

厚生労働科学研究費補助金

難治疾患等克服研究事業（腎疾患対策研究事業）

WNKキナーゼをターゲットとしたCKD進展阻止のための新規  
治療薬の開発と最適降圧薬選択法の確立に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 内田 信一

平成 26（2014）年 3月

# 目次

## I . 総括研究報告

WNKキナーゼをターゲットとしたCKD進展阻止のための新規治療薬の開発と最適  
降圧薬選択法の確立に関する研究 ----- 1

内田 信一 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科腎臓内科学)

## II . 分担研究報告

塩分感受性高血圧モデルマウスを用いた塩分ストレスバイオマーカーの探索

蘇原映誠 (東京医科歯科大学医学部附属病院腎臓内科) --- 6

III . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 10

厚生労働科学研究費補助金(難治疾患等克服研究事業(腎疾患対策研究事業))  
(総括)研究報告書

WNKキナーゼをターゲットとしたCKD進展阻止のための新規治療薬の開発と  
最適降圧薬選択法の確立に関する研究

研究代表者 内田信一 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科腎臓内科学  
准教授

研究要旨:

WNK-OSR1/SPAK シグナル伝達系阻害薬の開発のため、OSR1/SPAK と WNK キナーゼの結合を阻害する化合物を化合物ライブラリーからスクリーニングし、OSR1/SPAK と WNK キナーゼの結合を阻害する化合物を数種同定し、培養細胞系、マウスにおいて再現性よく NaCl 共輸送体(NCC)のリン酸化を阻害する seed 化合物 2 種を同定し報告した。

尿中 NaCl 共輸送体(NCC)ならびにリン酸化 NCC(pNCC)測定のための ELISA 系の確立し、ギッテルマン症候群、偽性低アルドステロン症 II 型の診断に有用である事を報告するとともに、100 名程度の CKD 患者での測定も終了し、尿中 NCC 測定のもつチアジド薬感受性スクリーニング法の確立の為の基礎臨床データが得られ、論文報告した。

研究分担者: 蘇原映誠・東京医科  
歯科大学医学部附属病院腎臓内  
科・講師

A. 研究目的

慢性腎臓病 (CKD) の進展阻止の重要な方策の一つが血圧の良好なコントロールであることは論を待たない。また今後はCKDの進展阻止のみならず改善をめざす事が可能な薬剤が求められている。よって本研究では、1) 新たな作用機序による腎機能改善作用を併せ持つ降圧薬の開発をめざす。並行して2) 現役の降圧薬の適切な選択のためのバイオマーカーの開発。さらに3) 血圧コントロールが至適であるかをモニターできるバイオマーカー

の開発を行う。

B. 研究方法

1) の研究計画に関しては、WNK-OSR1/SPAK シグナル伝達系阻害薬の開発のため、WNK キナーゼと SPAK キナーゼの結合を阻害する薬剤のスクリーニングを 24 年度に開発した方法で開始し、約 2 万種の化合物のスクリーニングを終了した。

2) の研究計画については、サイアザイド感受性 NaCl 共輸送体 (NCC) およびその活性化体であるリン酸化 NCC (pNCC) のヒト尿中エクソソーム内の定量を可能にする ELISA 系を 24 年度に確立し、25 年度はヒト検体の尿検体の測定を開始することがで

きた。この研究はヒト尿検体を扱うため、東京医科歯科大学倫理委員会の承認のもと行われた。

3) については、我々の PHAII モデルマウスに高塩負荷を行った際の各種臓器で蛋白レベルの網羅的解析を試みた。また、新規の PHAII モデルマウス (KLHL3 ノックインマウスの作成を研究分担者の蘇原らが行った)。

### C. 研究結果

1) スクリーニングの結果 2 種類の seed 化合物を得て、論文報告した。次年度は、これらの seed 化合物に化学修飾を施し、生体内でより効果を得られる薬剤開発を目指す。また、SPAK キナーゼ自体の阻害薬の開発も行い、こちらも有望な 5 種類の seed 化合物を得ることに成功した。特に既存薬ライブラリーのスクリーニングも行い、そこから得られた seed は毒性の点で次のステップを短縮できる可能性もあり、動物レベルでの効果確認が大いに期待される。

2) 確立した測定法が、ギッテルマン症候群、偽性低アルドステロン症 II 型の診断に有用である事を報告するとともに、100 名程度の CKD 患者での測定も終了し、尿中 NCC 測定のもつチアジド薬感受性スクリーニング法の確立の為の基礎臨床データが得られ、論文報告した。

3) 蛋白レベルで網羅的解析を行う事には、試料の可溶性の問題等で未だ多

くの問題点がある事が判明した。そこで仮に蛋白レベルでの制御だとしても、mRNA 量の変化が 2 次的にでも反映されていることが多いことを考慮し、スクリーニングとしては DNA アレイや、次世代シーケンサーを用いたチップシーケンスにより、これらのアクセシを腎臓、血管、心臓、脂肪細胞等をターゲットとして行い、塩分負荷や高血圧状態で変化する遺伝子群の同定を試み、その有用性を種々の高血圧モデルや新たに作成した腎機能障害モデルで検証する。

### D. 考察

研究計画 1) に関しては 2 つのアプローチからともに有望な seed 化合物が得られており、次年度中に最適化を行う。2) に関しても、ヒトでの 100 例程度の測定が終了し基礎データが得られたため、今後測定系の更なる brush-up を行い、臨床的有用性を確立する。3) に関しては次年度以降、研究分担者が進める遺伝子改変高血圧モデルマウスの検体を用いて上記の網羅的解析を行い、新たなバイオマーカーを得る。

### E. 結論

WNK-OSR1/SPAK シグナル伝達系阻害薬およびサイアザイド感受性検査法開発のための臨床応用への基礎データを確立できた。

### F. 健康危険情報

該当無し。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Isobe K, Mori T, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Kumagai N, Kamada F, Morimoto T, Hayashi M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Development of enzyme-linked immunosorbent assays for urinary thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter (NCC) measurement. *Am J Physiol Renal Physiol.* 305: F1374-81, 2013.
2. Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. *J Dermatol Sci.* 70: 26-33, 2013.
3. Mori T, Kikuchi E, Watanabe Y, Fujii S, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy. *Biochem J.* 455: 339-45, 2013.
4. Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Decrease of WNK4 ubiquitination by disease-causing mutations of KLHL3 through different molecular mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun.* 439: 30-4, 2013.
5. Nomura N, Kamiya K, Ikeda K, Yui N, Chiga M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Treatment with 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin ameliorated symptoms of Bartter syndrome type caused by mutated *Bsnd* in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 441: 544-49, 2013.
6. Sasaki S, Chiga M, Kikuchi E, Rai T, Uchida S. Hereditary nephrogenic diabetes insipidus in Japanese patients: analysis of 78 families and report of 22 new mutations in AVPR2 and AQP2. *Clin Exp Nephrol.* 17: 338-344, 2013.
7. Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases. *Biochem Biophys Res Commun.* 437: 457-62, 2013.
8. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Matsuo H, Murata T, Nomura S, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 causes human hypertension. *Cell Rep.* 3: 858-68, 2013.
9. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Dietary salt intake regulates WNK3-SPAK-NKCC1 phosphorylation cascade in mouse aorta through angiotensin II. *Hypertension.* 62: 872-878, 2013.

### 2. 学会発表

1. Inoue Y, Sohara E, Kobayashi K, Rai T, Ishibashi K, Horie S, Su X, Zhou J, Sasaki S, Uchida S. Aberrant Glycosylation and Localization of Polycystin-1 Cause Polycystic Kidney in AQP11-Knockout Mice. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American

- Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
2. Ishigami J, Tajima M, Motomura A, Rai T, Uchida S, Sasaki S. Association between Mortality Risk and Severity of Acute Kidney Injury among Critical-care Patients from Remote Islands: A Single Center Prospective Cohort Study. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  3. Ishimoto I, Sohara E, Ito E, Chiga M, Iimori S, Okado T, Rai T, Uchida S, Sasaki S. A case of fibronectin glomerulopathy with rapidly progressive, severe nephrotic syndrome leading to end-stage renal disease. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  4. Isobe K, Mori T, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Clinical Significance of Urinary Thiazide-Sensitive Na-Cl Cotransporter (NCC) Measurement by Newly Development Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. The 46<sup>th</sup> Annual meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  5. Mori T, Eriko K, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Chemical library screening for WNK signaling inhibitors by using fluorescent correlation spectroscopy. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  6. Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Analyses of KLHL3 mutants that cause Pseudohypoaldosteronism type II. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  7. Naito S, Iimori S, Okado T, Noda Y, Rai T, Uchida S, Sasaki S. Evaluation of blood pressure control of chronic kidney disease patients prior to nephrologist care in Japan. 50<sup>th</sup> European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) Congress, Istanbul, May, 2013.
  8. Okado T, Iimori S, Noda Y, Yamamura C, Kihira H, Yui N, Rai T, Uchida S, Sasaki S. Anemia status of middle stage CKD patients on their first visit to the nephrology clinic in Japan. 50<sup>th</sup> ERA-EDTA Congress, Istanbul, Turkey, May, 2013.
  9. Susa K, Sohara E, Zeniya M, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Low salt intake decreased transcription and protein level of KLHL3 in mouse kidney. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  10. Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  11. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 activates OSR1 and SPAK

kinases-NaCl cotransporter (NCC) signaling and causes hypertension. The 46<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.

12. Yui N, Uchida S, Sasaki S. Ser-261 phosphorylation is an endocytic signal of aquaporin-2 water channel. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, USA, November, 2013.
13. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. WNK3 Regulates Blood Pressure Through the Regulation of Vascular OSR1/SPAK-NKCC1 Phosphorylation Cascade. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当無し。

厚生労働科学研究費補助金（難治疾患克服研究事業（腎疾患対策研究事業））  
（分担）研究報告書

塩分感受性高血圧モデルマウスを用いた塩分ストレスバイオマーカーの探索

研究分担者 蘇原映誠 東京医科歯科大学医学部附属病院腎臓内科 講師

研究要旨：

塩分感受性高血圧モデルマウスを用いた塩分ストレスバイオマーカーの探索を行うために、新たな塩分感受性高血圧モデルマウス作成を行うとともに、既に作成した遺伝性高血圧モデルマウスであるWNK4変異ノックインマウスに高塩食を負荷し、各種臓器におきる反応を網羅的解析により明らかにする。KLHL3はその遺伝子変異が、WNK4と同様に、ヒト遺伝性塩分感受性高血圧症である偽性低アルドステロン症II型を引き起こす事が判明したが、その生体内での病態生理は不明であった。そこで病原性変異であるR528Hミスセンス変異を発現するノックインマウスを作成し解析した。その結果、腎臓でWNK1とWNK4のタンパク発現量が増大し、下流のOSR1/SPAKキナーゼ-NCC輸送体刺激伝導系が活性化されていることが判明した。

A. 研究目的

WNK キナーゼシグナル伝達系の亢進は、塩分感受性高血圧症を引き起こす。我々はすでに偽性低アルドステロン症 II 型 (PHAII) を引き起こす WNK4 の変異と同じ変異をもつモデルマウス (WNK4 変異ノックインマウス) を作成し PHAII の病態を明らかにしてきた。最近 WNK キナーゼ以外に新たに KLHL3 と Cullin3 の遺伝子異常が PHAII を引き起こす事が示された。本研究では、WNK4 ノックインマウスにおいて塩分負荷が全身臓器に及ぼす影響を種々の網羅的解析により明らかにすることを目的とする。さらに、KLHL3 変異ノックインマウスを作成し、WNK4 ノックインマウスとの類似点と相違点を明らかにすることで、真の新たな塩分ストレス応答因子を明らかにする。

B. 研究方法

塩分感受性の亢進している WNK4 変異ノックインマウスに、急性ないし慢性の高塩食負荷をかけ、各臓器(主として腎組織、血管系、尿、血液など)における mRNA および蛋白の網羅的解析を行い、塩分負荷で著明に反応する分子の候補を得る。また、そのスクリーニングの特異度をあげるため、WNK4 変異以外で PHAII を引き起こす病態モデルマウスを作成し、同様の解析を行い、両方のモデルで共通してみられる現象を高塩ストレスに応答する因子の有力な候補と判断する。実際には KLHL3 において、ヒト PHAII で発見された変異を導入したノックインマウスを作成する。25 年度はその作成に成功し、解析を行った。

C. 研究結果

網羅的解析による、塩分負荷に応答するマーカーの探索は、腎臓での網羅的なリン酸化プロテオームを共同研究



にて行ったが、実質臓器からのリン酸化蛋白の精製、特に可溶性の問題から検出される蛋白の数に限りが見られた。そこで、方針を変更し、まずは最近その精度と再現性が向上したDNAマイクロアレイにてmRNAレベルで変動する遺伝子の同定を行い、現在候補遺伝子の選別と再現性の有無を検証中である。また、エピジェネティックな変化は、最近の次世代シーケンサーの発達とともに、網羅的解析を行えるようになってきている。今回我々は、まだ実質臓器では難しかった網羅的なチップシーケンス解析を腎臓で行う事に成功した。上記のマイクロアレイ解析の結果やRNAシーケンスの結果とあわせて、次年度に取り組むべきターゲットを明らかにする。

一方、ヒトで PHAII を引き起こす KLHL3 の R528H 変異をもつモデルマウスの作成に成功し、解析を行った。その結果、腎臓での WNK1, WNK4 の蛋白量が著増しており、当初の仮説通り、KLHL3 の変異が WNK の分解を阻害し、細胞内で増加した WNK が下流のシグナル系を活性化して PHAII を引き起こしていると思われた。

#### D. 考察

KLHL3 変異ノックインマウス作成により、PHAII の病態の本質、すなわちユビキチン化障害による WNK 蛋白量の増加、が明らかとなった。今後は、この系の破綻が PHAII のみならず、他の WNK キナーゼの制御においても関わりがないかを探るとともに、KLHL を外的に制御して WNK キナーゼシグナル系を

制御する方策を探索する。

塩分負荷や血圧のバイオマーカー探索は、蛋白レベルでは難しいことも判明し、DNA レベルでの検討を行いデータは既に得られた。解析をすすめて、次年度以降に更なる検討を加える。

#### E. 結論

KLHL3 変異ノックインマウス作成と解析を終了し、WNK キナーゼの新たな分解による制御系を明らかにすることができた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Isobe K, Mori T, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Kumagai N, Kamada F, Morimoto T, Hayashi M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Development of enzyme-linked immunosorbent assays for urinary thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter (NCC) measurement. *Am J Physiol Renal Physiol.* 305: F1374-81, 2013.
2. Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. *J Dermatol Sci.* 70: 26-33, 2013.
3. Mori T, Kikuchi E, Watanabe Y, Fujii S, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy. *Biochem J.* 455: 339-45, 2013.
4. Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Decrease of WNK4

- ubiquitination by disease-causing mutations of KLHL3 through different molecular mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun.* 439: 30-4, 2013.
5. Nomura N, Kamiya K, Ikeda K, Yui N, Chiga M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Treatment with 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin ameliorated symptoms of Bartter syndrome type caused by mutated *Bsnd* in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 441: 544-49, 2013.
  6. Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases. *Biochem Biophys Res Commun.* 437: 457-62, 2013.
  7. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Matsuo H, Murata T, Nomura S, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 causes human hypertension. *Cell Rep.* 3: 858-68, 2013.
  8. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Dietary salt intake regulates WNK3-SPAK-NKCC1 phosphorylation cascade in mouse aorta through angiotensin II. *Hypertension.* 62: 872-878, 2013.
2. 学会発表
1. Inoue Y, Sohara E, Kobayashi K, Rai T, Ishibashi K, Horie S, Su X, Zhou J, Sasaki S, Uchida S. Aberrant Glycosylation and Localization of Polycystin-1 Cause Polycystic Kidney in AQP11-Knockout Mice. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  2. Ishimoto I, Sohara E, Ito E, Chiga M, Iimori S, Okado T, Rai T, Uchida S, Sasaki S. A case of fibronectin glomerulopathy with rapidly progressive, severe nephrotic syndrome leading to end-stage renal disease. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  3. Isobe K, Mori T, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Clinical Significance of Urinary Thiazide-Sensitive Na-Cl Cotransporter (NCC) Measurement by Newly Development Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. The 46<sup>th</sup> Annual meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  4. Mori T, Eriko K, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Chemical library screening for WNK signaling inhibitors by using fluorescent correlation spectroscopy. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
  5. Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Analyses of KLHL3 mutants that cause Pseudohypoaldosteronism type II. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.

6. Susa K, Sohara E, Zeniya M, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Low salt intake decreased transcription and protein level of KLHL3 in mouse kidney. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
7. Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
8. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 activates OSR1 and SPAK kinases-NaCl cotransporter (NCC) signaling and causes hypertension. The 46<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.
9. Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S. WNK3 Regulates Blood Pressure Through the Regulation of Vascular OSR1/SPAK-NKCC1 Phosphorylation Cascade. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, November, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当無し。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Isobe K, Mori T, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Kumagai N, Kamada F, Morimoto T, Hayashi M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Development of enzyme-linked immunosorbent assays for urinary thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter (NCC) measurement.	<i>Am J Physiol Renal Physiol.</i>	305	F1374-81	2013
Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S.	Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands.	<i>J. Dermatol Sci.</i>	70	26-33	2013
Mori T, Kikuchi E, Watanabe Y, Fujii S, Ishigami-Yuasa M, Kagechika H, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy.	<i>Biochem J.</i>	29	65-74	2013
Mori Y, Wakabayashi M, Mori T, Araki Y, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Decrease of WNK4 ubiquitination by disease-causing mutations of KLHL3 through different molecular mechanisms.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i>	439	30-4	2013
Nomura N, Kamiya K, Ikeda K, Yui N, Chiga M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Treatment with 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin ameliorated symptoms of Bartter syndrome type caused by mutated <i>Bsnd</i> in mice.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i>	441	544-9	2013
Sasaki S, Chiga M, Kikuchi E, Rai T, Uchida S.	Hereditary nephrogenic diabetes insipidus in Japanese patients: analysis of 78 families and report of 22 new mutations in AVPR2 and AQP2.	<i>Clin Exp Nephrol.</i>	17	338-344	2013

Takahashi D, Mori T, Wakabayashi M, Mori Y, Susa K, Zeniya M, Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	KLHL2 interacts with and ubiquitinates WNK kinases.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i>	437	457-62	2013
Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Matsuo H, Murata T, Nomura S, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 causes human hypertension.	<i>Cell Rep.</i>	3	858-68	2013
Zeniya M, Sohara E, Kita S, Iwamoto T, Susa K, Mori T, Oi K, Chiga M, Takahashi D, Yang SS, Lin SH, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Dietary salt intake regulates WNK3-SPAK-NKCC1 phosphorylation cascade in mouse aorta through angiotensin II.	<i>Hypertension</i>	62	872-8	2013