり、注意が必要である。

3. 尿検査 (尿中尿酸排泄率 (尿酸クリアランス比))

腎臓から尿中への尿酸排泄亢進の有無を検査するため、尿中尿酸排泄率 fractional excretion of uric acid (FE_{UA}) を測定する。FE_{UA} はクレアチニンクリアランスと尿酸クリアランスの比であり、1 回の採血および一時尿または蓄尿の検体を用い、以下の計算式により算出する。

$$FE_{UA}(\%) = (UUA \times SCr) / (SUA \times UCr) \times 100$$

(ただし、UUA は尿中尿酸値 (mg/dL), SCr は血清クレアチニン値 (mg/dL), SUA は血清尿酸値 (mg/dL), UCr は尿中クレアチニン値 (mg/dL) を指す)

FE_{UA} の基準値は 5.5~11.1% である。腎性低尿酸血症患者では 50% を超えることもある。

4. 病型鑑別（ピラジナミド負荷試験、遺伝子検査）

結核治療薬ピラジナミドの代謝産物であるピラジンカルボン酸（PZA）と尿酸は、URAT1において交換輸送され、尿酸の再吸収を促進する。したがって、正常なURAT1をもつ場合、ピラジナミド負荷試験により尿酸再吸収の増加を示す。逆に、URAT1の機能が低下している腎性低尿酸血症1型においては、ピラジナミド負荷試験では尿酸再吸収の増加が認められないか、もしくは増加の程度は少ない。一方、GLUT9輸送体はPZAを輸送しないため、腎性低尿酸血症2型では正常と同様の尿酸再吸収の増加を示す^{4,6,8)}。

しかし、臨床の現場でピラジナミド負荷試験などの薬剤負荷試験を行うことは、患者に対する負担が大きい。そのため、腎性低尿酸血症1型と2型の鑑別には、URAT1遺伝子やGLUT9遺伝子における既知の変異を中心に調べる遺伝子検査が簡便かつ現実的であると考えられる。

5. 鑑別疾患

鑑別疾患としては、キサントチン尿症やFanconi症候群など既知の遺伝性疾患のほか、薬物使用による近位尿細管障害などの病態が含まれる（表）。

IV. 治療

腎性低尿酸血症に対する根治療法は存在せず、合併症に対しては対症療法（尿路結石に対して鎮痛剤投与や補液など、急性腎不全に対して利尿剤投与や水分管理など）を行う。腎性低尿酸血症そのものの予後は良好であり、合併症の予防を念頭

に置いて対処する。

患者には運動前に数100 mL程度の十分な水分摂取を薦め、また運動前日の飲酒を避けることで、脱水による合併症の誘発を予防する。特に、NSAIDs（非ステロイド性抗炎症薬）服用後の無酸素運動は運動後急性腎不全を誘発しやすいことが知られており、患者には注意喚起すべきである。

文献

- 1) Kawamura Y, Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al : Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type 2 (RHUC2). *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 30 : 1105-1111, 2011
- 2) Hediger MA : Kidney function : gateway to a long life? *Nature* 417 : 393-395, 2002
- 3) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, Shigeta Y, et al : Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* 417 : 447-452, 2002
- 4) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, Nakayama A, et al : Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet* 83 : 744-751, 2008
- 5) Matsuo H, Takada T, Ichida K, Nakamura T, 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* 1 : 5ra11, 2009
- 6) 松尾洋孝, 四ノ宮成祥 : 代謝 臨床分野での進歩 腎性低尿酸血症の遺伝学. *Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌* 2012, pp145-154, 中外医学社, 東京, 2012
- 7) 市田公美 : 【尿酸排泄異常の成因】腎性低尿酸血症. *高尿酸血症と痛風* 17 : 28-32, 2009
- 8) 松尾洋孝 : 尿酸の再吸収機構と輸送体病—ゲノムワイド関連解析後の新展開. *Annual Review 腎臓* 2010, pp9-20, 中外医学社, 東京, 2010

尿酸動態の支配要因としての尿酸トランスポーター

Urate Transporters as a Regulatory Factor for Urate Handling

松尾洋孝, 市田公美, 高田龍平, 中山昌喜, 四ノ宮成祥

Hiroataka Matsuo, Kimiyoshi Ichida, Tappei Takada, Akiyoshi Nakayama, Nariyoshi Shinomiya

生理学的に重要なヒトの尿酸トランスポーターとしては、腎臓における尿酸再吸収を司るURAT1とGLUT9のほか、腎臓や腸管における尿酸排泄を司るABCG2が知られている。尿酸再吸収トランスポーター遺伝子URAT1とGLUT9は、それぞれ腎性低尿酸血症1型と2型の原因遺伝子であり、かつ痛風・高尿酸血症の有望な治療標的分子である。一方、尿酸排泄トランスポーター遺伝子ABCG2は痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子である。最近になって、ABCG2の機能不全による腸管を含む腎外尿酸排泄低下が高尿酸血症の主要な機序の1つであることがわかり、これまでの定説を覆す新たな高尿酸血症の病型概念が提唱されている。



尿酸トランスポーター, 痛風・高尿酸血症, 腎性低尿酸血症

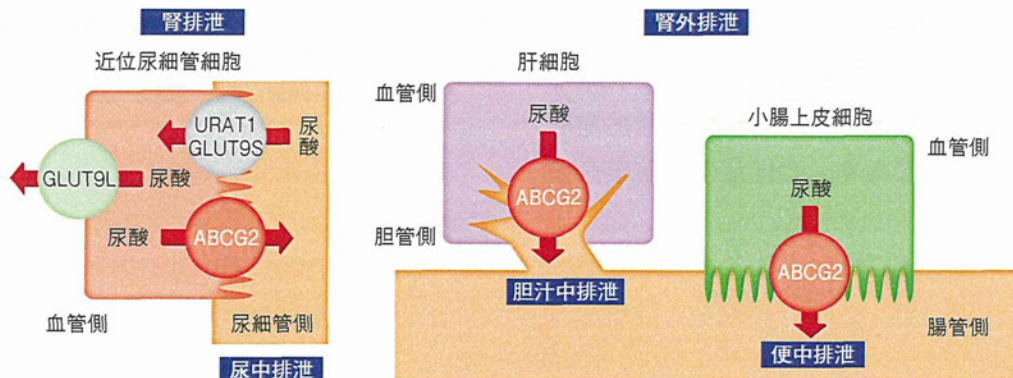
はじめに

尿酸トランスポーターは、細胞膜に存在して血清尿酸値を調節する分子であり、腎臓の尿細管において尿酸の再吸収に働く分子と、腎臓や腸管などにおける尿酸の排泄に働く分子がある。これらの尿酸トランスポーターは、尿酸動態の重要な支配要因の1つとして血清尿酸値の調節に関わっており、その機能不全は血清尿酸値の異常を引き起こすことがわかっている。本稿では尿酸トランスポーターの視点からみた血清尿酸値の生理学的な調節機構と、その機能不全による病

態について解説する。また、これまでのトランスポーター研究の成果から、生活習慣病の1つである高尿酸血症の病態の解明が進展している現状についても概説する。

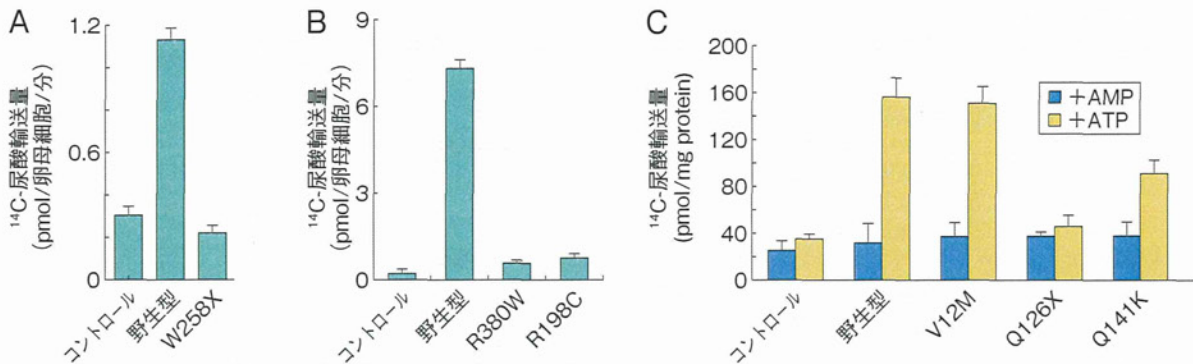
I ヒトにおける尿酸輸送機構

ヒトを含む霊長類の一部では、尿酸分解酵素であるウリカーゼが欠損している。そのため、ヒトの尿酸値はマウスなど他の哺乳類と比較して高値を示す¹⁾。また、ウリカーゼ欠損のため、尿酸はヒトにおけるプリン代謝の最終代謝産物と



■ 図1 尿酸の輸送機構

腎臓の近位尿細管細胞膜には、尿酸再吸収トランスポーターであるURAT1とGLUT9 (GLUT9Lはlong isoform, GLUT9Sはshort isoform)が発現し、尿酸の再吸収を司る。尿酸排泄トランスポーターABCG2は、腎臓近位尿細管細胞、肝細胞、小腸上皮細胞などの管腔側に発現し、尿酸の排泄を司る。Matsuo H, et al: Sci Transl Med (2009) 1: 5ra11より改変。



■図2 尿酸トランスポーターによる尿酸輸送

アフリカツメガエルの卵母細胞 (A, B) または膜小胞 (C) を用いてトランスポーターによる尿酸輸送能を見た。野生型の URAT1 (A), GLUT9 (B), ABCG2 (C) による尿酸輸送は、それぞれのトランスポーター遺伝子の病因変異により著明に低下している。詳細は本文参照。Enomoto A, et al: Nature (2002) 417: 447-452, Matsuo H, et al: Am J Hum Genet (2008) 83: 744-751, Matsuo H, et al: Sci Transl Med (2009) 1: 5ra11より改変。

なり、腎臓で排泄・分泌を受けるとともに、小腸などから排泄される。

ヒトにおける尿酸トランスポーターを介した尿酸輸送機構では、3つの主要な尿酸トランスポーターの役割が明らかになっている (図1)。尿酸再吸収トランスポーターである URAT1/SLC22A12 と GLUT9/SLC2A9 が、腎臓の近位尿細管における尿酸の再吸収を担っている。腎臓の糸球体で濾過された原尿中の尿酸は、近位尿細管の管腔側に局在する URAT1 を介して再吸収に向けて輸送される²⁾。GLUT9のうち特に GLUT9L (long isoform) は近位尿細管の血管側に局在しており、URAT1 と協働して尿酸の再吸収を司る³⁾。これに対して尿酸の排泄は、3つ目の尿酸トランスポーターである ABCG2/BCRP が担っている^{4), 5)}。ABCG2 は、腎臓の近位尿細管や小腸上皮細胞の管腔側に局在し、排泄に向けた尿酸輸送を司る^{4), 5)}。

II 腎性低尿酸血症

腎性低尿酸血症は、URAT1 または GLUT9 の遺伝子変異により引き起こされる。すなわち、近位尿細管におけるこれらの尿酸トランスポーターの再吸収機能が低下すると、原尿からの尿酸の再吸収は阻害され、尿中への尿酸排泄が増加することにより、血中の尿酸値は低下する。URAT1 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症は“腎性低尿酸血症1型”、GLUT9 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症は“腎性低尿酸血症2型”と呼ばれる⁶⁾。腎性低尿酸血症

を引き起こす遺伝子変異にはいくつかのパターンが知られているが、日本人の腎性低尿酸血症患者に最も高頻度に認められるのは URAT1 遺伝子の機能消失変異である“W258X”変異²⁾ (258番目のアミノ酸であるトリプトファン (W) に対応するコドンが終止コドン (X) となる変異) である (図2)。GLUT9 遺伝子が関わる腎性低尿酸血症患者では、機能消失変異である“R198C”変異 (198番目のアルギニン (R) に対応するコドンがシステイン (C) となる変異) および“R380W”変異 (380番目のアルギニン (R) に対応するコドンがトリプトファン (W) となる変異) が最初に報告された (図2)³⁾。“R198C”変異および“R380W”変異は共に GLUT9 の膜貫通領域近傍の塩基性アミノ酸が中性アミノ酸に置換される変異で、これにより膜貫通部位の構造が変化し尿酸輸送機能が消失するものと考えられている⁶⁾。

尿酸トランスポーター遺伝子は URAT1 を含めて、ヒトゲノム情報解読後に行われた詳細な遺伝学的解析と分子機能解析が同定の鍵となった^{7), 8)}。また GLUT9 については、2007年以降のゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study; GWAS)⁹⁾⁻¹²⁾ において血清尿酸値と関連があることが指摘された。このように、尿酸トランスポーターの生理学的機能と病態の解明においては、遺伝学的解析と分子機能解析の効果的な併用が不可欠であった。

また、URAT1 と GLUT9 のいずれにも変異を認めない低尿酸血症例が確認されていることから、“腎性低尿酸血症3型”¹³⁾ の存在が示唆されている。その病態には未知の尿酸トランスポーターが関与している可能性がある。

■表1 血清尿酸値のゲノムワイド関連解析 (GWAS) による候補遺伝子の探索

発表年	著者	対象人数	対象人種	候補遺伝子	文献
2007	Li <i>et al</i>	4,371人 [1,301人]	イタリア人Sardinia [イタリア人Chianti]	GLUT9/SLC2A9, PJA2	9
2008	Döring <i>et al</i>	1,644人 [4,162人] [4,066人] [1,719人]	ドイツ人Augsberg [ドイツ人Augsberg] [ドイツ人Pomerania] [オーストリア人Salzburg]	GLUT9/SLC2A9	10
2008	Vitart <i>et al</i>	986人 [708人]	クロアチア人 [イギリス人Orkney島]	GLUT9/SLC2A9	11
2008	McArdle <i>et al</i>	868人	ドイツ系アメリカ人	GLUT9/SLC2A9	12
2008	Dehghan <i>et al</i>	7,699人 4,148人 11,024人 3,843人	ヨーロッパ系白人 オランダ人Rotterdam アメリカ人白人 アメリカ人黒人	GLUT9/SLC2A9, ABCG2 SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3 gene cluster	15
2009	Kolz <i>et al</i>	28,141人	ヨーロッパ人(メタ解析)	GLUT9/SLC2A9, ABCG2 SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3 gene cluster URAT1/SLC22A12, OAT4/SLC22A11 MCT9/SLC16A9, PDZK1, GCKR LRRC16A-SCGN gene cluster	16
2010	Kamatani <i>et al</i>	14,700人	日本人	URAT1/SLC22A12, GLUT9/SLC2A9 ABCG2, LRP2	17
2010	Yang <i>et al</i>	22,054人	欧米白人(メタ解析)	GLUT9/SLC2A9, ABCG2 OAT4/SLC22A11 SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3-SLC17A2 gene cluster GCKR, INHBC, RREB1, PDZK1	18

[]はreplication studyの対象を示す。松尾洋孝ら: Annual Review糖尿病・代謝・内分泌2012 (2012): 145-154より改変。

III 痛風・高尿酸血症

1. 痛風・高尿酸血症の主要な病因遺伝子

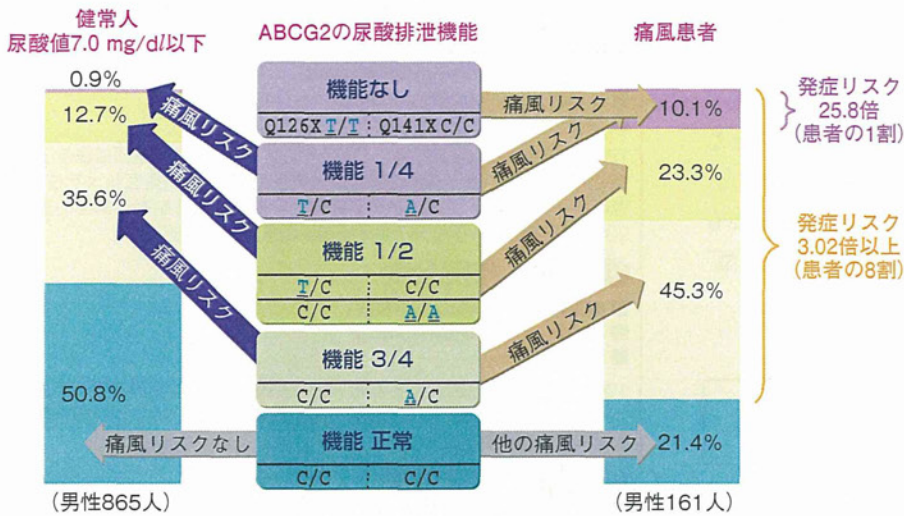
生活習慣病の1つである痛風や高尿酸血症の要因は、肥満や高プリン食の摂食過多といった環境要因に加え、遺伝的な要因が考えられていた。近年の遺伝子解析技術の進歩により、ゲノムワイド連鎖解析 (genome-wide linkage analysis)¹⁴⁾ やGWAS^{15)~18)} が導入され、ヒトゲノム全体において痛風や血清尿酸値の変動に関わる遺伝子多型の解析が可能になってきた。特に、GWASなどの網羅的な遺伝子解析により、尿酸トランスポーター遺伝子を含む複数の遺伝子が同定されている(表1)。それらの遺伝子のうち、ABCG2というトランスポーター遺伝子は尿酸排泄トランスポーターをコードし、痛風の主要な原因遺伝子であることが報告された⁵⁾。特に、この遺伝子ABCG2において、“Q126X”変異(126番目のアミノ酸であるグルタミン(Q)に対応するコドンが終止コドン(X)となる変異)および“Q141K”変異(141番目のアミノ酸であるグルタミン(Q)に対応するコドンがリジン(K)となる変異)の2種類のSNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型)の組み合わせによりABCG2の機能低下を来た

すことが痛風の発症に関与していることがわかった(図2)。健常人男性(血清尿酸値が7.0 mg/dl以下)と男性痛風症例との比較解析において、痛風症例の約8割に何らかのABCG2機能低下を認め、ABCG2の機能異常が痛風発症リスクを3倍以上、上昇させることがわかった。また、重度のABCG2機能低下(ABCG2機能が正常の1/4以下)を認める男性の場合は、痛風発症リスクが25.8倍にも上ることがわかった。これらの所見は、ABCG2が痛風の主要な原因遺伝子であることを示唆する(図3)。

痛風と関連する遺伝子はABCG2以外にも複数同定されているが、ABCG2ほどの高いリスクを呈し高頻度に遺伝子多型が認められるものはこれまでに報告されていない⁸⁾。

2. 高尿酸血症の新しい病型概念

尿酸排泄トランスポーターABCG2の尿酸排泄能に着目した筆者らの研究は、これまでの内科教科書に記載されている高尿酸血症の病型分類とは異なる新しい病型概念の提唱につながった¹⁹⁾。644人の高尿酸血症患者の尿検体を用いて尿酸排泄を調べたところ、ABCG2の変異により尿酸排泄機能が低下すると腎臓からの尿酸排泄量は予想に反して増加することがわかった。このようなABCG2尿酸排泄機能の低下



■図3 ABCG2の機能低下と痛風のリスク

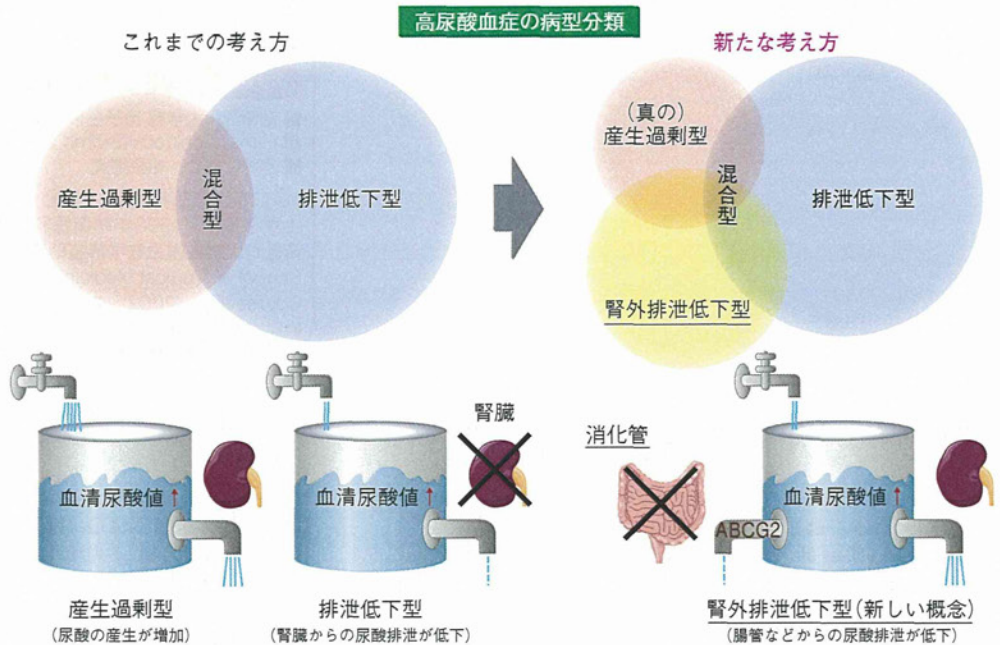
尿酸排泄トランスポーターであるABCG2の尿酸排泄機能の個人差および痛風発症の関係を示す。痛風患者の約8割でABCG2の機能異常が見られ、ABCG2遺伝子の変異が痛風発症のリスクを上げることから、ABCG2が痛風の主要病因遺伝子であることがわかる。Matsuo H, et al: Sci Transl Med (2009) 1: 5ra11より改変。

症例は、高尿酸血症患者全体の約8割(76%)に認められた。さらに、このようなABCG2の機能低下があると、従来の病型分類における“産生過剰型”高尿酸血症に最大で約2.3倍なりやすいこともわかった。次に、Abcg2ノックアウトマウス(尿酸排泄トランスポーターの機能を欠失させた遺伝子改変動物)を用いて尿酸排泄を見たところ、ABCG2の機能低下を伴うヒトの高尿酸血症例と同様、血清尿酸値は上昇し、腎臓からの尿酸排泄も増加した。一方、腸管から糞中への尿酸排泄は有意に減少していた。つまり、ABCG2/Abcg2遺伝子に異常が起こり尿酸排泄機能が低下すると、腸管から糞中への尿酸排泄量は減少し、血清尿酸値が上昇する。そのため腎臓には過剰な尿酸負荷がかかる。したがって、腎臓では尿細管における尿酸排泄トラン

スポーター(ABCG2/Abcg2)の機能が低下しているにもかかわらず、尿酸は糸球体を通して原尿中へオーバーフローを起こし、結果として尿中の尿酸排泄量が増加するという新たな発症メカニズムが明らかになった(図4)。

従来の高尿酸血症の病型分類は、尿中への尿酸排泄量および排泄率を基準としているため、尿中に尿酸が多く排泄されることは、体内で尿酸が多く作られる“産生過剰型”または産生過剰と排泄低下の混じった“混合型”を意味していた。しかし、筆者らの研究結果¹⁹⁾は、尿酸排泄トランスポーターの純粋な機能低下により腸管など腎臓以外からの尿酸排泄が低下しても、従来の概念では“産

生過剰型”または“混合型”に分類されてしまうことを示している。これは、今まで無視されがちであった腸管からの尿酸



■図4 高尿酸血症の新しい病型概念

ABCG2の変異による腸管からの尿酸排泄機能低下は血清尿酸値の上昇をもたらす。結果として腎臓からの尿酸排泄の増加につながる。この際、尿酸の産生過剰はない(腎外排泄低下型)。これは従来の病型の考え方では説明のできない現象である。ABCG2の尿酸排泄能に着目した筆者らの研究は、“(従来の)産生過剰型”を“腎負荷型”とし、“(真の)産生過剰型”と“腎外排泄低下型”を含むものとする新しい高尿酸血症の概念の提唱につながった。Ichida K, et al: Nat Commun (2012) 3: 764より改変。

排泄の重要性を示すものである。また、尿酸の産生過剰でない病態を“産生過剰型”と分類してしまうことにも問題がある。筆者らの調査では、多数の高尿酸血症例で腎外排泄低下のメカニズムが発症に関与しており、高尿酸血症の原因として新たに“腎外排泄低下型”という概念を筆者らは提唱した。また、“腎外排泄低下型”と“(真の)産生過剰型”を併せたもの(従来の分類における“産生過剰型”に相当)を“腎負荷型”と呼称することも提唱している¹⁹⁾(図4)。

おわりに

尿酸トランスポーターを介した生理学的な尿酸輸送機構の全容が明らかになりつつあり、その機能の破綻による疾患、すなわち腎性低尿酸血症や痛風・高尿酸血症の分子病態についても明らかになってきている。特に、*ABCG2*に関する詳細な解析の結果、高尿酸血症発症の新しいメカニズムが明らかにされた。このような解析は、新たな視点からの高尿酸血症の予防法や治療薬開発への道を開くものである。今後、*ABCG2*遺伝子解析による個人差に応じた医療が進展し、ゲノムテラーメド医療の先駆的なモデルとなることが大いに期待される。

PROFILE 松尾洋孝

- 防衛医科大学校 分子生体制御学講座
- E-mail: hmatsuo@ndmc.ac.jp
- 趣味: 研究, 食べ歩き, 旅行

1995年防衛医科大学校卒業。1997年防衛医科大学校病院研修医修了。1999年杏林大学医学部薬理学教室研究生。2002年防衛医科大学校生理学第一講座助手。2007年防衛医科大学校分子生体制御学講座助教。2010年防衛医科大学校分子生体制御学講座講師、現在に至る。

PROFILE 市田公美

- 東京薬科大学 病態生理学教室
- E-mail: ichida@toyaku.ac.jp
- 趣味: スキー

1982年東京慈恵会医科大学卒業。東京慈恵会医科大学附属病院研修医。1998年東京慈恵会医科大学腎臓・高血圧内科講師。2007年東京薬科大学病態生理学教室教授。

PROFILE 高田龍平

- 東京大学医学部附属病院 薬剤部
- E-mail: tappei-ky@umin.ac.jp
- 趣味: 若い娘と遊ぶ(自分の娘)

1999年東京大学薬学部卒業。2004年東京大学大学院薬学系研究科博士後期課程修了。同年より東京大学医学部附属病院薬剤部助手(2007年より助教)。

PROFILE 中山昌喜

- 防衛医科大学校 分子生体制御学講座
- E-mail: aknak@ndmc.ac.jp
- 趣味: 読書, ゲーム

2006年防衛医科大学校卒業。2008年防衛医科大学校病院研修医修了。航空自衛隊基地勤務を経て、2010年より防衛医科大学校分子生体制御学講座専門研修医。

PROFILE 四ノ宮成祥

- 防衛医科大学校 分子生体制御学講座
- E-mail: shinomi@ndmc.ac.jp
- 趣味: 釣り, 絵画鑑賞

1983年防衛医科大学校卒業。1991年防衛医科大学校医学研究科博士課程修了。1993年防衛医科大学校生物学講座助教授。1997年防衛医科大学校微生物学講座助教授。2000年英国リバプールLiverpool School of Tropical Medicine, Diploma Tropical Medicine & Hygiene Course修了。2002~2004年米国ミシガン州Van Andel Research Institute招聘研究員。2007年防衛医科大学校分子生体制御学講座教授。

文献

- 1) Wu XW, et al: Proc Natl Acad Sci USA (1989) 86: 9412-9416
- 2) Enomoto A, et al: Nature (2002) 417: 447-452
- 3) Matsuo H, et al: Am J Hum Genet (2008) 83: 744-751
- 4) Woodward OM, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2009) 106: 10338-10342
- 5) Matsuo H, et al: Sci Transl Med (2009) 1: 5ra11
- 6) Kawamura Y, et al: Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids (2011) 30: 1105-1111
- 7) 松尾洋孝: 遺伝子医学MOOK (2010) 19: 116-125
- 8) 松尾洋孝: 痛風と核酸代謝 (2010) 34: 159-169
- 9) Li S, et al: PLoS Genet (2007) 3: e194
- 10) Döring A, et al: Nat Genet (2008) 40: 430-436
- 11) Vitart V, et al: Nat Genet (2008) 40: 437-442
- 12) McArdle PF, et al: Arthritis Rheum (2008) 58: 2874-2881
- 13) 松尾洋孝ら: Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌2012 (2012): 145-154
- 14) Cheng LS, et al: Am J Hum Genet (2004) 75: 498-503
- 15) Dehghan A, et al: Lancet (2008) 372: 1953-1961
- 16) Kolz M, et al: PLoS Genet (2009) 5: e1000504
- 17) Kamatani Y, et al: Nat Genet (2010) 42: 210-215
- 18) Yang Q, et al: Circ Cardiovasc Genet (2010) 3: 523-530
- 19) Ichida K, et al: Nat Commun (2012) 3: 764

ARTICLE

Received 2 Nov 2011 | Accepted 20 Feb 2012 | Published 3 Apr 2012

DOI: 10.1038/ncomms1756

Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia

Kimiyoshi Ichida^{1,2,*}, Hirotaka Matsuo^{3,*}, Tappei Takada^{4,*}, Akiyoshi Nakayama^{3,5}, Keizo Murakami⁴, Toru Shimizu⁶, Yoshihide Yamanashi⁴, Hiroshi Kasuga⁴, Hiroshi Nakashima⁷, Takahiro Nakamura^{8,9}, Yuzo Takada¹⁰, Yusuke Kawamura³, Hiroki Inoue³, Chisa Okada³, Yoshitaka Utsumi³, Yuki Ikebuchi⁴, Kousei Ito⁴, Makiko Nakamura¹, Yoshihiko Shinohara¹, Makoto Hosoyamada¹¹, Yutaka Sakurai⁷, Nariyoshi Shinomiya³, Tatsuo Hosoya² & Hiroshi Suzuki⁴

ABCG2, also known as BCRP, is a high-capacity urate exporter, the dysfunction of which raises gout/hyperuricemia risk. Generally, hyperuricemia has been classified into urate 'overproduction type' and/or 'underexcretion type' based solely on renal urate excretion, without considering an extra-renal pathway. Here we show that decreased extra-renal urate excretion caused by ABCG2 dysfunction is a common mechanism of hyperuricemia. Clinical parameters, including urinary urate excretion, are examined in 644 male outpatients with hyperuricemia. Paradoxically, ABCG2 export dysfunction significantly increases urinary urate excretion and risk ratio of urate overproduction. *Abcg2*-knockout mice show increased serum uric acid levels and renal urate excretion, and decreased intestinal urate excretion. Together with high ABCG2 expression in extra-renal tissues, our data suggest that the 'overproduction type' in the current concept of hyperuricemia be renamed 'renal overload type', which consists of two subtypes—'extra-renal urate underexcretion' and genuine 'urate overproduction'—providing a new concept valuable for the treatment of hyperuricemia and gout.

¹ Department of Pathophysiology, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, 1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan. ² Division of Kidney and Hypertension, Department of Internal Medicine, Jikei University School of Medicine, 3-19-18 Shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8471, Japan. ³ Department of Integrative Physiology and Bio-Nano Medicine, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan. ⁴ Department of Pharmacy, The University of Tokyo Hospital, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan. ⁵ Third Division, Aeromedical Laboratory, Japan Air Self-Defense Force, 2-3 Inariyama, Sayama, Saitama 350-1324, Japan. ⁶ Midorigaoka Hospital, 3-13-1 Makami-cho, Takatsuki, Osaka 569-1121, Japan. ⁷ Department of Preventive Medicine and Public Health, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan. ⁸ Laboratory for Mathematics, Premedical Course, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan. ⁹ Laboratory for Statistical Analysis, Center for Genomic Medicine, Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan. ¹⁰ Laboratory for Biofunctions, The Central Research Institute, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa, Saitama 359-8513, Japan. ¹¹ Department of Human Physiology and Pathology, Teikyo University School of Pharmaceutical Sciences, 2-11-1 Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173-8605, Japan. *These authors contributed equally to this work. Correspondence and requests for materials should be addressed to K. Ichida (ichida@toyoku.ac.jp).

Hyperuricemia induces gout and kidney stones and accelerates the progression of renal and cardiovascular diseases^{1,2}. Unlike other mammals, hominoids, including humans, show high serum uric acid levels (SUAs), because uric acid (urate) is the end product in the purine metabolism owing to the lack of the urate-degrading enzyme uricase³. It is commonly accepted that two-thirds of the urate is excreted from the kidney into urine via the 'renal excretion' pathway, and the remaining third via the 'extra-renal excretion' pathway, such as gut excretion^{4,5}. Hyperuricemia has been clinically classified into the urate 'overproduction' type, the 'underexcretion' type, and the 'combined' type. This classification is, however, based solely on the amount of renal urate excretion and urate clearance^{6–9}, and extra-renal excretion, for example, via the gut excretion pathway, is not considered.

The kidney has been recognized as a main regulator of SUA and renal urate excretion is determined by the balance of the reabsorption and secretion of urate. Renal urate reabsorption is mainly mediated by two urate transporters; urate transporter 1 (URAT1, also known as SLC22A12)¹⁰ and glucose transporter 9 (GLUT9, also known as SLC2A9 (refs 11–15)). Recent genome-wide association studies of SUA identified the involvement of several transporter genes including ATP-binding cassette transporter, sub-family G, member 2 (*ABCG2*, also known as *BCRP*^{16–18}). The *ABCG2* gene locates in a gout-susceptibility locus on chromosome 4q, which was previously demonstrated by a genome-wide linkage study of gout¹⁹. Woodward *et al.* and our group independently found that *ABCG2* transports urate and shows the reduced urate transport by a half-functional variant, Q141K (rs2231142)^{20,21}. In addition, *ABCG2* has been identified as a high-capacity urate exporter that would mediate renal and/or extra-renal urate excretion²¹. We also showed that common dysfunctional genotype combinations of *ABCG2* gene (Q126X (rs72552713) and Q141K) are a major cause of gout²¹.

In this study, we investigated the relationship between *ABCG2* dysfunction and urate excretion in hyperuricemia patients and mouse model. We found that decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia, which has not been considered in the current pathophysiological concept of hyperuricemia.

Results

Renal urate excretion in hyperuricemia patients. We investigated the relationship between *ABCG2* dysfunction and renal urate excretion in hyperuricemia patients in this study. The characteristics and genotypes of the participants are summarized in Supplementary Tables S1 and S2, respectively. The patients' types of hyperuricemia were determined according to the classification of hyperuricemia (Fig. 1), which is based on the patient's urinary urate excretion (UUE) and fractional excretion of urate clearance (urate clearance/creatinine clearance ratio, FE_{UA}). The risk allele frequency of Q126X (risk allele, X) and Q141K (risk allele, K), among 644 male outpatients with hyperuricemia including 575 gout cases, was 4.1 and 45.9%, respectively. Those who had Q126X and Q141K variants were 8.1 and 71.9%, respectively, of all patients (Supplementary Table S2). Subsequent haplotype frequency analysis revealed that the minor alleles of Q126X and Q141K were in different haplotypes (Supplementary Table S3), which indicated that these variants were independent risks, as reported previously²¹. Therefore, we could estimate urate export function of *ABCG2* by the combination of two common variants, non-functional Q126X and half-functional Q141K (Supplementary Fig. S1). Patients were then divided into four groups by genetically estimated *ABCG2* function²¹; that is, full function, 3/4 function (mild dysfunction), 1/2 function (moderate dysfunction) and $\leq 1/4$ function (severe dysfunction) (Supplementary Table S4). Altogether, 75.6% of all patients had *ABCG2* dysfunction.

Figure 2a shows the association between *ABCG2* function and UUE. Contrary to the general understanding that *ABCG2*

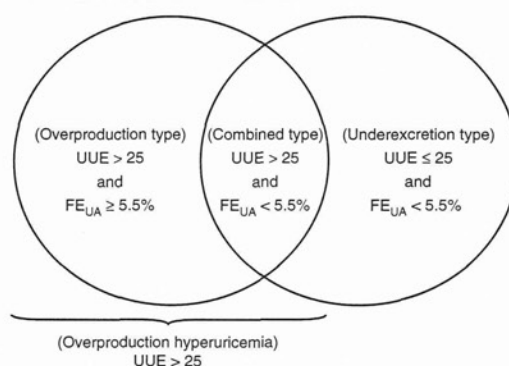


Figure 1 | Current classification of hyperuricemia. Classification of hyperuricemia is based on UUE and fractional excretion of urate (FE_{UA}). In this study, patients were classified as overproduction hyperuricemia, when their UUE was over $25.0 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$ ($600 \text{ mg per day}/1.73 \text{ m}^2$). Those who had FE_{UA} under 5.5% were classified as underexcretion hyperuricemia. Combined type was classified when their UUE and FE_{UA} met the criteria of both overproduction and underexcretion hyperuricemia. Patients who met the single criterion of overproduction hyperuricemia, excluding combined type, were defined as overproduction type. In addition to the types shown in this figure, there is a 'normal type' whose UUE is $\leq 25 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$ and FE_{UA} is $\geq 5.5\%$. UUE unit, $\text{mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$.

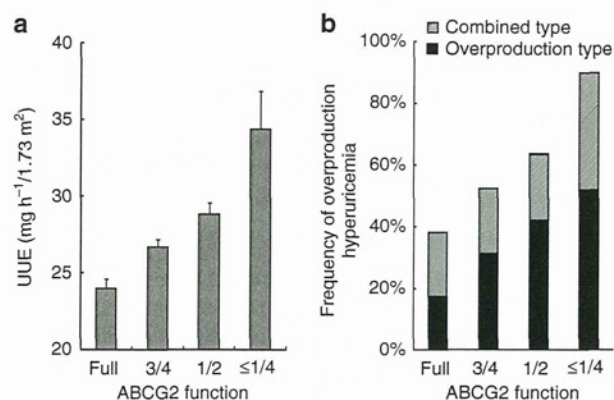


Figure 2 | Increase of UUE and the frequency of overproduction hyperuricemia by *ABCG2* dysfunction. (a) UUE according to each *ABCG2* function ($n = 644$). Patients with hyperuricemia were divided into four groups by their estimated *ABCG2* functions, that is, full function, 3/4 function, 1/2 function and $\leq 1/4$ function. UUE showed an inverse association with *ABCG2* functions ($P = 3.60 \times 10^{-10}$ by simple linear regression analysis). All bars show mean \pm s.e.m. (b) Frequency of 'overproduction' hyperuricemia according to each *ABCG2* function. 'Overproduction' hyperuricemia consists of overproduction type and combined type.

dysfunction leads to decreased renal urate excretion, UUE is significantly increased by *ABCG2* dysfunction ($P = 3.60 \times 10^{-10}$). Whereas the mean UUE level of patients with full *ABCG2* function was $24.0 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$, that of patients with severe dysfunction ($\leq 1/4$ function) was $34.3 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$, showing an increase of 42.9%. The frequency of 'overproduction' hyperuricemia ($\text{UUE} > 25 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$), which consists of overproduction type and combined type (Fig. 1), is also increased by *ABCG2* dysfunction; the ratio of 'overproduction' hyperuricemia was 38.2% in patients with full function, and reached 89.7% in those with severe dysfunction (Fig. 2b). Severe *ABCG2* dysfunction especially raised

Table 1 | Relationship between overproduction hyperuricemia and ABCG2 dysfunction.

Estimated transport activity	Genotype		N	Frequency of OP hyperuricemia	RR	95% CI	P	Adjusted RR†	Adjusted 95% CI†	Adjusted P†
	Q126X (rs72552713)	Q141K (rs2231142)								
≤1/4 Function	X/X Q/X	Q/Q Q/K	26	3	0.897	2.35 1.86–2.97	3.32×10^{-7}	2.30	1.31–3.90	2.65×10^{-3}
1/2 Function	Q/X Q/Q	Q/Q K/K	96	55	0.636	1.66 1.32–2.10	8.58×10^{-6}	1.79	1.25–2.59	1.55×10^{-3}
3/4 Function	Q/Q	Q/K	160	147	0.521	1.36 1.09–1.71	4.55×10^{-3}	1.42	1.03–2.00	0.035
Full function	Q/Q	Q/Q	60	97	0.382	1.00				

Abbreviations: CI, confidence interval; OP, overproduction; RR, risk ratio.

*Patients were classified as OP hyperuricemia (OP type and combined type) when their UUE was over $25.0 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$ (600 mg per day/1.73 m²).

UUE was normalized for a body surface area of 1.73 m². Other patients were classified as non-OP hyperuricemia.

†Using Poisson regression analysis, RR, 95% CI, and P value are adjusted with covariates of body mass index, alcohol intake, and single nucleotide polymorphisms of urate-related genes (rs506338 in URAT1, rs11722228 in GLUT9 and rs12129861 in PDZK1).

the risk of 'overproduction' hyperuricemia, conferring a risk ratio (RR) of 2.35 (95% CI 1.86–2.97; $P = 3.32 \times 10^{-7}$) (Table 1). In addition, moderate and mild dysfunction also significantly increased the risk of 'overproduction' hyperuricemia, conferring an RR of 1.66 (95% CI 1.32–2.10; $P = 8.58 \times 10^{-6}$) and 1.36 (95% CI 1.09–1.71; $P = 4.55 \times 10^{-3}$), respectively. Risk of overproduction hyperuricemia was still significant after adjustment (Table 1). These results clearly demonstrate that ABCG2 dysfunction increases UUE, thereby leading to increased frequency of 'overproduction' hyperuricemia. This seems paradoxical in light of the current concept of hyperuricemia, but it would be understandable if extra-renal excretion via ABCG2 has a physiologically significant role in urate regulation.

Abcg2 dysfunction and urate excretion in mice. Next, we investigated how ABCG2 dysfunction affected the urate excretion pathways and re-evaluated the current concept of hyperuricemia based on ABCG2 dysfunction. The evaluation of gut urate excretion in humans is intrinsically difficult because urate excreted into the intestinal lumen is rapidly metabolized by bacterial flora. To solve this problem, we introduced an animal model in which urate excretion through the gut is easily achievable by invasive sampling. Also, *Abcg2*-knockout mice were treated with oxonate, a uricase inhibitor, so that the urate metabolism of this model mimicked that of humans that lacks the urate degrading enzyme, uricase²². First, mouse *Abcg2* is revealed to mediate urate transport (Fig. 3a) using the membrane vesicle system prepared from HEK293 cells that express mouse *Abcg2*. The export process by mouse *Abcg2* was ATP-dependent and not saturable under the physiological concentration of urate (Fig. 3a), indicating high-capacity urate transport activity by *Abcg2*. Another functional analysis demonstrated that oxonate has no hazardous effect on the *Abcg2*-mediated urate transport (Fig. 3b). We then tried to characterize the excretion of urate into urine, bile and intestinal lumen using the *in vivo* mouse model. As shown in Fig. 3c, SUA of *Abcg2*-knockout mice was significantly higher than that of control mice ($P = 8.8 \times 10^{-6}$), which is consistent with the increase of SUA in humans with ABCG2 dysfunction²¹. Under this condition, the urinary urate/creatinine ratio was significantly increased in *Abcg2*-knockout mice ($P = 4.1 \times 10^{-4}$) (Fig. 3d), which also corroborates the observation in humans (Fig. 2a). On the other hand, the urate excretion from the intestine was significantly lower in *Abcg2*-knockout mice (Fig. 3e), which is supported by the

similar results of the transintestinal urate transport experiment (Fig. 3f; Supplementary Fig. S2). Calculated velocity of the intestinal urate excretion in *Abcg2*-knockout mice was less than a half of that in control mice ($P = 3.6 \times 10^{-4}$) (Fig. 3g), whereas biliary urate excretion showed no significant difference regardless of *Abcg2* genotype (Fig. 3g). From these results, we estimated the relative contribution of each pathway to the total urate excretion; in wild-type mice, the UUE pathway contributes approximately two-thirds, and the intestinal excretion pathway contributes one-third of the total urate excretion, whereas the urate excretion into bile is 2.2% of the total urate excretion (Fig. 3h). The ratio of each urate excretion pathway is consistent with the previous literature about the estimation of urate excretion pathways in humans^{4,5}. As a result of decreased intestinal excretion, the urate excretion in *Abcg2*-knockout mice was much more dependent on the urinary excretion pathway (Fig. 3h). Furthermore, the small contribution of biliary urate excretion in mice (Fig. 3h) is also consistent with a report of human urate excretion, which shows that biliary urate excretion consists of less than 5 percent of the total urate excretion²³. Taken together, ABCG2 is suggested to have an important role in extra-renal urate excretion, especially in intestinal urate excretion. Accordingly, increased SUA in patients with ABCG2 dysfunction can be explained by the decreased excretion of urate from the intestine.

Discussion

We found that the decrease in urate exporter ABCG2 function in hyperuricemic patients is associated with the increase of UUE and frequency of overproduction hyperuricemia, which consists of the overproduction type and the combined type. Also, any ABCG2 dysfunction caused by common dysfunctional variants significantly raised the risk of overproduction hyperuricemia. *Abcg2*-knockout mice treated with oxonate showed increased renal urate excretion as well as SUA and decreased intestinal urate excretion, compared with those of wild-type mice. These findings indicate that the decrease in extra-renal urate excretion via dysfunctional ABCG2 is a common mechanism of hyperuricemia, which has been currently mistaken for urate 'overproduction' due to increased UUE.

Three main transporters have been confirmed to regulate SUA in humans; a secretion transporter ABCG2 and two urate reabsorption transporters, URAT1 (ref. 10) and GLUT9 (refs 14,15). In addition, urate transporters including ABCG2 and URAT1 are regulated

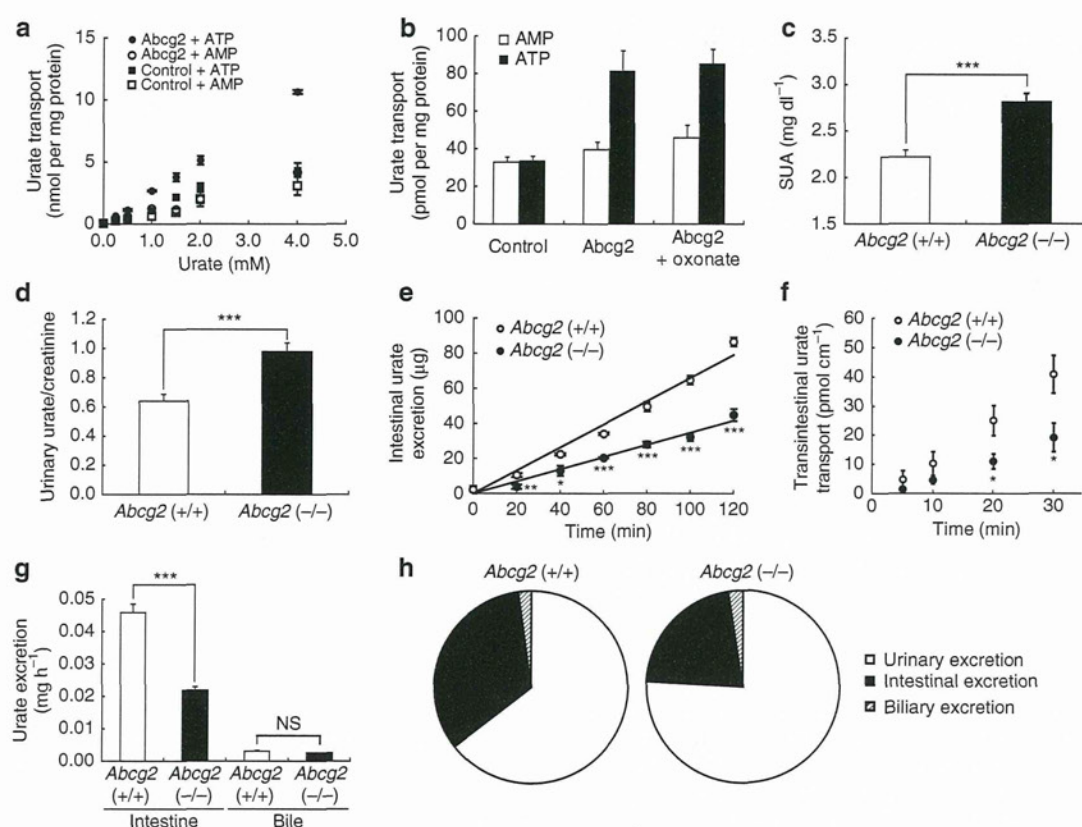


Figure 3 | Urate excretion via *Abcg2* in a mouse model. (a) Concentration-dependent urate transport via *Abcg2* ($n=3$). (b) Effect of oxonate on *Abcg2*-mediated urate transport ($n=3$). (c–e, g, h) *In vivo* study using *Abcg2*-knockout and wild-type mice. (c) Serum uric acid (SUA) levels ($n=19$ – 20). *** $P=8.8\times 10^{-6}$. (d) Urinary excretion of urate ($n=10$ – 11). *** $P=4.1\times 10^{-4}$. (e) Time course of intestinal urate excretion ($n=4$). *** $P<0.001$; ** $P=0.0066$; * $P=0.021$. (f) Transintestinal urate transport ($n=3$ – 4). * $P=0.037$ and 0.034 for 20 min and 30 min, respectively. (g) Urate excretion in intestine and bile ($n=3$ – 4). *** $P=3.6\times 10^{-4}$. All bars show means \pm s.e.m. P values were obtained by Student's t -test. NS, not significant. (h) Relative contribution of urinary, intestinal and biliary urate excretion pathways.

by an adaptor protein, the PDZ domain containing-protein, PDZK1 (refs 24,25). Among these urate-related genes, dysfunctional variants of *ABCG2* are demonstrated as a major cause of gout and hyperuricemia^{20,21}. *ABCG2* is expressed on the apical membrane of several tissues including kidney²⁶, liver and intestine²⁷. As *ABCG2* is supposed to mediate renal urate excretion²⁰, the dysfunction of this molecule is expected to decrease UUE. The results in this study, however, show an opposite conclusion that the dysfunction of *ABCG2* results in an increase of UUE. This contradiction can be explained by two facts: kidney is not the only organ in which *ABCG2* is expressed^{27,28}, and one-third of urate excretion in humans depends on the extra-renal pathway such as gut excretion^{4,5,8}. Also, together with little intestinal expression of *URAT1* (ref. 10), our data from an animal model indicate that the decreased expression of *Urat1* in the kidney could partially account for the increased urate in urine in *Abcg2*-knockout mice (Fig. 3d, Supplementary Fig. S3). Therefore, it is reasonable that common dysfunction of *ABCG2* can cause a decrease of urate excretion via the extra-renal pathway rather than the renal pathway.

The current classification of hyperuricemia is based on the understanding of its mechanism by which hyperuricemia results from either overproduction of urate due to a metabolism disorder, underexcretion by abnormal renal urate transport activity, or the combination of the two. So far 'renal urate underexcretion' has been widely considered to be a main cause of hyperuricemia, and 'urate overproduction' is recognized as another common cause. A part

of hyperuricemia is definitely attributable to lifestyle factors such as consumption of an excessive amount of alcohol as well as high-calorie diet intake. However, even taking such factors into account, most causes of 'overproduction' hyperuricemia still cannot be explained. Many attempts have been made to elucidate the pathogenesis of 'overproduction' hyperuricemia. Nevertheless, no study has succeeded in identifying the exact mechanism of urate overproduction except some urate metabolism disorders²⁹ including Lesch–Nyhan syndrome (hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase deficiency), accelerated purine nucleotide degradation and accelerated ATP breakdown. Our findings indicate that a major cause of 'overproduction' hyperuricemia is not true overproduction of urate but rather 'extra-renal urate underexcretion' by common *ABCG2* dysfunction. We also suggest that re-classification of hyperuricemia is necessary because 'overproduction' hyperuricemia in the current classification is only defined by the result of UUE value and does not represent a correct pathophysiological condition. Therefore, our data lend support to the idea that 'overproduction type' in the current classification of hyperuricemia should be renamed 'renal overload type,' which includes subtypes of 'extra-renal underexcretion' and genuine 'overproduction' (Fig. 4).

In this study, we suggest a common mechanism of hyperuricemia by decreased extra-renal excretion due to *ABCG2* dysfunction. Therefore, *ABCG2* could be a promising target for urate-lowering medications without adverse effects such as urolithiasis. Our findings and proposal would serve to correct the long-misunderstood

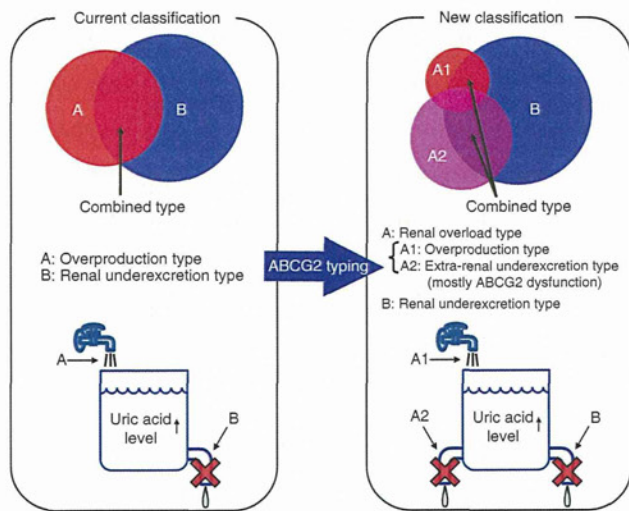


Figure 4 | Pathophysiological model and proposed new classification of hyperuricemia. Hyperuricemia is currently classified into urate ‘overproduction type’ (A), ‘renal underexcretion type’ (B), and combined type. Taking extra-renal urate excretion into account, we propose a testable model by which ‘overproduction type’ be renamed ‘renal overload type’ (A), consisting of two subtypes, genuine ‘overproduction’ (A1) and ‘extra-renal underexcretion’ (A2).

pathophysiology of hyperuricemia. This new concept will help pinpoint the causes of hyperuricemia more accurately and provide a more effective therapeutic strategy for hyperuricemia and gout, leading to a good model of personalized medicine for common diseases.

Methods

Study participants. This study was approved by the institutional ethical committees, and all procedures involved in this study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki. Hyperuricemia patients were diagnosed when their SUAs were higher than 7.0 mg dl^{-1} , and gout cases were also clinically diagnosed as primary gout according to the criteria established by the American College of Rheumatology³⁰. All hyperuricemic subjects and primary gouty patients were eligible, when written consent was obtained at the gout clinics of either Jikei University Hospital (Tokyo, Japan) or Midorigaoka Hospital (Osaka, Japan). The following patients were excluded; patients without information on clinical parameters shown in Supplementary Table S1, or those with inherited metabolism disorders including Lesch-Nyhan syndrome. Finally, 644 male outpatients, including 575 gout cases, were registered as valid participants.

Clinical parameters for urate handling. Clinical parameters including SUA, amount of UUE and fractional excretion of urate clearance (urate clearance/creatinine clearance ratio, FE_{UA}) were measured for each patient after diet education, concerning low-purine and calorie-controlled diet, as well as less fructose and alcohol intake^{31,32}. Clinical parameters before taking medications for hyperuricemia were used in this study. Both UUE and FE_{UA} were calculated after a few-hour urine collection. UUE was normalized for a body surface area of 1.73 m^2 . In this study, patients were classified as overproduction hyperuricemia when their UUE was over $25.0 \text{ mg h}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$ ($600 \text{ mg day}^{-1}/1.73 \text{ m}^2$)^{7,8,33}. Those who had FE_{UA} under 5.5% were classified as underexcretion hyperuricemia³⁴ on the basis of the normal FE_{UA} range (5.5–11.1%)³⁵. Combined type was classified when their UUE and FE_{UA} met the criteria of both overproduction and underexcretion hyperuricemia (Fig. 1). Patients who met the single criterion of overproduction hyperuricemia, excluding combined type, were defined as overproduction type.

Genetic analysis. Genomic DNA was extracted from whole peripheral blood cells³⁶. Genotyping was performed by high-resolution melting analysis with a LightCycler 480 (Roche Diagnostics)²¹, or by an allelic discrimination assay (Custom Taqman MGB, Applied Biosystems) with a 7700 detector (Applied Biosystems)³⁷. To confirm their genotypes, more than 100 samples were subjected to direct sequencing with primers shown in Supplementary Table S5. DNA sequencing analysis was performed with a 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems)²¹. The export function of ABCG2 was then estimated from the

combinations of ABCG2 variants, rs72552713 (Q126X) and rs2231142 (Q141K), and divided into four functional groups²¹; that is, full function, 3/4 function (mild dysfunction), 1/2 function (moderate dysfunction) and $\leq 1/4$ function (severe dysfunction).

Experimental assessment for urate excretion pathways. Mouse *Abcg2* complementary DNA (GenBank accession number NM_011920) was inserted into the *Not I* site of pcDNA3.1(+) vector plasmid (Invitrogen), with a myc-tag sequence attached at the 5′-end. The wild-type human ABCG2 cDNA (GenBank accession number NM_004827) or mutated (Q126X and Q141K) ABCG2 cDNA was inserted into the *Nhe I* and *Apa I* sites of pcDNA3.1(+) vector plasmid, with a myc-tag sequence attached at the 5′-end²¹. To prepare membrane vesicles, HEK293 cells were transiently transfected with the expression vector for *Abcg2*/ABCG2 or empty vector (control) by FuGENE6 (Roche Diagnostics), according to the manufacturer’s instructions. Forty-eight hours later, cells were collected and the membrane vesicles were isolated by a standard method with repeated centrifugation and homogenization³⁸. After the expression of *Abcg2* protein was confirmed by western blot analysis, the uptake studies of [¹⁴C]urate (28 μM , American Radiolabeled Chemicals) were performed by a standard protocol for transport assays with membrane vesicles³⁹. All other chemicals used in this study were commercially available and of reagent-grade.

Male *Abcg2*-knockout mice (FVB.129P2-*Abcg2*, Taconic) and control FVB mice of 27–33 g were fed 2.0% (w/w) potassium oxonate for more than 1 week, as reported earlier⁴⁰. Concentrations of urate and creatinine in collected serum and urine samples were determined by QuantiChrom Uric Acid Assay Kit (Bioassay systems) and Creatinine Assay Kit (Cayman Chemical Company). To analyze the intestinal urate excretion, mice fasted overnight were anaesthetized by intraperitoneal injection of urethane and cannulated with polyethylene tubing (Hibiki Size 8) (Kunii Co.) at the upper duodenum and the middle jejunum to make an intestinal loop at the upper half of the intestine. After the intestinal contents were removed by the slow infusion of saline and air, the efflux buffer (saline containing 0.3 mM potassium oxonate) was introduced into the intestinal loop, and both ends of the loop were closed with syringes. After the indicated periods, the efflux buffer in the loop was collected by syringes and urate concentrations were quantified. Intestinal urate excretion was calculated from the following equation:

$$[\text{Intestinal urate excretion}] = [\text{Urate concentration in the intestinal loop}] \times [\text{Volume of efflux buffer in the intestinal loop}] \times [\text{Length of the wholesmall intestine}] / [\text{Length of the intestinal loop}]$$

To investigate the biliary urate excretion, mice were anaesthetized by intraperitoneal injection of urethane, the cystic duct was ligated and a common bile duct fistula was created using a Teflon catheter (UT-03) (Unique Medical). Urate in the hepatic bile specimens collected for 3 h was examined. Relative contribution of urinary, intestinal and biliary excretion pathways was estimated by the comparison of the calculated velocity of each pathway, for which the amount of daily urine is assumed to be 2 milliliters. Protocols were performed according to accepted criteria for humane care of experimental animals and approved by the review board of our institution for animal studies.

Western blot analysis. For western blot analysis, 5 μg of membrane vesicles diluted with 2 \times SDS loading buffer was separated on a 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis plate with a 3.75% stacking gel. Proteins were transferred electrophoretically onto an Immobilon membrane (Millipore) using a blotter (Bio-Rad Laboratories) at 15 V for 1 h. The membrane was blocked with Tris-buffered saline containing 0.05% Tween 20 (TBS-T) and 3% bovine serum albumin (BSA) for 1 h at room temperature. After washing with TBS-T, the membrane was incubated for 1 h at room temperature in TBS-T containing 0.1% BSA and anti-ABCG2/BCRP antibody (BXP-53, Abcam) (1:500, $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) for the detection of ABCG2, or anti- Na^+/K^+ -ATPase α antibody (Santa Cruz Biotechnology) (1:200, $1.0 \mu\text{g ml}^{-1}$) as a loading control of membrane proteins. For detection, the membrane was allowed to bind to a horseradish peroxidase-labelled secondary antibody (GE Healthcare) diluted 5,000-fold in TBS-T containing 0.1% BSA for 1 h at room temperature. The enzyme activity was assessed using an ECL Prime Western Blotting Detection System (GE Healthcare) with a luminescent image analyzer (Bio-Rad).

Transintestinal urate transport experiment. To demonstrate the intestinal transport of urate, the upper third of mice intestine specimens was collected and enteral contents were carefully removed. Next, both ends of the specimens were connected with syringes and the luminal sides were filled with 5 ml of Ringer Buffer (93.4 mM NaCl, 6.2 mM KCl, 2.0 mM KH_2PO_4 , 1.2 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.5 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pH 7.4, 37°C). Then, the specimens were incubated with [¹⁴C]urate (0.4 μM)-containing Ringer Buffer (pH 7.4, 37°C), pre-bubbled with mixed gas (95% O_2 and 5% CO_2) for 30 min. After incubation with indicated periods, 200 μl of luminal buffer was sampled followed by the addition of the same aliquot of the buffer. Syringes

were slowly pumped every 2.5 min to thoroughly mix the luminal buffer (Supplementary Fig. S2).

Quantitative real-time PCR. To determine messenger RNA levels of genes involved in urate transport, mice kidney specimens were homogenized in RNA iso plus (Takara) and extracted RNA was reverse-transcribed with ReverTra Ace (Toyobo). Quantitative real-time PCR was performed using 2× SYBR GREEN (Stratagene) and Chromo4 (BIO-RAD) at 95 °C 10 min followed by 40 cycles at 95 °C for 15 s, 50 °C for 30 s, and 72 °C for 40 s. We used primers for *Abcg2* (sense and antisense primers were 5'-aagcatagggatggagctga-3' and 5'-ctgtgcttgatc caaacca-3', respectively), *Urat1* (sense and antisense primers were 5'-atcatctccatgct gtgctg-3' and 5'-aagtcacacatcccgatgag-3' and 5'-ctgtgcttgatc caaacca-3', respectively), *Glut9* (sense and antisense primers were 5'-cgccctgctctcaaacctcggc-3' and 5'-ggcgaagacaggaagcag-3', respectively), *Pdzk1* (sense and antisense primers were 5'-atataatgctcaggcgtg-3' and 5'-atggctggcttctctacat-3', respectively) and β -*actin* (sense and antisense primers were 5'-ccggaagaaactgacagc-3' and 5'-gtgtgggtgaagctgtagcc-3', respectively).

Statistical analysis. Haplotype estimation was performed with the EM algorithm⁴¹. To investigate the association of ABCG2 functions and UUE, simple linear regression analysis was performed with UUE as a dependent variable and estimated function of ABCG2 as an independent variable. To evaluate the relationship between ABCG2 function and overproduction hyperuricemia, the risk ratio (RR) and its 95% CI were calculated by dividing the proportion of overproduction hyperuricemia in each function category by that in full function category. Poisson regression analysis was performed to obtain adjusted RR of ABCG2 dysfunction for overproduction hyperuricemia with possible confounding factors, such as body mass index, alcohol intake, single nucleotide polymorphisms of urate-related genes, rs11722228 (*GLUT9/SLC2A9*)¹⁸, rs506338 (*URAT1/SLC22A12*)¹⁸, and rs12129861 (*PDZK1*)¹⁷. For all calculations in the statistical analysis, software R (version 2.8.1) (<http://www.r-project.org/>) and SPSS (version 16.0) for Windows (SPSS) were used.

References

- Feig, D. L., Kang, D. H. & Johnson, R. J. Uric acid and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.* **359**, 1811–1821 (2008).
- Edwards, N. L. The role of hyperuricemia in vascular disorders. *Curr. Opin. Rheumatol.* **21**, 132–137 (2009).
- Yeldandi, A. V. *et al.* Human urate oxidase gene: cloning and partial sequence analysis reveal a stop codon within the fifth exon. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **171**, 641–646 (1990).
- Sorensen, L. B. Role of the intestinal tract in the elimination of uric acid. *Arthritis Rheum.* **8**, 694–706 (1965).
- Sica, D. A. & Schoolwerth, A. In *Brenner and Rector's The Kidney* (ed. B.M. Brenner) 645–649 (Saunders, 2004).
- Boss, G. R. & Seegmiller, J. E. Hyperuricemia and gout. Classification, complications and management. *N. Engl. J. Med.* **300**, 1459–1468 (1979).
- Becker, M. A. In *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* (eds Charles R. Scriver, Barton Childs, Kenneth W. Kinzler, & Bert Vogelstein) 2513–2535 (McGraw-Hill, 2001).
- Wortmann, R. L. In *Harrison's Principles of Internal Medicine* (eds Anthony S. Fauci *et al.*) 2444–2449 (McGraw-Hill, 2008).
- Ichida, K., Hosoyamada, M., Hosoya, T. & Endou, H. In *Genetic Diseases of the Kidney* (ed. Richard P. Lifton) 653–662 (Academic Press, 2009).
- Enomoto, A. *et al.* Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* **417**, 447–452 (2002).
- Li, S. *et al.* The GLUT9 gene is associated with serum uric acid levels in Sardinia and Chianti cohorts. *PLoS Genet.* **3**, e194 (2007).
- Döring, A. *et al.* SLC2A9 influences uric acid concentrations with pronounced sex-specific effects. *Nat. Genet.* **40**, 430–436 (2008).
- Vitart, V. *et al.* SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat. Genet.* **40**, 437–442 (2008).
- Anzai, N. *et al.* Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter URATv1 (SLC2A9) in humans. *J. Biol. Chem.* **283**, 26834–26838 (2008).
- Matsuo, H. *et al.* Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *Am. J. Hum. Genet.* **83**, 744–751 (2008).
- Dehghan, A. *et al.* Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet* **372**, 1953–1961 (2008).
- Kolz, M. *et al.* Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. *PLoS Genet.* **5**, e1000504 (2009).
- Kamatani, Y. *et al.* Genome-wide association study of hematological and biochemical traits in a Japanese population. *Nat. Genet.* **42**, 210–215 (2010).
- Cheng, L. S. *et al.* Genomewide scan for gout in Taiwanese aborigines reveals linkage to chromosome 4q25. *Am. J. Hum. Genet.* **75**, 498–503 (2004).
- Woodward, O. M. *et al.* Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 10338–10342 (2009).
- Matsuo, H. *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.* **1**, 5ra11 (2009).
- Fridovich, I. The competitive inhibition of uricase by oxonate and by related derivatives of s-triazines. *J. Biol. Chem.* **240**, 2491–2494 (1965).
- Sorensen, L. B. & Levinson, D. J. Origin and extrarenal elimination of uric acid in man. *Nephron* **14**, 7–20 (1975).
- Shimizu, T. *et al.* PDZK1 regulates breast cancer resistance protein in small intestine. *Drug Metab. Dispos.* **39**, 2148–2154 (2011).
- Anzai, N. *et al.* The multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 regulates transport activity of renal urate-anion exchanger URAT1 via its C terminus. *J. Biol. Chem.* **279**, 45942–45950 (2004).
- Huls, M. *et al.* The breast cancer resistance protein transporter ABCG2 is expressed in the human kidney proximal tubule apical membrane. *Kidney Int.* **73**, 220–225 (2008).
- Mallepaard, M. *et al.* Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res.* **61**, 3458–3464 (2001).
- Doyle, L. A. & Ross, D. D. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* **22**, 7340–7358 (2003).
- Zaka, R. & Williams, C. J. New developments in the epidemiology and genetics of gout. *Curr. Rheumatol. Rep.* **8**, 215–223 (2006).
- Wallace, S. L. *et al.* Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout. *Arthritis Rheum.* **20**, 895–900 (1977).
- Puig, J. G. & Mateos, F. A. Clinical and biochemical aspects of uric acid overproduction. *Pharm. World Sci.* **16**, 40–54 (1994).
- Perez-Ruiz, F., Calabozo, M., Erauskin, G. G., Ruibal, A. & Herrero-Beites, A. M. Renal underexcretion of uric acid is present in patients with apparent high urinary uric acid output. *Arthritis Rheum.* **47**, 610–613 (2002).
- Wortmann, R. L. Gout and hyperuricemia. *Curr. Opin. Rheumatol.* **14**, 281–286 (2002).
- Urano, W. *et al.* Sodium-dependent phosphate cotransporter type 1 sequence polymorphisms in male patients with gout. *Ann. Rheum. Dis.* **69**, 1232–1234 (2010).
- The guideline revising committee of Japanese Society of Gout and Nucleic Acid Metabolism in *Guideline for the Management of Hyperuricemia and Gout* (ed. The guideline revising committee of Japanese Society of Gout and Nucleic Acid Metabolism) 60–72 (Medical Review, 2010).
- Ichida, K. *et al.* Identification of two mutations in human xanthine dehydrogenase gene responsible for classical type I xanthinuria. *J. Clin. Invest.* **99**, 2391–2397 (1997).
- Daimon, M. *et al.* Large-scale search of SNPs for type 2 DM susceptibility genes in a Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **302**, 751–758 (2003).
- Hayashi, H., Takada, T., Suzuki, H., Akita, H. & Sugiyama, Y. Two common PFIC2 mutations are associated with the impaired membrane trafficking of BSEP/ABCB11. *Hepatology* **41**, 916–924 (2005).
- Takada, T., Weiss, H. M., Kretz, O., Gross, G. & Sugiyama, Y. Hepatic transport of PKI166, an epidermal growth factor receptor kinase inhibitor of the pyrrolo-pyrimidine class, and its main metabolite, ACU154. *Drug Metab. Dispos.* **32**, 1272–1278 (2004).
- Hall, I. H., Scoville, J. P., Reynolds, D. J., Simlot, R. & Duncan, P. Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. *Life Sci.* **46**, 1923–1927 (1990).
- Kitamura, Y. *et al.* Determination of probability distribution of diplotype configuration (diplotype distribution) for each subject from genotypic data using the EM algorithm. *Ann. Hum. Genet.* **66**, 183–193 (2002).

Acknowledgements

We express our gratitude to all the patients involved in this study. We thank T. Tamatsukuri, N. Katsuta and S. Terashige for genetic analysis; H. Fujiwara for patient analysis; and M. Yamashiro, K. Takahashi, T. Itoh, Y. Kobayashi and J. Fukuda for helpful discussion. This study was supported by grants from the Japan Society for the Promotion of Science, Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan including Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas HD-physiology (22136015), the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, the Ministry of Defense of Japan, the Kawano Masanori Memorial Foundation for Promotion of Pediatrics, Takeda Science Foundation, and the Gout Research Foundation of Japan.

Author contributions

K. Ichida, H.M., T.T., M.H., N.S., T.H. and H.S. designed the experiment. K. Ichida, H.M., A.N., Y.T., Y.K., C.O., Y.U., M.N., Y. Shinohara and N.S. carried out genetic analysis. K. Ichida, H.M., A.N., T.S., H.I. and T.H. collected samples of patients and performed patient analysis. T.T., K.M., Y.Y., H.K., Y.I., K. Ito and H.S. performed experimental analysis. H.N., T.N. and Y. S. performed statistical analysis. K. Ichida, H.M., T.T., A.N. and N.S. wrote the paper. K. Ichida, H.M. and T.T. contributed equally to this work.

Additional information

Supplementary Information accompanies this paper at <http://www.nature.com/naturecommunications>

Competing financial interests: K. Ichida, H.M., T.T., T.N., N.S., and H.S. have a patent pending based on the work reported in this paper (WO 2010/150525 A1, title: Urate transporter, as well as method and kit for evaluating urate transport-related disease factor and inflammation-related disease factor, and test sample and drug). Other authors declare no competing financial interests.

Reprints and permission information is available online at <http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/>

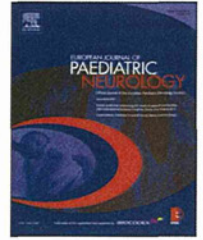
How to cite this article: Ichida, K. *et al.* Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nat. Commun.* 3:764 doi: 10.1038/ncomms1756 (2012).

License: This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 3.0 Unported License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



ELSEVIER

Official Journal of the European Paediatric Neurology Society



Review article

Molybdenum cofactor deficiency: Review of 12 cases (MoCD and review)

Erhan Bayram^{a,*}, Yasemin Topcu^a, Pakize Karakaya^a, Uluc Yis^a, Handan Cakmakci^b, Kimiyoshi Ichida^c, Semra Hiz Kurul^a

^aDokuz Eylul University Hospital, Department of Pediatrics, Division of Pediatric Neurology, 35340 Balçova, Izmir, Turkey

^bDokuz Eylul University Hospital, Department of Radiology, Izmir, Turkey

^cJikei University School of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Kidney and Hypertension, Tokyo, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 August 2012

Received in revised form

7 October 2012

Accepted 13 October 2012

Keywords:

Molybdenum cofactor deficiency

Cystic encephalomalacia

Seizures

Feeding difficulty

Facial dysmorphism

Genes of molybdenum

cofactor synthesis

ABSTRACT

Molybdenum cofactor deficiency is a rare inborn error of metabolism. The major clinical symptoms are intractable neonatal seizures, progressive encephalopathy, facial dysmorphic features and feeding difficulties. Most of the patients are misdiagnosed as hypoxic ischemic encephalopathy. The majority of patients have mutations in the MOCS1 and MOCS2 genes. Although the therapeutic treatment strategies have not been improved, genetic analysis is essential to elucidate the disease. Here, we report a review of 12 patients with Molybdenum cofactor deficiency reported from Turkey.

© 2012 European Paediatric Neurology Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	2
2. A new case diagnosed with molybdenum cofactor deficiency	2
3. Review of 12 patients reported from Turkey	5
References	5

* Corresponding author. Tel.: +90 232 412 36 24; fax: +90 232 412 36 49.

E-mail address: dr.erhanbayram@yahoo.com (E. Bayram).

1090-3798/\$ – see front matter © 2012 European Paediatric Neurology Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpn.2012.10.003>