

31. Massey, V.; Brumby, P.E.; Komai, H. Studies on milk xanthine oxidase. Some spectral and kinetic properties. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 1682–1691.
32. Saito, T.; Nishino, T. Differences in redox and kinetic properties between NAD-dependent and O₂-dependent types of rat liver xanthine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 10015–10022.
33. Dent, C.E.; Philpot, G.R. Xanthinuria, an inborn error (or deviation) of metabolism. *Lancet* **1954**, *266*, 182–185.
34. Kojima, T.; Nishina, T.; Kitamura, M.; Hosoya, T.; Nishioka, K. Biochemical studies on the purine metabolism of four cases with hereditary xanthinuria. *Clin. Chim. Acta* **1984**, *137*, 189–198.
35. Simmonds, H.A.; Reiter, S.; Nishino, T. Hereditary xanthinuria. In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed.; Scriver, C.R., Ed.; McGraw-Hill, Health Professions Division: New York, NY, USA, 1995; pp. 1781–1797.
36. Mateos, F.A.; Puig, J.G.; Jimenez, M.L.; Fox, I.H. Hereditary xanthinuria. Evidence for enhanced hypoxanthine salvage. *J. Clin. Invest.* **1987**, *79*, 847–852.
37. Ichida, K.; Amaya, Y.; Kamatani, N.; Nishino, T.; Hosoya, T.; Sakai, O. Identification of two mutations in human xanthine dehydrogenase gene responsible for classical type I xanthinuria. *J. Clin. Invest.* **1997**, *99*, 2391–2397.
38. Ichida, K.; Matsumura, T.; Sakuma, R.; Hosoya, T.; Nishino, T. Mutation of human molybdenum cofactor sulfurase gene is responsible for classical xanthinuria type II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *282*, 1194–1200.
39. Yamamoto, T.; Higashino, K.; Kono, N.; Kawachi, M.; Nanahoshi, M.; Takahashi, S.; Suda, M.; Hada, T. Metabolism of pyrazinamide and allopurinol in hereditary xanthine oxidase deficiency. *Clin. Chim. Acta* **1989**, *180*, 169–175.
40. Ichida, K.; Yoshida, M.; Sakuma, R.; Hosoya, T. Two siblings with classical xanthinuria type 1: Significance of allopurinol loading test. *Intern. Med.* **1998**, *37*, 77–82.
41. Pryde, D.C.; Dalvie, D.; Hu, Q.; Jones, P.; Obach, R.S.; Tran, T.D. Aldehyde oxidase: An enzyme of emerging importance in drug discovery. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8441–8460.
42. Garattini, E.; Terao, M. The role of aldehyde oxidase in drug metabolism. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2012**, *8*, 487–503.
43. Kucera, J.; Bulkova, T.; Rychla, R.; Jahn, P. Bilateral xanthine nephrolithiasis in a dog. *J. Small Anim. Pract.* **1997**, *38*, 302–305.
44. Van Zuilen, C.D.; Nickel, R.F.; van Dijk, T.H.; Reijngoud, D.J. Xanthinuria in a family of Cavalier King Charles spaniels. *Vet. Q.* **1997**, *19*, 172–174.
45. Tsuchida, S.; Kagi, A.; Koyama, H.; Tagawa, M. Xanthine urolithiasis in a cat: A case report and evaluation of a candidate gene for xanthine dehydrogenase. *J. Feline Med. Surg.* **2007**, *9*, 503–508.
46. Miranda, M.; Rigueira, L.; Suarez, M.L.; Carbajales, P.; Moure, P.; Fidalgo, L.E.; Failde, D.; Vazquez, S. Xanthine nephrolithiasis in a galician blond beef calf. *J. Vet. Med. Sci.* **2010**, *72*, 921–923.
47. Oda, M.; Satta, Y.; Takenaka, O.; Takahata, N. Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications. *Mol. Biol. Evol.* **2002**, *19*, 640–653.
48. Bradbury, M.G.; Henderson, M.; Brocklebank, J.T.; Simmonds, H.A. Acute renal failure due to xanthine stones. *Pediatr. Nephrol.* **1995**, *9*, 476–477.

49. Thomas, N.; Stephen, D.C.; Abraham, B.; Kekre, N.; Seshadri, M.S. Xanthinuria—An unusual cause for renal stone disease. *J. Assoc. Physicians. India* **1996**, *44*, 203–204.
50. Kiss, A.; Barenyi, M.; Csontai, A. Xanthine stone in the urinary bladder of a male child. *Urol. Int.* **1999**, *63*, 242–244.
51. Al-Eisa, A.A.; Al-Hunayyan, A.; Gupta, R. Pediatric urolithiasis in Kuwait. *Int. Urol. Nephrol.* **2002**, *33*, 3–6.
52. Arikyan, N.; Sarkissian, A.; Hesse, A.; Eggermann, T.; Leumann, E.; Steinmann, B. Xanthinuria type I: A rare cause of urolithiasis. *Pediatr. Nephrol.* **2007**, *22*, 310–314.
53. Gargah, T.; Essid, A.; Labassi, A.; Hamzaoui, M.; Lakhoua, M.R. Xanthine urolithiasis. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* **2010**, *21*, 328–331.
54. Martin, H.M.; Hancock, J.T.; Salisbury, V.; Harrison, R. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infect. Immun.* **2004**, *72*, 4933–4939.
55. Vorbach, C.; Scriven, A.; Capecchi, M.R. The housekeeping gene xanthine oxidoreductase is necessary for milk fat droplet enveloping and secretion: Gene sharing in the lactating mammary gland. *Gene Dev.* **2002**, *16*, 3223–3235.
56. McManaman, J.L.; Palmer, C.A.; Wright, R.M.; Neville, M.C. Functional regulation of xanthine oxidoreductase expression and localization in the mouse mammary gland: Evidence of a role in lipid secretion. *J. Physiol.* **2002**, *545*, 567–579.
57. Nakazono, K.; Watanabe, N.; Matsuno, K.; Sasaki, J.; Sato, T.; Inoue, M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10045–10048.
58. Johnson, R.J.; Kang, D.H.; Feig, D.; Kivlighn, S.; Kanellis, J.; Watanabe, S.; Tuttle, K.R.; Rodriguez-Iturbe, B.; Herrera-Acosta, J.; Mazzali, M. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* **2003**, *41*, 1183–1190.
59. Elion, G.B. The purine path to chemotherapy. *Science* **1989**, *244*, 41–47.
60. Johnson, J.L.; Duran, M. Molybdenum Cofactor Deficiency and Isolated Sulfite Oxidase Deficiency. In *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed.; Scriver, C.R., Childs, B., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Eds.; McGraw-Hill: New York, NY, USA, 2001; pp. 3163–3177.
61. Ichida, K.; Amaya, Y.; Noda, K.; Minoshima, S.; Hosoya, T.; Sakai, O.; Shimizu, N.; Nishino, T. Cloning of the cDNA encoding human xanthine dehydrogenase (oxidase): Structural analysis of the protein and chromosomal location of the gene. *Gene* **1993**, *133*, 279–284.
62. Amaya, Y.; Yamazaki, K.; Sato, M.; Noda, K.; Nishino, T.; Nishino, T. Proteolytic conversion of xanthine dehydrogenase from the NAD-dependent type to the O₂-dependent type. Amino acid sequence of rat liver xanthine dehydrogenase and identification of the cleavage sites of the enzyme protein during irreversible conversion by trypsin. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 14170–14175.
63. Minoshima, S.; Wang, Y.; Ichida, K.; Nishino, T.; Shimizu, N. Mapping of the gene for human xanthine dehydrogenase (oxidase) (XDH) to band p23 of chromosome 2. *Cytogenet. Cell Genet.* **1995**, *68*, 52–53.
64. Xu, P.; Huecksteadt, T.P.; Hoidal, J.R. Molecular cloning and characterization of the human xanthine dehydrogenase gene (XDH). *Genomics* **1996**, *34*, 173–180.

65. Wright, R.M.; Vaitaitis, G.M.; Wilson, C.M.; Repine, T.B.; Terada, L.S.; Repine, J.E. cDNA cloning, characterization, and tissue-specific expression of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10690–10694.
66. Saksela, M.; Raivio, K.O. Cloning and expression *in vitro* of human xanthine dehydrogenase/oxidase. *Biochem. J.* **1996**, *315*, 235–239.
67. Garattini, E.; Fratelli, M.; Terao, M. Mammalian aldehyde oxidases: Genetics, evolution and biochemistry. *Cell Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 1019–1048.
68. Boer, D.R.; Thapper, A.; Brondino, C.D.; Romao, M.J.; Moura, J.J. X-ray crystal structure and EPR spectra of “arsenite-inhibited” *Desulfovibrio gigas* aldehyde dehydrogenase: A member of the xanthine oxidase family. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8614–8615.
69. Yamaguchi, Y.; Matsumura, T.; Ichida, K.; Okamoto, K.; Nishino, T. Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: roles of active site residues in binding and activation of purine substrate. *J. Biochem.* **2007**, *141*, 513–524.
70. Nishino, T.; Okamoto, K.; Kawaguchi, Y.; Hori, H.; Matsumura, T.; Eger, B.T.; Pai, E.F.; Nishino, T. Mechanism of the conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase: Identification of the two cysteine disulfide bonds and crystal structure of a non-convertible rat liver xanthine dehydrogenase mutant. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 24888–24894.
71. Iwasaki, T.; Okamoto, K.; Nishino, T.; Mizushima, J.; Hori, H. Sequence motif-specific assignment of two [2Fe-2S] clusters in rat xanthine oxidoreductase studied by site-directed mutagenesis. *J. Biochem.* **2000**, *127*, 771–778.
72. Kuwabara, Y.; Nishino, T.; Okamoto, K.; Matsumura, T.; Eger, B.T.; Pai, E.F.; Nishino, T. Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 8170–8175.
73. Nishino, T. The nicotinamide adenine dinucleotide-binding site of chicken liver xanthine dehydrogenase. Evidence for alteration of the redox potential of the flavin by NAD binding or modification of the NAD-binding site and isolation of a modified peptide. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 5468–5473.
74. Nishino, T. The conversion from the dehydrogenase type to the oxidase type of rat liver xanthine dehydrogenase by modification of cysteine residues with fluorodinitrobenzene. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 29859–29864.
75. Nishino, T.; Tsushima, K.; Hille, R.; Massey, V. Inhibition of milk xanthine oxidase by fluorodinitrobenzene. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 7348–7353.
76. Huber, R.; Hof, P.; Duarte, R.O.; Moura, J.J.; Moura, I.; Liu, M.Y.; LeGall, J.; Hille, R.; Archer, M.; Romao, M.J. A structure-based catalytic mechanism for the xanthine oxidase family of molybdenum enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 8846–8851.
77. Palmer, G.; Massey, V. Electron paramagnetic resonance and circular dichroism studies on milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 2614–2620.
78. Porras, A.G.; Palmer, G. The room temperature potentiometry of xanthine oxidase. Ph-dependent redox behavior of the flavin, molybdenum, and iron-sulfur centers. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 11617–11626.

79. Caldeira, J.; Belle, V.; Asso, M.; Guigliarelli, B.; Moura, I.; Moura, J.J.; Bertrand, P. Analysis of the electron paramagnetic resonance properties of the $[2\text{Fe-2S}]^{1+}$ centers in molybdenum enzymes of the xanthine oxidase family: Assignment of signals I and II. *Biochemistry* **2000**, *39*, 2700–2707.
80. Hille, R.; Hagen, W.R.; Dunham, W.R. Spectroscopic studies on the iron-sulfur centers of milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 10569–10575.
81. Ishikita, H.; Eger, B.T.; Okamoto, K.; Nishino, T.; Pai, E.F. Protein conformational gating of enzymatic activity in xanthine oxidoreductase. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 999–1009.
82. Massey, V.; Schopfer, L.M.; Nishino, T.; Nishino, T. Differences in protein structure of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase revealed by reconstitution with flavin active site probes. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 10567–10573.
83. Saito, T.; Nishino, T.; Massey, V. Differences in environment of FAD between NAD-dependent and O_2 -dependent types of rat liver xanthine dehydrogenase shown by active site probe study. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 15930–15935.
84. Hunt, J.; Massey, V. Purification and properties of milk xanthine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 21479–21485.
85. Tsujii, A.; Nishino, T. Mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase: Effect of guanidine-HCL or urea on the activity. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2008**, *27*, 881–887.
86. Okamoto, K.; Kawaguchi, Y.; Eger, B.T.; Pai, E.F.; Nishino, T. Crystal Structures of Urate Bound Form of Xanthine Oxidoreductase: Substrate Orientation and Structure of the Key Reaction Intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17080–17083.
87. Leimkuhler, S.; Stockert, A.L.; Igarashi, K.; Nishino, T.; Hille, R. The role of active site glutamate residues in catalysis of *Rhodobacter capsulatus* xanthine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 40437–40444.
88. Bergmann, F.; Dikstein, S. Studies on uric acid and related compounds III. Observations on the specificity of mammalian xanthine oxidases. *J. Biol. Chem.* **1956**, *223*, 765–780.
89. Cao, H.; Pauff, J.M.; Hille, R. Substrate orientation and catalytic specificity in the action of xanthine oxidase: The sequential hydroxylation of hypoxanthine to uric acid. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 28044–28053.
90. Jezewska, M.M. Xanthine accumulation during hypoxanthine oxidation by milk xanthine oxidase. *Eur. J. Biochem.* **1973**, *36*, 385–390.
91. Metz, S.; Thiel, W. A combined QM/MM study on the reductive half-reaction of xanthine oxidase: substrate orientation and mechanism. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14885–14902.
92. Nakamura, M.; Yuichiro, Y.; Jorn Oliver, S.; Tomohiro, M.; Schwab, K.O.; Takeshi, N.; Tatsuo, H.; Ichida, K. Identification of a xanthinuria type I case with mutations of xanthine dehydrogenase in an Afghan child. *Clin. Chim. Acta* **2012**, *414*, 158–160.
93. Sakamoto, N.; Yamamoto, T.; Moriwaki, Y.; Teranishi, T.; Toyoda, M.; Onishi, Y.; Kuroda, S.; Sakaguchi, K.; Fujisawa, T.; Maeda, M.; *et al.* Identification of a new point mutation in the human xanthine dehydrogenase gene responsible for a case of classical type I xanthinuria. *Hum. Genet.* **2001**, *108*, 279–283.

94. Jurecka, A.; Stiburkova, B.; Krijt, J.; Gradowska, W.; Tyłki-Szymanska, A. Xanthine dehydrogenase deficiency with novel sequence variations presenting as rheumatoid arthritis in a 78-year-old patient. *J. Inherit. Metab. Dis.* **2010**, doi:10.1007/s10545-009-9011-z.
95. Stiburkova, B.; Krijt, J.; Vyletal, P.; Bartl, J.; Gerhatova, E.; Korinek, M.; Sebesta, I. Novel mutations in xanthine dehydrogenase/oxidase cause severe hypouricemia: Biochemical and molecular genetic analysis in two Czech families with xanthinuria type I. *Clin. Chim. Acta* **2012**, *413*, 93–99.
96. Levartovsky, D.; Lagziel, A.; Sperling, O.; Liberman, U.; Yaron, M.; Hosoya, T.; Ichida, K.; Peretz, H. *XDH* gene mutation is the underlying cause of classical xanthinuria: A second report. *Kidney Int.* **2000**, *57*, 2215–2220.
97. Kudo, M.; Moteki, T.; Sasaki, T.; Konno, Y.; Ujiie, S.; Onose, A.; Mizugaki, M.; Ishikawa, M.; Hiratsuka, M. Functional characterization of human xanthine oxidase allelic variants. *Pharmacogenetics Genom.* **2008**, *18*, 243–251.
98. Gok, F.; Ichida, K.; Topaloglu, R. Mutational analysis of the xanthine dehydrogenase gene in a Turkish family with autosomal recessive classical xanthinuria. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2003**, *18*, 2278–2283.
99. Fujiwara, Y.; Kawakami, Y.; Shinohara, Y.; Ichida, K. A case of hereditary xanthinuria type 1 accompanied by bilateral renal calculi. *Intern. Med.* **2012**, *51*, 1879–1884.
100. Kikuchi, H.; Fujisaki, H.; Furuta, T.; Okamoto, K.; Leimkuhler, S.; Nishino, T. Different inhibitory potency of febuxostat towards mammalian and bacterial xanthine oxidoreductases: Insight from molecular dynamics. *Sci. Rep.* **2012**, *2*, 331.
101. Massey, V.; Edmondson, D. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by cyanide. *J. Biol. Chem.* **1970**, *245*, 6595–6598.
102. Wahl, R.C.; Rajagopalan, K.V. Evidence for the inorganic nature of the cyanolyzable sulfur of molybdenum hydroxylases. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 1354–1359.
103. Nishino, T.; Nishino, T.; Tsushima, K. Purification of highly active milk xanthine oxidase by affinity chromatography on Sepharose 4B/folate gel. *FEBS Lett.* **1981**, *131*, 369–372.
104. Ikegami, T.; Nishino, T. The presence of desulfo xanthine dehydrogenase in purified and crude enzyme preparations from rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* **1986**, *247*, 254–260.
105. Nishino, T. Purification of hepatic xanthine dehydrogenase from chicken fed a high-protein diet. *Biochim. Biophys. Acta* **1974**, *341*, 93–98.
106. Itoh, R.; Nishino, T.; Usami, C.; Tsushima, K. An immunochemical study of the changes in chicken liver xanthine dehydrogenase activity during dietary adaptation. *J. Biochem.* **1978**, *84*, 19–26.
107. Wahl, R.C.; Warner, C.K.; Finnerty, V.; Rajagopalan, K.V. *Drosophila melanogaster* mal mutants are defective in the sulfuration of desulfo Mo hydroxylases. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 3958–3962.
108. Reiter, S.; Simmonds, H.A.; Zollner, N.; Braun, S.L.; Knedel, M. Demonstration of a combined deficiency of xanthine oxidase and aldehyde oxidase in xanthinuric patients not forming oxipurinol. *Clin. Chim. Acta* **1990**, *187*, 221–234.

109. Amrani, L.; Primus, J.; Glatigny, A.; Arcangeli, L.; Scazzocchio, C.; Finnerty, V. Comparison of the sequences of the *Aspergillus nidulans* hxB and *Drosophila melanogaster* ma-1 genes with nifS from *Azotobacter vinelandii* suggests a mechanism for the insertion of the terminal sulphur atom in the molybdopterin cofactor. *Mol. Microbiol.* **2000**, *38*, 114–125.
110. Watanabe, T.; Ihara, N.; Itoh, T.; Fujita, T.; Sugimoto, Y. Deletion mutation in *Drosophila* ma-1 homologous, putative molybdopterin cofactor sulfurase gene is associated with bovine xanthinuria type II. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21789–21792.
111. Yamamoto, T.; Moriwaki, Y.; Takahashi, S.; Tsutsumi, Z.; Tuneyoshi, K.; Matsui, K.; Cheng, J.; Hada, T. Identification of a new point mutation in the human molybdenum cofactor sulfurase gene that is responsible for xanthinuria type II. *Metabolism* **2003**, *52*, 1501–1504.
112. Peretz, H.; Naamati, M.S.; Levartovsky, D.; Lagziel, A.; Shani, E.; Horn, I.; Shalev, H.; Landau, D. Identification and characterization of the first mutation (Arg776Cys) in the C-terminal domain of the Human Molybdenum Cofactor Sulfurase (HMCS) associated with type II classical xanthinuria. *Mol. Genet. Metabol.* **2007**, *91*, 23–29.

© 2012 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

<TOPICS>

3. 尿酸トランスポーター研究の進歩

Progress in urate transporter research

市田 公美

Kimiyoshi Ichida (教授) / 東京薬科大学病態生理学教室

key words

高尿酸血症におけるABCG2機能と尿酸動態の関係および $abcg2$ ノックアウトマウスの検討から、ABCG2の機能低下により腸管からの尿酸排泄が減少し、それに伴って腎臓からの尿酸排泄が増加し、一見、従来の尿酸産生過剰型高尿酸血症を呈することが判明した。この病態に対し、我々は腎外排泄低下型高尿酸血症という概念を提唱している。つまり、従来の尿酸産生過剰型高尿酸血症には、腎外排泄低下型高尿酸血症と真の尿酸産生過剰型高尿酸血症の両方が混在していることになる。

ABCG2
尿酸産生過剰型高尿酸血症
腎外排泄低下型高尿酸血症

はじめに

尿酸は、プリン体の最終代謝産物であり、血清尿酸値は尿酸への代謝量（産生量）と腎臓を中心とした排泄能のバランスにより規定されている。尿酸はトランスポーターにより輸送され、このトランスポーターが尿酸の排泄能に大きく関与している。近年、血清尿酸値に関する全ゲノム関連解析も行われ、尿酸トランスポーターの研究が大きく進み、多くの知見が得られている。本稿では、抗癌剤輸送ポンプとして抗癌剤耐性に関与することが知られていたABCG2(ATP-binding cassette, sub-family G, member 2)に関する最近の知見を概説する。

尿酸を輸送するトランスポーター

通常、ヒトの体内の尿酸プールは、成人男性で約700~1,700mg、平均1,200mgであり、成人女性では550~700mgといわれている。壊れた細胞から放出されるプリン体や新規に合成されるプリン体400~500mgと食事からのプリン体により、1日あたり700~800mgのプリン体が尿酸プールに流入してくる。それと同じ量の尿酸が体外に排泄されることにより、血清尿酸値はほぼ一定に保たれている。

体外に排泄される尿酸の約7割が腎臓から、残りのほとんどは消化管から排泄される。血液中の尿酸の約90%は蛋白と結合せず遊離しており、糸球体で濾過された後、近位尿細管を中心に

再吸収と分泌が両方向性に行われ、最終的には糸球体を通じた尿酸の6~10%が尿中に排泄される。尿酸が再吸収または分泌されるためには、尿酸が細胞膜を越えて輸送される必要があり、これはトランスポーターを介して行われる。現在、多くの尿酸トランスポーターが報告されており、これらのなかで、URAT1とGLUT9/URATv1が腎臓において尿酸の再吸収に働く主要なトランスポーターである。一方、尿酸の排泄に働く主要なトランスポーターはABCG2である。ABCG2は、腎臓やその他、多くの臓器において発現しており、特に消化管からの尿酸排泄に重要な役割を担っている。

ABCG2(BCRP)

ATP結合カセット(ATP-binding cassette: ABC)と呼ばれる共通配列を有し、ATPを利用して物質の能動輸送を行うABCトランスポーターは、細胞の内から外へ物質を汲み出す排泄ポンプとして働く。ABCトランスポーターであるABCG2の遺伝子は、当初、薬剤耐性に関連する遺伝子BCRP(*breast cancer resistance protein*)として、薬剤耐性の乳癌細胞からクローニングされた。ABCG2は、小腸、肝臓、腎尿管などの頂側(apical)膜に発現し、有機アニオン系化合物の排泄を行う。

このABCG2が痛風の発症に関連していることが、我々を含む2つのグループから同時に報告された¹²⁾。我々はヒトの胎児腎由来の細胞株HEK293細胞を用いて検討を行い、その結果、ABCG2には尿酸輸送能が認められた²⁾。さらに、その輸送は生理的な尿酸濃度の範囲において飽和現象が認められず、高容量性であった。

ABCG2の一塩基多型Q126XとQ141Kのアレル頻度は、それぞれ約3%および32%と高頻度で認められる³⁾。これらの変異体を用いて尿酸の輸送能を検討すると、Q126XによりABCG2の尿酸輸送能が消失するのに対し、Q141Kは尿酸輸送能が半分に減少する²⁾。この2つの一塩基多型は、1つの染色体上では同時に存在せず、独立したリスクとなっている²⁾。これらのことを用いて、痛風症例のABCG2の機能を評価すると、ABCG2の機能の低下に従って痛風の発症リスクは上昇し、機能が

4分の1以下になる遺伝子変異パターンをもつ症例では、ABCG2機能の正常例に比し痛風の発症リスクが約26倍にも上昇する²⁾。その後、ABCG2の尿酸輸送の詳細を明らかにするため、*abcg2*ノックアウトマウスの腎臓や腸管の尿酸輸送が検討され、*abcg2*が腸管の尿酸排泄に重要であることが示された⁴⁾⁵⁾。さらに、我々は高尿酸血症における尿酸動態に関する臨床データを検討した結果、ABCG2の機能低下に伴って血清尿酸値が上昇すると同時に尿中尿酸排泄量は増加し、従来の分類における産生過剰型高尿酸血症を呈することを明らかにした⁵⁾。この原因として、腸管からの尿酸排泄が減少したことにより、逆に腎臓からの尿酸排泄が増加したと推定されたが、尿酸は腸管の常在細菌により分解されるため、ヒトにおける腸管の尿酸排泄を検討することは困難であった。そこで、*abcg2*ノックアウトマウスを用い、*abcg2*の機能喪失に伴い、腸管の尿酸排泄減少と同時に尿中尿酸排泄量が増加することを確認した⁵⁾。

痛風・高尿酸血症の病型

高尿酸血症は、腎臓からの尿酸排泄が低下する尿酸排泄低下型高尿酸血症、尿酸の産生が増加したため腎臓からの排泄が増加している尿酸産生過剰型高尿酸血症と、両方の機序をもった混合型高尿酸血症の3つに分類されていた。それぞれの頻度は、尿酸排泄低下型が55~60%、尿酸産生過剰型が10~15%、そして混合型が25~30%となっ

ている。混合型を含めて考えると尿酸排泄低下型の機序をもっている高尿酸血症は全体の85~90%を占め、同様に産生過剰型の機序をもっているものは40~45%を占めていることになる。したがって、ほとんどの高尿酸血症の発症には尿酸の排泄低下が関与している一方で、半数近くは尿酸の産生過剰が関与しているといえる。尿酸産生過剰型高尿酸血症の成因として、生活習慣ではプリン体過剰摂取などが考えられていたが、遺伝の関与についてはLesch-Nyhan症候群などの発症頻度の低い先天性代謝異常症を除いて不明のままであった。最近、前述のようにABCG2の機能低下により、尿酸産生過剰型高尿酸血症の臨床検査パターンを示すことが判明したことから、我々は腎外排泄低下型高尿酸血症という概念を提唱している(図)⁵⁾。すなわち、ABCG2の機能低下により腸管の尿酸排泄が減少するのに伴って腎臓からの尿酸排泄が増加し、一見、従来の尿酸産生過剰型高尿酸血症を呈するというものである。このことは、比較的高頻度にみられる尿酸産生過剰型高尿酸血症を説明し得る候補遺伝子およびその変異が同定されていないという事実に一致する。たとえば、尿酸産生過剰型高尿酸血症の検討において、原因となるようなプリン代謝関連酵素の高頻度な異常が同定されておらず、また、全ゲノム関連解析において産生過剰型高尿酸血症をきたすような代謝関連の遺伝子もほとんど同定されていない。これまで尿酸産生過剰型高尿酸血症と判定されていたものの多くが、実際には

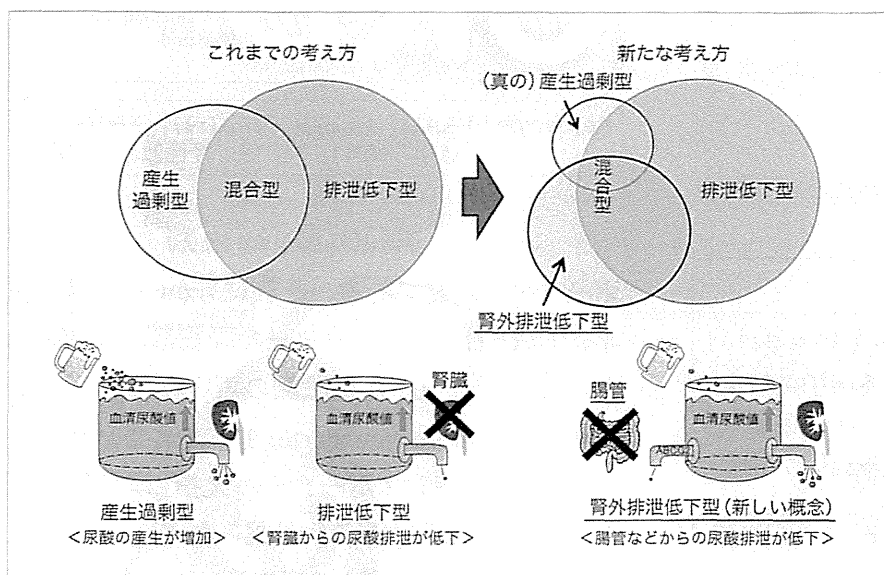


図 高尿酸血症の病型分類

(文献5) より改変引用)

腎外排泄低下型高尿酸血症であると考えられる⁵⁾。すなわち、従来の尿酸産生過剰型高尿酸血症は、この腎外排泄低下型高尿酸血症と真の尿酸産生過剰型高尿酸血症とが混在していたことになる。我々は、従来の尿酸産生過剰型

高尿酸血症を腎負荷型高尿酸血症と呼ぶことを提唱している。

文献

1) Woodward OM, Kottgen A, Coresh J, et al : Identification of a

urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. Proc Natl Acad Sci U S A 106 : 10338-10342, 2009

2) Matsuo H, Takada T, Ichida K, 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

3) Maekawa K, Itoda M, Sai K, et al : Genetic variation and haplotype structure of the ABC transporter gene ABCG2 in a Japanese population. Drug Metab Pharmacokin 21 : 109-121, 2006

4) Hosomi A, Nakanishi T, Fujita T, et al : Extra-renal elimination of uric acid via intestinal efflux transporter BCRP/ABCG2. PLoS One 7 : e30456, 2012

5) Ichida K, Matsuo H, Takada T, et al : Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. Nat Commun 3 : 764, 2012

市田 公美 (Kimiyoichi Ichida)

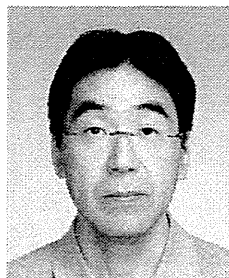
1982年 東京慈恵会医科大学 卒業
 1984年 東京慈恵会医科大学第2内科 (現腎臓・高血圧内科) 入局
 1998年 東京慈恵会医科大学腎臓・高血圧内科 講師
 2007年 東京薬科大学薬学部病態生理学教室 教授



2 尿酸代謝異常症の 最前線

いちだ きみよし
市田 公美

東京薬科大学病態生理学教室



市田 公美
1982年 東京慈恵会医科大学卒業
1990-1991年 横浜市立大学生化学教室に留学
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
研究テーマ：プリン代謝と腎臓における
尿酸輸送体

Key words : URAT1, GLUT9 (URATv1), ABCG2,
OAT4, NPT1, MCT9, 腎性低尿酸血症

Abstract

血清尿酸値は種々の因子により影響を受け、高尿酸血症は複数の遺伝子と環境因子が関与し発症する多因子遺伝性疾患である。尿酸トランスポーター遺伝子の一塩基多型等が発症に影響を及ぼすことが分かってきた。例えば、尿酸排泄に働く ABCG2 の機能低下が著しくなるのにもない、血清尿酸値の上昇と痛風発症リスクの増加が起こる。一方、低尿酸血症においては、腎臓における尿酸排泄亢進により起こる腎性低尿酸血症で、尿酸再吸収に働くトランスポーター URAT1 または GLUT9 (URATv1) の欠損が原因であることが判明した。

はじめに

尿酸は、プリン体の最終代謝産物であり、主に腎臓から尿中へ排泄される。血清尿酸値は、尿酸への代謝量（産生量）と腎臓を中心とした排泄能のバランスにより規定されている。その中でも、腎臓における尿酸輸送能は血清尿酸値を大きく規定する因子である。腎臓における尿酸輸送は主に近位尿細管で行われ、尿酸輸送のためには尿酸が尿細管細胞の管腔側膜と血管側膜を通過する必要がある、トランスポーターにより行われている。したがって、腎臓における尿酸排泄能を考える上で、この尿酸を輸送するトランス

ポーターが重要である。それにもかかわらず、近年まで尿酸トランスポーターの詳細は不明であった。しかし、2002年に尿酸の再吸収に働くトランスポーター urate transporter 1 (URAT1) が同定され、このトランスポーターの欠損により腎性低尿酸血症を発症することが明らかになった¹⁾。この報告を契機に尿酸トランスポーターの同定が報告されるようになった。さらに最近、全ゲノム関連解析 (GWAS) により、血清尿酸値の変動に影響を与える遺伝子の検討がなされ、いくつかの尿酸トランスポーターが新たに同定された。その中で、当初グルコーストランスポーターのファミリーとして同定された glucose transporter 9 (GLUT9) (後に URATv1 の呼称が提案された) や、抗癌剤輸送ポンプで抗癌剤耐性に関与し breast cancer resistance protein (BCRP) として知られていた ATP-binding cassette, sub-family G, member 2 (ABCG2) が、尿酸トランスポーターであることが明らかになるなどの注目すべき進展がみられた。これらの研究により、遺伝子変異または一塩基多型 (SNP) と尿酸代謝異常症である腎性低尿酸血症や高尿酸血症の遺伝的側面との関係が明らかになってきた。本稿では、現在までに明らかになった高尿酸血症の遺伝的側面と腎性低尿酸血症につき概説する。

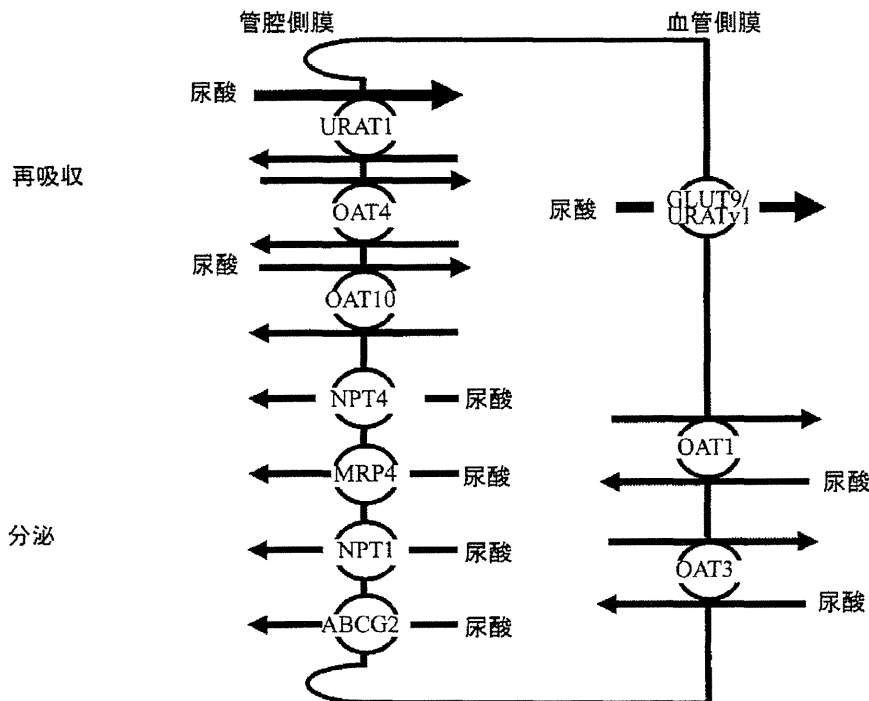


図1 近位尿細管における尿酸トランスポーター

1. 尿酸動態と尿酸トランスポーター

通常，食事，生体内のプリン体合成や細胞の分解の結果として，約 700 mg の尿酸が毎日合成される。それと同じ量の尿酸が体外に排泄されることにより，血清尿酸値はほぼ一定に保たれている。排泄される尿酸の約 2/3 は腎臓から，残りのほとんどは消化管から排泄される。腎臓において，蛋白と結合していない血漿中の尿酸は，糸球体濾過膜を自由通過した後，近位尿細管を中心に再吸収と分泌が両方向性に行われ，最終的には糸球体を通じた尿酸の 6-10% が尿中に排泄される。有機酸トランスポーターである OAT4 の相同体の検索から，2002 年に URAT1 が同定された¹⁾。その後，現在までに報告された尿酸トランスポーターを図 1 に示す。この中で，尿酸の再吸収に主に参与しているのが，近位尿細管の管腔側膜の URAT1 と基底側膜の GLUT9/ URATv1 である。

2. 高尿酸血症

高尿酸血症は，いくつかの遺伝子と環境因子が関与し発症する多因子遺伝性疾患である。多因子遺伝性疾患に関与している遺伝子の同定は困難であるが，最近 GWAS を用いることにより関連遺伝子が同定されるようになった。GWAS による血清尿酸値に関連する遺伝子の検討は，2007 年後半から報告され，多くの遺伝子が報告された (表 1)。

表 1 尿酸関連遺伝子

1. *SLC22A12* (URAT1)
2. *SLC2A9* (GLUT9/ URATv1)
3. *ABCG2* (breast cancer resistance protein: BCRP)
4. *SLC22A11* (OAT4)
5. *SLC17A1* (NPT1), *SLC17A3* (NPT4) と *SLC17A4*
6. *PDZK1* (PDZ domain containing 1)
7. *SLC16A9* (MCT9)
8. *LRRIC16A* (CARMIL) と *SCGN*
9. *GKRP* (glucokinase regulatory protein)
10. *LRP2* (lipoprotein receptor related protein-2, megalin)

表2 ABCG2 機能低下と痛風の発生リスク

| 推定輸送活性 | 遺伝子型 | | 被験者数 | | p 値 | オッズ比 | 95%信頼区間 |
|----------|-------------|-------------|------|-----|------------------------|------|-----------|
| | Q126X | Q141K | 痛風 | 健常者 | | | |
| 機能 1/4以下 | <u>T</u> /T | C/C | 16 | 8 | 3.39×10^{-23} | 258 | 10.3-64.6 |
| | T/ <u>C</u> | A/C | | | | | |
| 機能 1/2以下 | <u>T</u> /C | C/C | 37 | 110 | 2.23×10^{-9} | 4.34 | 2.61-7.24 |
| | C/C | <u>A</u> /A | | | | | |
| 機能 3/4以下 | C/C | <u>A</u> /C | 72 | 308 | 2.29×10^{-7} | 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み合わせ C/C (Q141K) 及び C/C (Q126X) の場合との比較より計算。機能低下を示すアレルには、下線を引いた。(文献 2 より改変)

A. ABCG2

ATP 結合カセット (ATP-Binding Cassette) と呼ばれる共通配列を有し、ATP を利用して物質の能動輸送を行う ABC トランスポーターは、細胞の内から外へ物質を汲み出す排泄ポンプとして働く。ABC トランスポーターである ABCG2 の遺伝子は、当初薬剤耐性に関連する遺伝子として、薬剤耐性の乳がん細胞からクローニングされた。ABCG2 は、小腸、肝臓、腎尿細管等の頂側 (apical) 膜に発現し、有機アニオン系化合物の排泄を行う。2004 年に痛風の関連遺伝子の候補領域が第 4 染色体長腕に存在することが報告されたことから、候補領域内にあったトランスポーターについての検索及び解析が、ABCG2 を含め始まっていた。その後、GWAS によって ABCG2 は血清尿酸値との関連性が指摘された。ABCG2 を HEK293 細胞に発現させ細胞膜小胞を調製して尿酸の輸送能を解析すると、ABCG2 は生理的な尿酸濃度の範囲において、輸送飽和の生じない高容量性の尿酸輸送能を示す²⁾。

日本人の ABCG2 の遺伝子変異の中で、Q126X と Q141K のアレル頻度はそれぞれ、約 3% 及び 32% であり、これら 2 つの一塩基多型が高頻度で認められる。変異体を用いた機能解析の結果、Q126X により尿酸輸送能が消失するのに対し、Q141K は

輸送能が半分に減少することが判明した²⁾。この ABCG2 の機能変化は血清尿酸値に影響を与え、日本人の健康診断受診者において検討すると、Q141K の変異数が多いほど血清尿酸値が上昇する (表 2)。更に ABCG2 の機能低下は、痛風や高尿酸血症の発症リスクを著しく上昇させる^{2,3)}。これらの結果から、高頻度に認めるこれら 2 つの ABCG2 の SNP が、痛風・高尿酸血症発症に著しく関与していることが分かる。

B. OAT4, NPT1 と MCT9

GWAS により血清尿酸値に関連するトランスポーターとして、NPT1, NPT4, OAT4 と MCT9 も、指摘されている。OAT4 は、腎臓の近位尿細管の管腔側膜に発現し、尿酸の再吸収に働いていると考えられている。NPT1 は、主に腎臓の近位尿細管曲部の管腔側膜に発現し、尿酸の分泌を行っていると考えられている。OAT4 と NPT1 とも、*in vitro* において尿酸輸送が報告されたが、生体内においてどの程度尿酸の輸送に寄与しているか不明であった。最近の報告により、両トランスポーターとも、血清尿酸値に影響を与えていることが明らかになった^{4,5)}。van der Harst らは、他の一般母集団コホート研究の参加者の内、血清尿酸値等が明らかな 7795 人を対象に、MCT9 をコードする *SLC16A9*、OAT4 をコードする *SLC22A11*、

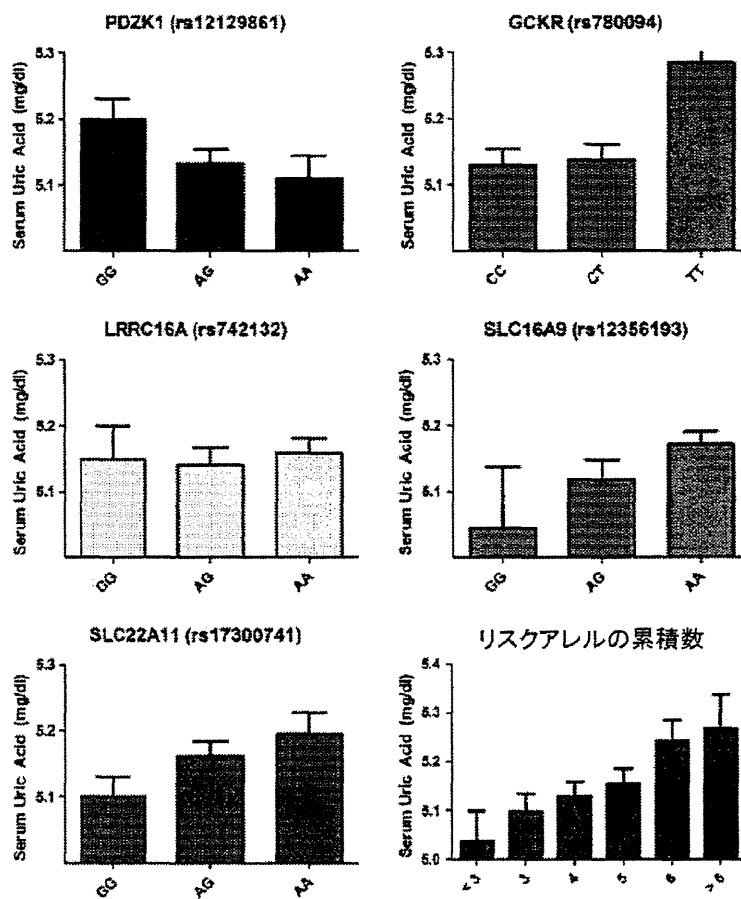


図2 PDZK1, GCKR, LRRC16A, SLC16A9とSLC22A11の遺伝子型による血清尿酸値リスクアレルは、LRRC16Aを除いた集計である。(文献5より改変)

PDZK1, glucokinase regulator protein をコードする GCKR と LRRC16A の遺伝子型による血清尿酸値への影響を検討した。その結果、LRRC16A 以外の遺伝子型に血清尿酸値との関連を認めた(図2)⁵⁾。そして、4つの遺伝子の遺伝子型の組み合わせにより、累積的に血清尿酸値が変動することを示した。なお、この中で PDZK1 はいくつかのトランスポーターを束ね、尿細管管腔側膜にて機能的複合体を構成する足場蛋白として働き、GCKR は glucokinase の活性を調節している分子である。MCT9 は、腎臓、子宮内膜、精巣、卵巣や脳等に発現しているが、機能などの詳細はまだ不明である。

3. 腎性低尿酸血症

腎性低尿酸血症は、他の原因による尿細管

障害を認めないにもかかわらず、腎臓における尿酸再吸収の低下または分泌の亢進により尿酸排泄が亢進し、低尿酸血症を示す疾患である。日本では、日常遭遇する無症状の低尿酸血症のほとんどは本疾患である。

A. 臨床症状

腎性低尿酸血症は、常染色体劣性遺伝形式をとることが多い。低尿酸血症自体による臨床症状は認めないが、合併症として尿路結石や運動後急性腎不全が多い。尿路結石は、腎性低尿酸血症患者の 7-10% 程度に認められる⁶⁾。その原因として、低尿酸血症により尿酸の腎外排泄が減少し、結果的に尿中尿酸排泄量が増加しているためと考えられている。

運動後急性腎不全は、腎性低尿酸血症患者

の10%近くに既往または疑わしい症状の経験を認める。運動して数時間後からの腰背部痛、嘔気、嘔吐、乏尿を主徴とする急性腎不全である。横紋筋融解症と異なり、血清CPKや血清ミオグロビンの上昇は認めないか軽度である。運動後急性腎不全を誘発する運動の種類は、短時間でも激しい運動であることが多い。特徴的な検査所見として、造影剤使用による検査の翌日の再検査、いわゆるdelayed CT、MRIや超音波などの画像検査において、造影剤残存、信号強度やエコー強度がまだらな楔形になることである⁷⁾。また、運動により必ず発症するわけではなく、脱水やNSAID内服などの促進因子が運動に加わったときに発症すると考えられている⁷⁾。予後は良く、腎機能は1週間から1ヶ月程度で回復するが、再発例も多い。

発症機序として、腎臓の血管れん縮が原因であると推定されている。運動により活性酸素が増加し、腎臓の弓状動脈・葉間動脈がれん縮を起こし虚血状態になり、再還流時に活性酸素による虚血再還流障害を来すためであると考えられている。また、腎性低尿酸血症に運動後急性腎不全を合併しやすい理由は、活性酸素のスキャベンジャーである尿酸が少ないためであると推定されている。

B. 責任遺伝子

責任遺伝子として、遺伝子*SLC22A12*と*SLC2A9*が報告されている^{1,8,9)}。*URAT1*をコードしている*SLC22A12*においてW258Stopとなる遺伝子変異G774Aのアレル頻度が、日本人では2.3%台と高率であるために腎性低尿酸血症が多い。これはアジア大陸からG774A変異が日本に渡ってくる際に、創始者効果という現象により日本人に*URAT1*のG774Aの頻度が高くなったためである¹⁰⁾。日本人の腎性低尿酸血症の80-90%に*SLC22A12*の遺伝子変異が認められ、G774A

が*SLC22A12*変異の80%近くを占めている⁶⁾。

生体内において*URAT1*は、乳酸等を交換基質として尿酸の再吸収に働き、尿酸排泄促進薬の作用点になっている。*URAT1*の欠損により著しい低尿酸血症を呈することから、*URAT1*は管腔側膜で尿酸再吸収の中心的な役割を担っていることが示されている。

GWASにより血清尿酸値と関連がある遺伝子として、グルコーストランスポーターとして分類されていた*GLUT9/URATv1*をコードしている遺伝子*SLC2A9*が報告された¹¹⁾。その後、*GLUT9/URATv1*が尿酸を輸送し、その欠損により腎性低尿酸血症を引き起こすことが報告された^{8,9,12)}。このことから、*GLUT9/URATv1*は尿酸を再吸収する方向に輸送していることが明らかになった。この*GLUT9/URATv1*の欠損による腎性低尿酸血症症例の報告はまだ少数であるため、*URAT1*欠損による腎性低尿酸血症との臨床上の比較は難しい^{8,9,12,13)}。しかし、その少数例を集計すると、尿酸排泄能の指標であるCUA/Ccrが*GLUT9/URATv1*の完全欠損による腎性低尿酸血症では1.9程度と、*URAT1*完全欠損による腎性低尿酸血症の0.45~0.87よりも明らかに高値である^{12,13)}。これは、管腔側膜には*URAT1*以外の尿酸再吸収に働くトランスポーターが存在するのに対し、現時点では血管側膜では*GLUT9/URATv1*以外のトランスポーターは想定されていないことに一致している(図1)。すなわち、*URAT1*欠損では管腔側膜における尿酸再吸収は他のトランスポーターを介してある程度行われるが、*GLUT9/URATv1*欠損では血管側膜における尿酸再吸収がほとんど行われなくなる。この結果、*GLUT9/URATv1*欠損においては、結果的に近位尿細管における尿酸分泌を観察していると考えられる。*GLUT9/URATv1*の完全欠損症例のCUA/Ccrがこの様な著しい高値を示すことは、糸球体で濾過された尿酸の40-50%程度

が分泌されるとの今までの想定以上に尿酸分泌が行われていることを示している。

おわりに

現在、痛風、高尿酸血症は生活習慣病の一つとして認知され、高尿酸血症は人間ドック受診男性の二十数%と高頻度に認められる。最近、尿酸を輸送するトランスポーターの知見が急速に集積されている。今後これらのトランスポーターの SNP の情報から、生活習慣の影響が強い場合や遺伝的要素が強い場合等が症例毎に解析され、テーラーメイド医療につながる事が大いに期待される。効性、副反応のモニタリングが必要とされる。

文 献

- 1) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, *et al.* Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* 2002;417:447-52.
- 2) Matsuo H, Takada T, Ichida K, *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.
- 3) Woodward OM, Kottgen A, Coresh J, Boerwinkle E, Guggino WB, Kottgen M. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:10338-42.
- 4) Urano W, Taniguchi A, Anzai N, *et al.* Sodium-dependent phosphate cotransporter type 1 sequence polymorphisms in male patients with gout. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1232-4.
- 5) van der Harst P, Bakker SJ, de Boer RA, *et al.* Replication of the five novel loci for uric acid concentrations and potential mediating mechanisms. *Hum Mol Genet* 2010;19:387-95.
- 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* 2004;15:164-73.
- 7) 石川 勲. 運動後急性腎不全 (ALPE). 金沢: 金沢医科大学出版局; 2006.
- 8) Anzai N, Ichida K, Jutabha P, *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.
- 9) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, *et al.* Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet* 2008;83:744-51.
- 10) Ichida K, Hosoyamada M, Kamatani N, *et al.* Age and origin of the G774A mutation in SLC22A12 causing renal hypouricemia in Japanese. *Clin Genet* 2008;74:243-51.
- 11) Li S, Sanna S, Maschio A, *et al.* The GLUT9 Gene Is Associated with Serum Uric Acid Levels in Sardinia and Chianti Cohorts. *PLoS Genet* 2007;3:e194.
- 12) Dinour D, Gray NK, Campbell S, *et al.* Homozygous SLC2A9 mutations cause severe renal hypouricemia. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:64-72.
- 13) Stiburkova B, Ichida K, Sebesta I. Novel homozygous insertion in SLC2A9 gene caused renal hypouricemia. *Mol Genet Metab* 2011;102:430-5.

第 84 回日本胃癌学会学術集会

開催年月日 : 2012 年 2 月 8 日 (水) ~ 10 日 (金)
 代表者 : 辻仲 利政
 (国立病院機構大阪医療センター外科部長)
 開催地 : 大阪市北区
 会場 : 大阪国際会議場
 (グランキューブ大阪)
 事務局連絡先 : 国立病院機構大阪医療センター外科
 TEL : 06-6942-1331
 FAX : 06-6946-5660

常設事務局 URL : <http://www.jgca.jp/>
 開催案内 URL :
<http://www2.convention.co.jp/84jgca/index.html>
 備考 :
 テーマ : 「変革 (innovation), 連携 (cooperation),
 発信 (transmission)」
 〈問合せ先〉日本コンベンションサービス神戸支店
 TEL : 078-303-1101
 FAX : 078-303-3760
 E-mail : 84jgca@convention.co.jp

キサンチン酸化酵素と臓器障害

▶ *Role of xanthine oxidase in organ injury*

市田公美 (東京薬科大学病態生理学教室)

キサンチンオキシドレダクターゼ (xanthine oxidoreductase; XOR: EC1.17.1.4) は、ヒトにおけるプリン代謝の最終段階に働き、ヒポキサンチンからキサンチン、キサンチンから尿酸への反応を触媒する酵素である。ヒトでは肝臓、十二指腸、母乳などを中心に多くの組織に発現しており、血管内皮細胞にも発現していることが確認されている。通常、生体内においてXORはキサンチンデヒドロゲナーゼ (xanthine dehydrogenase; XDH) として存在しているが、ある種の病態などにおいてはキサンチン酸化酵素 (キサンチンオキシダーゼ) (xanthine oxidase; XO: EC1.17.3.2) へと変換される。XDHはキサンチンあるいはヒポキサンチンを酸化する際の電子受容体としてニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD^+) を利用するが、XOは酸素分子 (O_2) を電子受容体とし、活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) であるスーパーオキシド (O_2^-) または過酸化水素 (H_2O_2) を生成する (図1)。現在、ROSは生体内においてシグナル伝達やマクロファージの殺菌作用などに関与し、生体内において一定の役割を担っており、それが破綻をきたし、過剰となった場合に組織障害を引き起こすと考えられるようになってきた (図2)。XORもXDHとXOの変換をとおして、いくつかの役割を担っている可能性が指摘されているが、依然として詳細は不明である。生体内において、XORが傷害性に働く例として、虚血性疾患や血管内皮機能障害において、XOの産生する活性酸素が、これらの病態成立に関与していることが示唆されている。

本稿では、生体内におけるXOと臓器障害の関係についての知見を中心に述べる。

XORの構造とD/O変換

XORは1,333のアミノ酸からなり分子量約15万のサブユニットのホモダイマーとして存在する¹⁾。XORの1つのサブユニットは、N末端から20kD、

40kD、と85kDの3つのドメインで構成され、それぞれのドメインに2つのフェレドキシンタイプの非ヘム鉄、1つのフラビンアデニンジヌクレオチド(flavin adenine dinucleotide : FAD)および1つのモリブドプテリンを補欠分子族と

もっている。ヒポキサンチンからキサンチンまたはキサンチンから尿酸への酸化反応で生じた電子は、基質の結合部位で反応中心でもあるモリブドプテリンから分子内電子伝達により最終的にFADへ渡り、FADから電子受

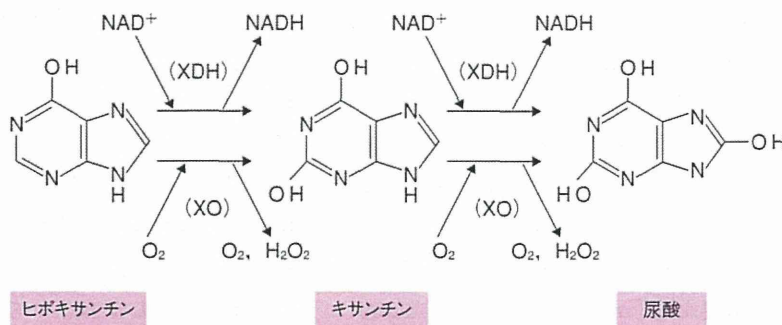


図1 キサンチンデヒドロゲナーゼ、キサンチンオキシダーゼによる代謝

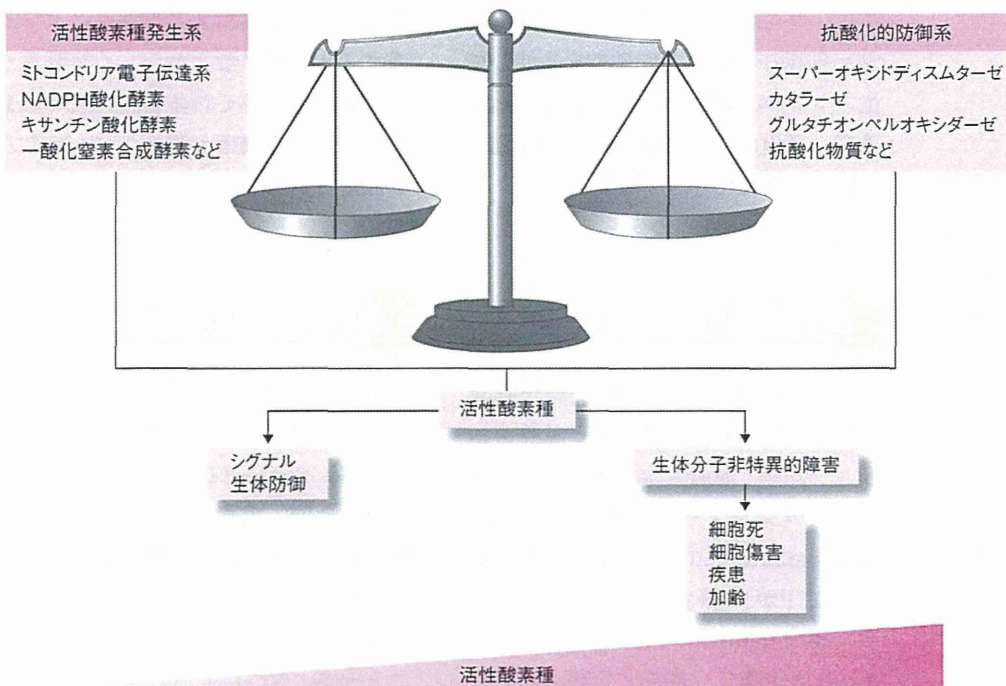


図2 活性酸素種の作用

容体(NAD⁺, またはO₂)へ渡される。

生体内で存在する酵素の形態としてはXDHであり, XDHを精製するとその過程においてXDHとXOの変換(D/O変換)が起こる。XDHからXOへの変換には, 還元薬の添加によりXOからXDHへもどすことができる可逆的な変換と, プロテアーゼの限定分解による非可逆的な変換がある。D/O変換は, ラットのCys535(ヒトではCys536)とCys992(ヒトではCys993)およびCys1316(ヒトでも同じ)とCys1324(ヒトでも同じ)の間にジスルフィド結合が形成されると起こるが, ジスルフィド結合の還元によりXDHにもどる²⁾。また, プロテアーゼによりフラビンドメインとモリブデンドメイン間のリンカーが切断されてもD/O変換は起こるが, この場合はXOからXDHにはもどらない。

XOとROS

ROSは, 非常に不安定で強い酸化力を示す寿命の短い酸素種であり, O₂⁻, H₂O₂, ·OH⁻が代表的であり, 広義には一酸化窒素を始めとする活性酸素なども含まれる。ヒトの生体内において, ROSはミトコンドリア電子伝達系, NADPHオキシダーゼ, XO, 不対内皮型一酸化窒素合成酵素(endothelial nitric oxide synthase: eNOS)やアラキドン酸代謝経路などの反応によって発生する。このROSに対する防御システムとして, スーパーオキシドデスム

ターゼ(superoxide dismutase: SOD), グルタチオンペルオキシダーゼ(glutathione peroxidase: GPx)やビタミンCなどのフリーラジカル捕捉型抗酸化物などがROSから生体を保護している。これらの防御システムを活用したうえで, 生体ではROSをシグナルとして, または免疫の重要な分子として利用している。

例えば, 炎症時に好中球のNADPHオキシダーゼを中心にROSが産生され, 殺菌などの異物排除に重要な役割を担っている。また, 最近では, 制御されていないと考えられていたミトコンドリアからのROS産生も制御され, 腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor α : TNF α)による炎症反応の収束に働くなどのいくつかの役割を担っていることが明らかになってきている^{3,4)}。しかし, 何らかの原因により, ROSの生成と防御のバランスが破綻をきたし酸化ストレスが増加すると, 動脈硬化, 発癌, 老化などに関連する疾患の発症や増悪をきたしやすくなる。

虚血再灌流におけるXO

虚血時には, XDHは蛋白質分解酵素により不可逆的にXOへと変換される。一方で, 虚血によりミトコンドリアのアデノシン三リン酸(adenosine triphosphate: ATP)合成が停止すると, ATPが分解され, アデノシン一リン酸(adenosine monophosphate: AMP)が増加し, さらに分解されヒポ

キサンチンが増加する。その後, 血流が再開されると再灌流時にもたらされる酸素の供給とXOの作用によりO₂⁻やH₂O₂が生成され, これにより障害が惹起される(図3)⁵⁾。虚血再灌流により生成したO₂⁻は, さらにNOと反応し, 反応活性の著しく高いペルオキシナイトライトONOO⁻が生成される。また, XOがフェリチンから鉄の遊離を促進し, H₂O₂と反応しヒドロキシルラジカル(HO·)を生成する。これらの結果, 生成されたROSによっても障害が惹起される⁶⁾。さらに, pHが6.5に低下した場合, XORがNADPHオキシダーゼ活性を示し, O₂⁻を産生し虚血再灌流障害に働くことも指摘されている⁷⁾。虚血再灌流による組織障害が, XDH阻害薬であるアロプリノールや, XDHからXOへの変換を引き起こす機序の1つである蛋白分解酵素の阻害薬により改善するとの報告などから, 心筋梗塞や脳梗塞などの多くの虚血性疾患の病態に, これらの機序が関与していることが推定されている^{8,9)}。

高血圧と血管疾患

高血圧発症にレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系や交感神経などの多くの因子が関与している。これらのなかで, 実験動物を用いた種々の実験により酸化ストレスが血圧上昇に関与していることが示されている¹⁰⁾。XORが血管内皮細胞に発現していることから, XOもROSの発生源として

考えられている。血管においてXORがROSを産生するためには、D/O変換が起こる必要がある。このD/O変換やXOR発現が、NADPHオキシダーゼなどにより産生されるROSとカルシウムにより促進されることが報告されている¹¹⁾。また、肝細胞中のXORは、肝細胞の代謝に伴い循環血液中にXOとしてリークし、血管の内膜表面の硫酸化グリコサミノグリカンに結合してROSを産生する¹²⁾。

動物実験では、高血圧自然発症ラットのXO活性をタングステンなどにより阻害することにより、血管内皮機能と血圧が正常化することなどが報告されている¹³⁾。ヒトにおける酸化ストレスと高血圧の関係は十分に証明されていないが、高血圧患者は血漿H₂O₂産生が血圧正常者よりも有意に増加していることが示されている。また、XORのポリモルフィズムが血圧と関連することが報告されている¹⁴⁾。このように、高血圧発症の一部にROSが関与することが徐々に示されている¹⁵⁾。

酸化ストレスによる高血圧発症の機序として、アンジオテンシンIIがNADPHオキシダーゼ活性化をとおして、ROSを増加させることが報告されている。また、ROSがNOを失活させ、内皮依存性の血管弛緩反応を抑制し、血圧を上昇させる。さらに、ROSがmitogen-activated protein kinases (MAPK)などの刺激をとおし、血管内皮障害、血管拡張の減少や血管収縮、さらに血管のリモデリングを引き起こし、血圧上昇をきたす機序も考えられ

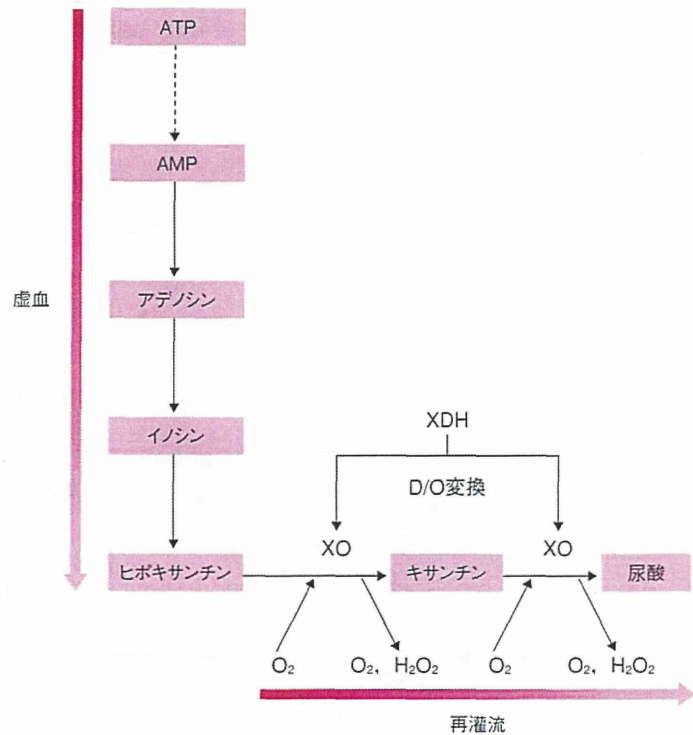


図3 虚血再灌流のメカニズム

ている(図4)¹⁶⁾。

脂質異常症においても、XOが血管内皮機能低下の原因と関係していることが示されている。脂質異常症ラビットの大動脈のリング状標本において、アロプリノールやヘパリンが活性酸素を減少させることや、血管内皮依存性の血管平滑筋弛緩作用を改善させることが示されている¹⁷⁾。また、脂質異常症患者においても、オキシプリノールが血管内皮依存性の血管平滑筋弛緩作用を改善したことが報告されているが、一方で相反する報告もされている。

心疾患

心筋梗塞、心房細動、肺高血圧症、左室肥大や心不全などの心疾患において、ROSが病態の増悪に関与していることが報告されている。これらの心疾患における主要なROS発生源は、XO、NADPHオキシダーゼ、eNOSやミトコンドリア電子伝達系などである。多くの動物実験において、心疾患の組織障害がアロプリノールなどのXOR阻害薬投与により改善することから、病態へのXOの関与が推定されている。

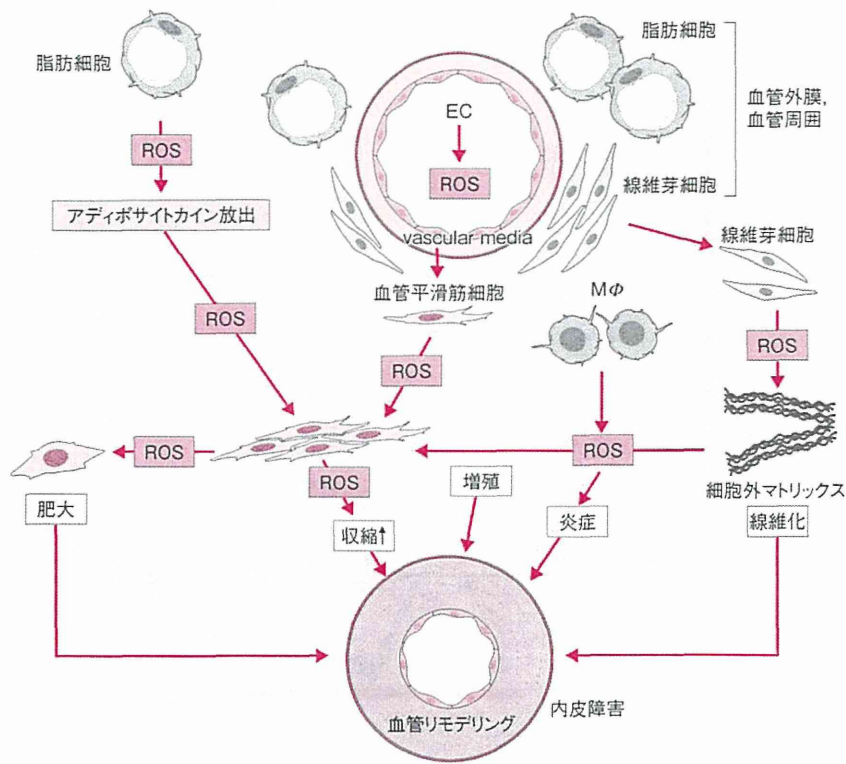


図4 高血圧における血管変化への酸化還元反応の関与(文献16より引用)

血管平滑筋、内皮細胞、外膜繊維芽細胞および外膜脂肪細胞を含む血管壁のすべての種類の細胞はROSを産生する。マクロファージとT細胞もまたROSを産生し、血管由来のROS産生増加をきたし、血管平滑筋細胞の増殖と肥大、血管収縮増強、内皮細胞障害、炎症、細胞外マトリックス沈着と繊維化の増加を引き起こす。これらの過程は、高血圧の根底にある血管変化である内皮と血管の機能の障害と構造のリモデリングの一因となる。

EC：血管内皮細胞
vascular media：血管中膜
Mφ：マクロファージ

心筋梗塞において、虚血再灌流が起り、心筋障害形成にROSが重要な働きをしている。ラットの冠動脈結紮の実験において、アロプリノール投与により、梗塞巣が著しく減少している¹⁸⁾。ヒトにおいても、急性心筋梗塞患者の血清ヒポキサンチンや血清キサンチン濃度が上昇していることが報告

され、XORの関与が示唆された¹⁹⁾。さらに、冠動脈バイパス手術前のアロプリノール投与の有用性につき、無作為2重盲検法比較対照試験により検討され、48時間以内に心筋収縮力増強作用をもつ薬や機械的循環補助装置の必要性をアロプリノールが有意に低下させた²⁰⁾。しかし、ヒトにおいては、心筋

梗塞におけるアロプリノールの有用性およびXOの関与を示唆する報告がある一方で、アロプリノールの有用性を示唆しないデータもあり、見解が一致していない²¹⁾。

心不全においては、心筋リモデリングとよばれる心筋の構築・機能変化が起り、さらに心筋障害や心ポンプ機能低下が悪化し、悪循環が形成されている。心筋リモデリングと心不全の形成、進展においてROSが働いている。心不全において、ミトコンドリア電子伝達系の機能低下をきたし、電子リークを引き起こし、ROSの増加、さらにミトコンドリアDNA障害を起こすという悪循環が形成されている。XOに関しては、ラットの心臓を用いた実験において、心不全の進行と心筋中のXO活性の上昇に相関があり、その上昇した活性が心臓への酸化ストレスを増加させていると報告されている²²⁾。ヒトにおいても、拡張型心筋症患者の心筋中のXDH/XOが増加していることや、高用量のアロプリノール継続投与により死亡率の改善が認められたとの報告がある²³⁾。一方で心不全患者に対するオキシプリノールの第Ⅱ相試験において有用性を示せなかった。

最後に

前述の疾患以外にも肺疾患や脳血管系疾患において、XOがROS発生源としてかかわっていることが、動物実験により立証されている。しかし、ヒト