

## 腎尿細管上皮細胞における電解質輸送体の分子生理学的研究

五十里 彰

Molecular Physiological Study of Electrolyte Transporters  
in Renal Tubular Epithelial Cells

Akira IKARI

*Department of Pharmaco-Biochemistry, School of Pharmaceutical Sciences, University  
of Shizuoka, 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526, Japan*

(Received April 7, 2009)

Patients with lifestyle-related diseases such as hypertension, diabetes, and hyperlipidemia are at high risk for the pathogenesis of a life-threatening atherosclerotic disease. The elucidation of the mechanism responsible for the pathogenesis can bring about the prevention and the cure of lifestyle-related diseases. We think that abnormal transport of electrolytes in renal tubule is involved in lifestyle-related diseases and renal failure. This review focuses on the regulatory mechanisms of  $Mg^{2+}$  transport pathways in renal tubular cells.  $Mg^{2+}$  filtrated by glomeruli is reabsorbed by transcellular and paracellular pathways in renal epithelial cells. Transient receptor potential melastatin 6 (TRPM6) channel is expressed in the apical membrane and involved in the reabsorption of  $Mg^{2+}$ . Cyclosporine A decreased TRPM6 expression and  $Mg^{2+}$  influx, suggesting that the decrease in TRPM6 expression may cause hypomagnesemia. Claudin-16 is expressed in the tight junction (TJ) of the thick ascending limb of Henle and may be involved in the paracellular  $Mg^{2+}$  transport. We found that the phosphorylation of claudin-16 is necessary for its localization on the TJ and claudin-16 is de-phosphorylated in Dahl salt-sensitive (DS) hypertensive rats. In epidemiologic studies, magnesium is the correlate of both systolic and diastolic blood pressure. Dysfunction of claudin-16 may be involved in the salt-sensitive hypertension. Dysfunction of  $Mg^{2+}$  reabsorption in renal tubule may be involved in renal failure and lifestyle-related diseases.

**Key words**—claudin-16; hypertension; kidney; magnesium; transient receptor potential melastatin 6

## 1. はじめに

腎臓は老廃物の排泄，薬剤の排泄，電解質の再吸収といった生命維持において重要な役割を担う。このような物質の輸送には，多くのイオン輸送機構が関与する。腎臓におけるイオン輸送機構の遺伝性疾患には，ナトリウム／カリウム／クロライド共輸送体（NKCC2）やカリウムチャネルの異常による Bartter 症候群<sup>1)</sup> ナトリウム／クロライド共輸送体の異常による Gitelman 症候群<sup>2)</sup> ナトリウム依存性糖輸送体の異常による腎性糖尿病<sup>3)</sup> アミノ酸トランスポーターの異常によるシスチン尿症<sup>4)</sup>などがある。イオン輸送機構の異常により，腎臓に障害が生じるだけでなく，全身に多様な症状が現れる。

高血圧症，糖尿病，高脂血症などの生活習慣病は，一人の患者に重積することが多く，生命を脅かす動脈硬化性疾患の発病リスクが非常に高くなる。生活習慣病の発症や悪化には，遺伝，外部環境，生活習慣といった3つの要因が係わると考えられている。高血圧症は，原因疾患が明らかな二次性高血圧症と原因疾患が不明な本態性高血圧症に分けられる。本態性高血圧症は高血圧患者の約90%を占めており，薬物治療は降圧薬による対症療法となる。そのため，高血圧症の発症機序の解明は，新しい予防薬と治療薬の開発につながると期待される。高血圧症の一因として，ミネラルバランスの異常が報告されており，腎臓におけるイオン輸送機構の異常が，高血圧症の発症や進展に関与すると考えられる。<sup>5-7)</sup>疫学的研究により，マグネシウム摂取量と高血圧症のリスクが逆相関することが報告されている。しかし，高血圧症の患者において，マグネシウム吸収機構に異常があるかどうかは不明である。

静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学（〒422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1）

e-mail: ikari@u-shizuoka-ken.ac.jp

本総説は，平成21年度日本薬学会奨励賞受賞を記念して記述したものである。

アミノグリコシド系抗生物質や免疫抑制薬は、腎障害を引き起こすことが知られているが、そのメカニズムは不明な点が多い。腎障害が進行し腎機能が顕著に低下すると、尿毒症状態になるため、透析療法が必要となる。腎障害の進展を阻止するため、食事療法や高血圧症などに対する薬物療法が行われている。腎障害の発症・進展メカニズムの解明は、新しい治療薬の開発につながると期待される。

われわれは、腎臓におけるマグネシウム輸送機構に着目し、生理的な機能及び発現調節機構を解明するとともに、高血圧症や腎障害との関連について検討した。

## 2. 腎臓におけるマグネシウム再吸収機構

微量栄養素であるマグネシウムは、カルシウム、リンにつぐ骨の構成成分であり、体内に約 25 g が保持されている。マグネシウムの一日に必要な摂取量は 300 mg 程度（成人）であるが、日本人の平均摂取量は約 250 mg で不足しがちなミネラルといえる。マグネシウムが欠乏すると、神経・筋の興奮性の上昇、頻脈や不整脈といった症状がみられる。生体内のマグネシウムバランスは、腎臓における排泄と再吸収により厳密に調節されているが、その調節機構の詳細は不明である。糸球体でろ過されたマグネシウムは、近位尿細管で 15–20%、ヘンレの太い

上行脚で 65–75%、遠位尿細管で 5–10% が再吸収され、最終的に 3–5% が尿中に排泄される。<sup>8)</sup> これらの再吸収の過程には、細胞間を通る傍細胞経路と細胞内を通る経細胞経路が関与する (Fig. 1)。

**2-1. 近位尿細管におけるマグネシウム再吸収機構**  
近位尿細管におけるマグネシウム輸送体の実体は解明されていない。マグネシウムは傍細胞経路と経細胞経路を介して再吸収されると考えられている。ラット近位尿細管由来の NRK-52E 細胞を用いて経細胞的なマグネシウム輸送機構を調べたところ、ナトリウム依存性及び非依存性のマグネシウム排出が観察された (Fig. 2)。<sup>9)</sup> これらの調節因子を調べ、一酸化窒素やアラキドン酸代謝物が関与することを発見した。<sup>10-12)</sup> ナトリウム依存性及び非依存性のマグネシウム排出機構が、尿細管から血管へのマグネシウム輸送を担うと示唆され、これらの機能が一酸化窒素やアラキドン酸代謝物によって調節されることが明らかになった。マグネシウム流入機構に関する研究において、高血圧症とマグネシウム流入異常との関連が示唆される知見が得られた。ダール食塩感受性高血圧発症 (DS) ラットは、1962 年に Sprague-Dawley 系ラットからの選抜交配によって確立された系統であり、<sup>13)</sup> ヒトの食塩感受性高血圧のモデル系として様々な実験に使用されている。

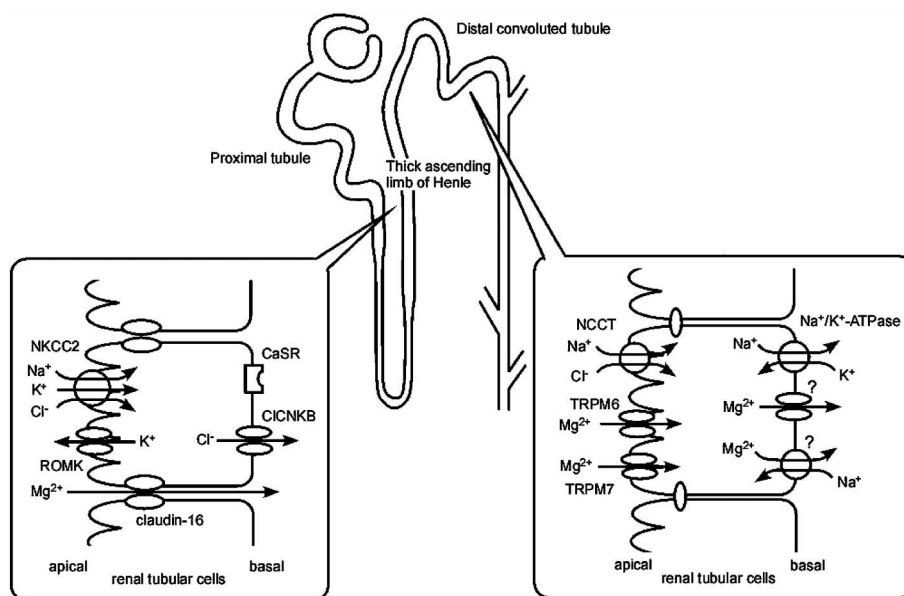


Fig. 1. Magnesium Reabsorption Pathways in Renal Tubule

The renal  $Mg^{2+}$  filtrated in the glomeruli is reabsorbed by the paracellular pathway in the thick ascending limb of Henle (TAL) and by the transcellular pathway in the distal convoluted tubule (DCT). In the TAL, claudin-16 is distributed in the tight junction and makes a  $Mg^{2+}$ -permeable pore. In the DCT, TRPM6 is colocalized with NCCT in the apical membrane. After  $Mg^{2+}$  influx via TRPM6,  $Mg^{2+}$  is extruded by presumably  $Na^+/Mg^{2+}$ -exchanger and  $Mg^{2+}$ -ATPase.

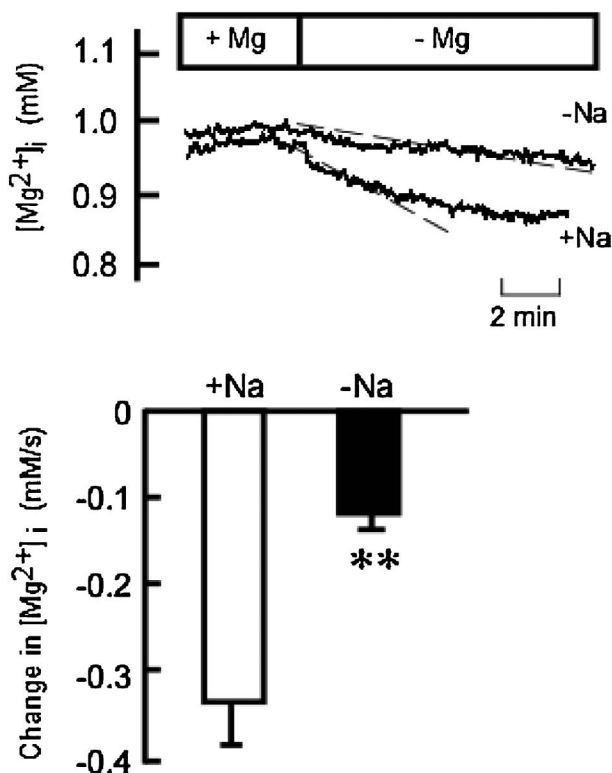


Fig. 2.  $Na^+$ -dependent and Independent  $Mg^{2+}$  Efflux in NRK-52E Cells

(A) Typical traces of  $[Mg^{2+}]_i$  change in NRK-52E cells. The cells were perfused with  $Mg^{2+}$ -containing solution (+Mg), and then with  $Mg^{2+}$ -free solution (-Mg) in the presence and absence of  $Na^+$ . (B) The change in  $[Mg^{2+}]_i$  with time was estimated in the first 200 s following perfusion of  $Mg^{2+}$ -free solution in the presence and absence of  $Na^+$ . \*\* $p < 0.01$  vs. +Na.

DS ラットは、高血圧症になるとともに心不全や腎障害を発症する。さらに、ナトリウムの貯留が増加することが報告されている。われわれは DS ラットを用いて、近位尿細管におけるアミロライド誘導性マグネシウム流入が低下しており、尿中へのマグネシウム排泄が増加することを発見した。<sup>14)</sup> その原因として、一酸化窒素の産生低下が関与すると示唆された。腎臓におけるマグネシウム再吸収の低下が、高血圧症に関与する可能性がある。

**2-2. クローディン-16 を介したマグネシウム輸送** ヘンレの太い上行脚において、マグネシウムは傍細胞経路を介して再吸収される。このマグネシウム再吸収は、上皮膜の電気化学ポテンシャル勾配によって調節される。<sup>15)</sup> つまり、上皮膜電位に影響を与える因子は、マグネシウム再吸収にも影響を及ぼす。この部位の上皮膜電位は、管腔側膜に発現する NKCC2 によって調節される。<sup>16)</sup> 1999 年にエール大学の Simon らは、Familial hypomagnesemia with

hypercalciuria and nephrocalcinosis (FHHNC) 患者から、ポジショナルクローニング法により原因遺伝子のクローディン-16 を発見した。<sup>17)</sup> クローディン-16 は 20 種類以上のメンバーからなるクローディンファミリーに属し、タイトジャンクションの構成因子である。タイトジャンクションは最も管腔側に近い細胞間結合部位で、物質が自由に透過しないようにバリアーとして働くと考えられていた。ヒトクローディン-16 タンパク質は、305 個のアミノ酸からなる 4 回膜貫通型の構造を有し、アミノ末端とカルボキシ末端は細胞内に位置する。カルボキシ末端の PSD95/DglA/ZO-1-like domain (PDZ) 結合モチーフは足場タンパク質の ZO-1 や ZO-2 などと結合し、細胞骨格タンパク質につなぎ止められている。腎臓における発現部位は、ヘンレの太い上行脚と遠位曲尿細管に限局される。FHHNC 患者では、20 種類以上のクローディン-16 の変異体が見つかっており、<sup>17-19)</sup> 変異部位の大部分が膜貫通領域と細胞外領域に分布する。クローディン-16 の変異によるマグネシウム再吸収の異常機構として、クローディン-16 の原形質膜へのトラフィックの阻害、又はマグネシウム輸送機構の阻害が推察される。イヌ腎臓由来の MDCK 細胞にクローディン-16 を発現させたところ、クローディン-16 は ZO-1 とともにタイトジャンクションに分布し、上皮膜間の  $^{45}Ca^{2+}$  透過性が増加した。<sup>20)</sup> このことからクローディン-16 は二価カチオンに対するチャネル又はポアとして働くこと示唆された。高濃度のマグネシウム存在下では  $^{45}Ca^{2+}$  の透過性が低下したことから、カルシウムとマグネシウムが競合的に輸送されたと考えられた (Fig. 3)。Ussing Chamber を用いて上皮膜電位を調べたところ、管腔内の電位は約 +6 mV の陽性であった。二価カチオンの輸送量は、上皮膜電位に依存して変化した (Fig. 4)。クローディン-16 の PDZ 結合モチーフの欠失体や点変異体は、ZO-1 から解離して細胞質に分布した。さらに、二価カチオンの輸送量がコントロールレベルにまで低下した。以上のことから、PDZ 結合モチーフに変異のある FHHNC 患者では、クローディン-16 がタイトジャンクションに分布できないためにマグネシウム再吸収が低下し、低マグネシウム血症になると示唆された。われわれの論文報告後、ほかの変異体の発現と機能に関する研究成果が報告されるよう

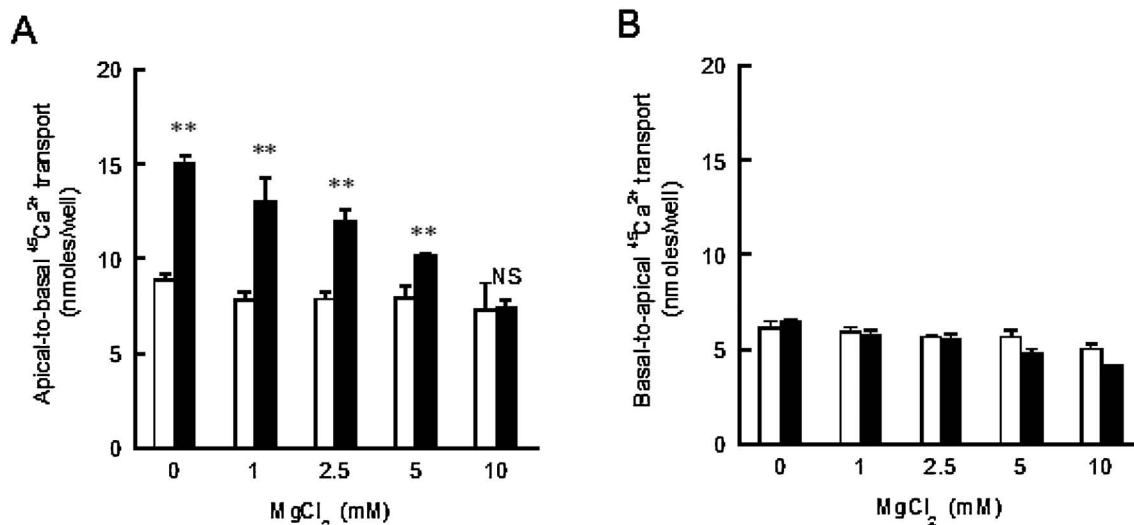


Fig. 3. Inhibition of Ca<sup>2+</sup> Transport by Excess Mg<sup>2+</sup> in the Claudin-16-expressing MDCK Cells

(A) Mock (open columns) and wild-type claudin-16 (closed columns) expressing cells were cultured on transwell inserts. <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup> was added to the apical compartment, and then basal compartment was collected after 60-min. The concentration of MgCl<sub>2</sub> was changed from 0 to 10 mM in the solution of the apical compartment. CaCl<sub>2</sub> concentration was invariable at 1 mM. (B) <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup> was added to the basal compartment, and then the apical compartment was collected after 60-min. The concentration of MgCl<sub>2</sub> was changed from 0 to 10 mM in the solution of the basal compartment. \*\**p*<0.01 vs. mock cells. NS*p*>0.05 vs. mock cells.

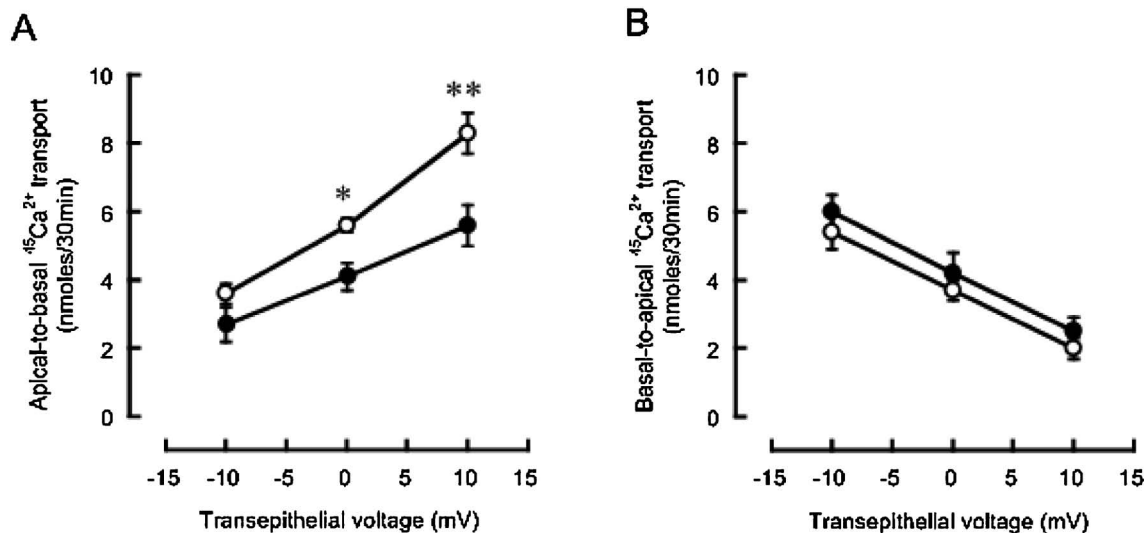


Fig. 4. Increase of Transepithelial Ca<sup>2+</sup> Transport by Positive Electric Potential Gradient

Mock (closed circles) and wild-type claudin-16 (open circles) expressing cells were cultured on transwell inserts. The filter rings were detached and mounted in the Ussing chambers. The transepithelial voltage was clamped at -10, 0, or +10 mV. The solution containing <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup> was added to apical (A) or basal (B) compartments, and then the contralateral compartment was collected after 30-min. \**p*<0.05 and \*\**p*<0.01 vs. mock cells.

になった。<sup>21,22)</sup> クローディン-16の細胞内局在に関する研究を進め、プロテインキナーゼAによるリン酸化機構がタイトジャンクションへの局在調節に関与することを発見した。<sup>23,24)</sup> 食塩感受性高血圧発症ラットでは、クローディン-16が脱リン酸化状態にあったことから、尿中へのマグネシウム排泄の増加の一因として、クローディン-16の局在異常が関与すると示唆された。<sup>25)</sup> 尿細管から再吸収されたマ

グネシウムは、血管側の濃度が上昇しても、尿細管に分泌されない。その理由として、ナトリウムによる電気化学ポテンシャル勾配が影響すると報告されているが、それだけでは十分に説明できない。尿細管上皮細胞の基底側膜には細胞外多価カチオン感知受容体 (CaSR) が発現する。クローディン-16発現細胞にCaSRアゴニストを処理したところ、クローディン-16は細胞質に分布した。<sup>26)</sup> CaSRはGi

タンパク質に共役しており、cAMP濃度を低下させることにより、クローディン-16を脱リン酸化すると示唆された。体内のマグネシウム濃度が増加すると、クローディン-16をタイトジャンクションから解離させることにより、尿細管へのマグネシウムの逆流を防ぐと示唆された。

**2-3. 遠位曲尿細管におけるマグネシウム再吸収機構** 遠位曲尿細管において、マグネシウムは細胞経路を介して再吸収される。カナダのQuammeらのグループの研究により、遠位曲尿細管におけるマグネシウム再吸収は、多くのホルモンによって調節されることが明らかにされたが、その標的分子は不明であった。<sup>27)</sup> 近年、マグネシウムチャンネルとして、transient receptor potential channelファミリーに属するTRPM6とTRPM7がクローニングされた。<sup>28-30)</sup> TRPM6とTRPM7は構造的に52%の相同性を示し、マグネシウムとカルシウムの透過性を有する。TRPM7は様々な臓器にユビキタスに発現しており、細胞の生存に必要なマグネシウムの取り込みを担うと考えられている。一方、TRPM6は主に小腸と腎臓に発現し、マグネシウムの吸収と再吸収を担うと考えられている。TRPM6の転写は、epidermal growth factor (EGF) や estrogen などのホルモン、食事中マグネシウムの低下によって促進される。<sup>31,32)</sup> 電気生理学的手法を用いた研究により、TRPM6チャンネル活性は、細胞外の酸性化によって活性化され、細胞内マグネシウム濃度やATP濃度の上昇によって抑制されることが明らかにされた。<sup>33)</sup> われわれは、TRPM6の転写調節機構に関する研究を進め、EGF受容体の活性化、ERK1/2のリン酸化、c-Fosの発現増加というシグナルを介して、TRPM6の発現量が増加することを発見した。<sup>34,35)</sup> 遺伝的にEGFの分泌が低下した患者において、低マグネシウム血症がみられることから、EGFによるTRPM6の転写調節が、マグネシウム濃度の調節において重要であると示唆される。

免疫抑制薬のシクロスポリン (CsA) や FK506 は、臓器移植後の免疫抑制に使用されるが、低マグネシウム血症や腎障害などの副作用により、使用期限・濃度が制限される。低マグネシウム血症の発症機序が不明であったため、TRPM6の発現に対するシクロスポリンの影響を調べた。シクロスポリンはTRPM6 mRNA とタンパク質の発現を低下させた

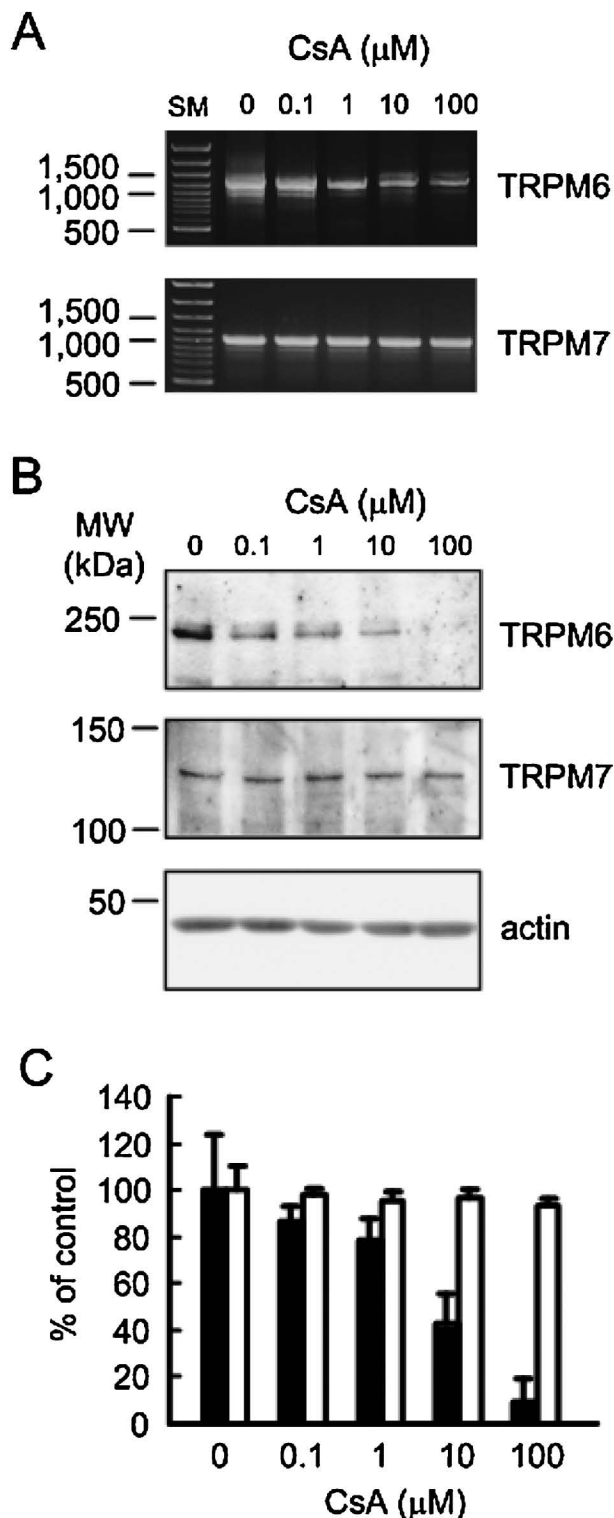
(Fig. 5)。<sup>35)</sup> T細胞において、シクロスポリンはシクロフィリンと複合体を形成し、カルシニューリンと結合し、nuclear factor of activated T cells (NFATc)の核への移行を阻害することにより、免疫反応を阻害する。NFATc阻害薬はTRPM6発現に影響を及ぼさなかったことから、シクロスポリンはほかの因子に作用すると示唆された。そして、シクロスポリンはc-Fosの発現を低下させることにより、TRPM6の発現を低下させる知見が得られた。動物実験では、免疫抑制薬による腎障害が、マグネシウム投与により抑制されることが報告されている。マグネシウム再吸収に影響を及ぼさない免疫抑制薬の開発が、副作用の回避につながると期待される。

### 3. マグネシウム欠乏による細胞増殖の抑制

腎臓は老廃物や薬剤を排泄するため、絶えず過酷な環境に曝露されている。そのため、尿細管上皮細胞の一部は障害を受け、尿中へと排泄される。尿細管が正常な機能を維持するためには、上皮細胞が障害部位へ増殖する必要があると考えられる。細胞増殖の調節におけるマグネシウムの関与を調べるため、TRPM6発現の影響について検討した。細胞増殖は、EGF処理で増加したのに対し、TRPM6 siRNAの導入により低下した。細胞周期を解析したところ、TRPM6発現のノックダウンにより、G1期の細胞が多くなり、S期の細胞が少なくなることが明らかになった (Table 1)。また、TRPM6発現のノックダウンにより、細胞周期調節タンパク質であるサイクリンD1の発現量が低下した。以上のことから、TRPM6発現の低下により、尿細管上皮細胞の増殖が阻害されることが明らかになった。尿細管障害が原因となる腎障害において、マグネシウム再吸収の低下により腎障害が進展すると示唆される。

### 4. おわりに

本総説では、腎臓におけるマグネシウム輸送機構の分子実体、発現調節機構、細胞内分布調節機構、病態との関連についてわれわれの知見を中心に紹介した。マグネシウム欠乏は、神経系や循環器系の機能異常を引き起こすと考えられ、マグネシウムホメオスタシスの調節機構の解明が期待される。TRPM6、TRPM7、クローディン-16といったマグネシウム輸送体が明らかになったが、いまだ不明なマグネシウム輸送体がある。マグネシウム輸送体の機能調節においては、ほかのイオン輸送体と同様に、転写・



翻訳, 細胞内トラフィッキング, チャネル分子への直接作用といった多様な調節機構の存在が明らかになってきた。マグネシウム輸送体をターゲットにした新規薬剤の開発のためには, 未知のマグネシウム輸送体の実体を解明するとともに, 輸送体の調節機構を詳細に検討する必要がある。

**謝辞** 本研究は, 静岡県立大学薬学部産業衛生学教室及び生体情報分子解析学教室において行われたものであり, ご懇篤なるご指導, ご鞭撻を賜りました祐田泰延名誉教授, 三輪匡男名誉教授に深甚なる謝意を表します。また, 貴重なご助言やご指導を頂きました菅谷純子教授, 高木邦明准教授, 原田均講師を始め, その遂行に多大なご協力を頂いた教室の皆様に深く感謝いたします。

## REFERENCES

- 1) Simon D. B., Karet F. E., Hamdan J. M., DiPietro A., Sanjad S. A., Lifton R. P., *Nat. Genet.*, **13**, 183–188 (1996).
- 2) Simon D. B., Nelson-Williams C., Bia M. J., Ellison D., Karet F. E., Molina A. M., Vaara I., Iwata F., Cushner H. M., Koolen M., Gainza F. J., Gitleman H. J., Lifton R. P., *Nat. Genet.*, **12**, 24–30 (1996).
- 3) Kanai Y., Lee W. S., You G., Brown D., Hediger M. A., *J. Clin. Invest.*, **93**, 397–404 (1994).
- 4) Lee W. S., Wells R. G., Sabbag R. V., Mohandas T. K., Hediger M. A., *J. Clin. Invest.*, **91**, 1959–1963 (1993).
- 5) Rotin D., Schild L., *Curr. Drug Targets*, **9**, 709–716 (2008).
- 6) Flatman P. W., *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, **17**, 186–192 (2008).

Fig. 5. Decrease in TRPM6 Expression by CsA in NRK-52E Cells

NRK-52E cells were incubated with CsA for 24 h at the indicated concentration. (A) After the isolation of total RNA from the cells, semi-quantitative RT-PCR was performed using specific primers for TRPM6 and TRPM7. (B) Cytoplasmic lysates (60  $\mu$ g) were immunoblotted with anti-TRPM6, TRPM7, or actin antibody. (C) The band densities of Western blotting were quantified with Doc-It LS image analysis software, and then expressed relative to the value at 0  $\mu$ M. Closed and open columns show TRPM6 and TRPM7 expression, respectively. Actin served as an internal control for normalization purposes.

- 7) Sontia B., Touyz R. M., *Pathophysiology*, **14**, 205–211 (2007).
- 8) Quamme G. A., de Rouffignac C., *Front. Biosci.*, **5**, D694–D711 (2000).
- 9) Ikari A., Nakajima K., Taki S., Suketa Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **451**, 133–139 (2002).
- 10) Ikari A., Nakajima K., Kawano K., Suketa Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **287**, 671–674 (2001).
- 11) Ikari A., Nakajima K., Suketa Y., Harada H., Takagi K., *Jpn. J. Physiol.*, **54**, 415–419 (2004).
- 12) Ikari A., Nakajima K., Suketa Y., Harada H., Takagi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1618**, 1–7 (2003).
- 13) Dahl L. K., Heine M., Tassinari L., *Nature*, **194**, 480–482 (1962).
- 14) Ikari A., Kano T., Suketa Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **294**, 710–713 (2002).
- 15) Di Stefano A., Roinel N., de Rouffignac C., Wittner M., *Ren. Physiol. Biochem.*, **16**, 157–166 (1993).
- 16) Monnens L., Starremans P., Bindels R., *Nephrol. Dial. Transplant*, **15**, 568–571 (2000).
- 17) Simon D. B., Lu Y., Choate K. A., Velazquez H., Al-Sabban E., Praga M., Casari G., Bettinelli A., Colussi G., Rodriguez-Soriano J., McCredie D., Milford D., Sanjad S., Lifton R. P., *Science*, **285**, 103–106 (1999).
- 18) Weber S., Schneider L., Peters M., Misselwitz J., Rönnefarth G., Böswald M., Bonzel K. E., Seeman T., Suláková T., Kuwertz-Bröking E., Gregoric A., Palcoux J. B., Tasic V., Manz F., Schäfer K., Seyberth H. W., Konrad M., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **12**, 1872–1881 (2001).
- 19) Tajima T., Nakae J., Fujieda K., *Pediatr. Nephrol.*, **18**, 1280–1282 (2003).
- 20) Ikari A., Hirai N., Shiroma M., Harada H., Sakai H., Hayashi H., Suzuki Y., Degawa M., Takagi K., *J. Biol. Chem.*, **279**, 54826–54832 (2004).
- 21) Kausalya P. J., Amasheh S., Günzel D., Wurps H., Müller D., Fromm M., Hunziker W., *J. Clin. Invest.*, **116**, 878–891 (2006).
- 22) Hou J., Paul D. L., Goodenough D. A., *J. Cell Sci.*, **118**, 5109–5118 (2005).
- 23) Ikari A., Matsumoto S., Harada H., Takagi K., Hayashi H., Suzuki Y., Degawa M., Miwa M., *J. Cell Sci.*, **119**, 1781–1789 (2006).
- 24) Ikari A., Ito M., Okude C., Sawada H., Harada H., Degawa M., Sakai H., Takahashi T., Sugatani J., Miwa M., *J. Cell. Physiol.*, **214**, 221–229 (2008).
- 25) Ikari A., Matsumoto S., Harada H., Takagi K., Degawa M., Takahashi T., Sugatani J., Miwa M., *J. Physiol. Sci.*, **56**, 379–383 (2006).
- 26) Ikari A., Okude C., Sawada H., Sasaki Y., Yamazaki Y., Sugatani J., Degawa M., Miwa M., *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 283–290 (2008).
- 27) Dai L. J., Ritchie G., Kerstan D., Kang H. S., Cole D. E., Quamme G. A., *Physiol. Rev.*, **81**, 51–84 (2001).
- 28) Schlingmann K. P., Weber S., Peters M., Nejsun L. N., Vitzthum H., Klingel K., Kratz M., Haddad E., Ristoff E., Dinour D., Syrrou M., Nielsen S., Sassen M., Waldegger S., Seyberth H. W., Konrad M., *Nat. Genet.*, **31**, 166–170 (2002).
- 29) Walder R. Y., Landau D., Meyer P., Shalev H., Tsolia M., Borochowitz Z., Boettger M. B., Beck G. E., Englehardt R. K., Carmi R., Sheffield V. C., *Nat. Genet.*, **31**, 171–174 (2002).
- 30) Nadler M. J., Hermosura M. C., Inabe K., Perraud A. L., Zhu Q., Stokes A. J., Kurosaki T., Kinet J. P., Penner R., Scharenberg A. M., Fleig A., *Nature*, **411**, 590–595 (2001).
- 31) Groenestege W. M., Hoenderop J. G., van den Heuvel L., Knoers N., Bindels R. J., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **17**, 1035–1043 (2006).
- 32) Groenestege W. M., Thébault S., van der Wijst J., van den Berg D., Janssen R., Tejpar S., van den Heuvel L. P., van Cutsem E., Hoenderop J. G., Knoers N. V., Bindels R. J., *J. Clin. Invest.*, **117**, 2260–2267 (2007).
- 33) Thébault S., Cao G., Venselaar H., Xi Q., Bindels R. J., Hoenderop J. G., *J. Biol. Chem.*, **283**, 19999–20007 (2008).
- 34) Ikari A., Okude C., Sawada H., Yamazaki Y., Sugatani J., Miwa M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **369**, 1129–1133 (2008).
- 35) Ikari A., Okude C., Sawada H., Takahashi T., Sugatani J., Miwa M., *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **377**, 333–343 (2008).