

特集：腎臓学 この一年の進歩

## 腎と高血圧

Kidney and hypertension

北村健一郎

Kenichiro KITAMURA

### はじめに

「腎と高血圧」領域において2013年11月～2014年10月の1年間に発表された論文のなかで注目すべき臨床研究をあげるとすれば、やはり Symplicity HTN-3 study と CORAL study であろう。どちらも腎交感神経焼灼術と腎動脈ステント留置という腎動脈に対するインターベンションの効果を検証した試験であり、2014年1月と4月の New England Journal of Medicine 誌に発表された。両試験ともインターベンションに対する有意な有効性を示すことができなかったため、多くの反響を呼んだ。基礎研究においては、2012年頃から急速にその病態解明が進んできた偽性低アルドステロン症II型(PHA II)関連の研究がさらに展開している。また、ゲノムワイド関連解析(GWAS)によって高血圧症との関連が示されたウロモジュリン遺伝子による血圧上昇のメカニズムが明らかにされた。本総説では、これらの研究を取り上げ、その概要を紹介したい。

### 腎交感神経焼灼術

本態性高血圧発症進展には、神経性因子や血圧調節ホルモン、循環血液量、血管の内径、血管の弾力性、心拍出量など多くの因子が相互に作用している。腎交感神経活動の亢進はこれらの発症要因に対してさまざまな形で関与していることが、多くの基礎的・臨床的研究によって明らかにされている。腎臓に向かう交感神経系の遠心路が活性化されると、傍糸球体装置の顆粒細胞では $\beta_1$  アドレナリン受容体刺激によってレニン分泌が促進される。レニン分泌の増加によってアンジオテンシンIIの産生が亢進し、その結

果として細動脈は収縮して末梢血管抵抗は増大し、血圧の上昇につながる。尿細管細胞では $\alpha_{1B}$  アドレナリン受容体を介した作用によってNa再吸収が促進され、循環血液量が増加するために血圧はさらに上昇する。腎動脈では $\alpha_{1A}$  受容体を介して腎動脈が収縮し腎血流が低下する。腎実質の障害や腎血流の低下による腎組織内の虚血は、腎交感神経系の求心路を刺激し、中枢性の交感神経系を活性化する。その結果、腎臓への遠心性の交感神経系のみならず心臓や全身の血管床での交感神経系活性が亢進するため、心拍出量の増大と細動脈収縮による末梢血管抵抗の更なる増大を招き、血圧はさらに上昇することになる。すなわち、腎臓の交感神経と中枢の交感神経は互いに影響し合うことで高血圧の発症・維持に関与していると考えられる。

現在のような有効かつ強力な降圧薬が開発されていなかった1940～1950年代には、悪性高血圧症の患者を対象に外科的に交感神経切除術が施行されてきた。しかしながら、術後の膀胱直腸障害や起立性低血圧などの合併症の発生頻度も高かったため、近年では行われることはほとんどなくなっている。近年のカテーテル技術の進歩によって、低侵襲に腎交感神経を選択的に焼灼する技術が確立され、このような外科的治療に取って替わる形で腎交感神経焼灼術が登場した。この方法は、経皮的に大腿動脈からカテーテルを挿入し、腎動脈に細いアブレーションカテーテルを誘導し、高周波エネルギーを用いて腎動脈周囲を走行する腎交感神経を両側かつ全周性に焼灼するものである。この治療法の有効性を検証するためにデザインされた臨床試験が Simplicity study であり、Simplicity HTN-1 はその proof-of-concept 研究である。

当初の結果はすでに2009年の Lancet 誌に報告されている<sup>1)</sup>。除神経術後1カ月から有意な降圧が得られ、その効果はエンドポイントである12カ月後まで持続していた。短

期的な効果は得られたが、焼灼された神経の再生や代償機構による反応などによる長期的な効果の持続性が疑問視されたため<sup>2~4)</sup>、観察期間を36カ月に延長した結果が2014年2月のLancet誌に報告された<sup>5)</sup>。Simplicity HTN-1 studyは、利尿薬を含む降圧薬を3種類以上服用しても収縮期血圧が160 mmHg以上を呈する153例の患者をエントリーし、150例が腎交感神経焼灼術を受け、そのうち88例が36カ月間の観察を終了した。その結果、治療開始前に比べて10 mmHg以上の血圧低下が得られた患者の割合は、1カ月後69%、6カ月後81%、12カ月後85%、24カ月後83%となり、36カ月後には93%であったことが判明し、長期の有効性と安全性が示された。しかしながら、本研究には対照群が設定されていなかったため、対照群をおいたランダム化前向き研究であるSimplicity HTN-2 studyとSimplicity HTN-3 studyが計画された。前者では、ヨーロッパとオーストラリアでSimplicity HTN-1 studyと同様の選択基準を満たした106例の患者を対象として、治療群と対照群が1:1に振り分けられた試験が行われ、6カ月間追跡調査された。その結果、治療群において有意な降圧効果が認められ、安全性も担保されていた<sup>6)</sup>。後者は、米国においてさらに患者数を増やした大規模な試験で、2014年4月にNew England Journal of Medicine誌にその結果が発表された<sup>7)</sup>。この研究では、Simplicity HTN-1 studyと同様の選択基準を満たした535例の患者を治療群と対照群に2:1に振り分け、6カ月間追跡調査した。これまでの腎交感神経焼灼術の臨床試験の結果に反して、本研究では降圧治療における腎交感神経焼灼術の上乗せ効果を得ることができなかった。その原因として考えられるいくつかの理由としては、Simplicity HTN-1と2が非盲検試験であったこと、また、試験に登録されることによって患者の内服薬に対するアドヒアランスが向上してしまった可能性、腎交感神経焼灼術が手技的に成功したかどうか確認が取れないこと、などがあげられていた。この研究結果を受けて、わが国における腎交感神経焼灼術の治験が中止になったことは残念であるが、この治療法の今後の展開には注目していきたい。

## 腎動脈ステント留置術

腎動脈狭窄は高血圧患者の1~5%に認められるといわれ、末梢動脈疾患や冠動脈疾患をしばしば合併する。65歳以上の一般人口の7%近くにこの病態が見つかるという報告もある。また、腎動脈狭窄は高血圧や虚血性腎症など長期にわたって多くの臓器合併症を生じる。若年者に多く認

められる線維筋性異形成(FMD)による腎動脈狭窄症では、血漿レニン活性の上昇による高血圧を呈し、経皮的腎動脈形成術を用いた狭窄の解除によって著明な降圧と萎縮腎の改善が認められることが多い。しかしながら、腎動脈の狭窄が血管の動脈硬化を原因とする場合は、狭窄病変の解除が必ずしも有効な降圧や内服薬の減量、腎機能改善に結びつかないことが多く、1990年代の非対照試験では、腎動脈形成術やステント留置が有意な降圧および腎機能の安定化をもたらしたが、1998~2000年にかけての3つのランダム化試験では、腎動脈形成術による有効な降圧効果が得られなかった<sup>8~10)</sup>。さらに、それに続くステント留置を用いた2つのランダム化試験では、腎機能保持の面でも有効性が見出せなかった<sup>11,12)</sup>。2014年1月のNew England Journal of Medicine誌にCORAL studyの結果が掲載された<sup>13)</sup>。本研究は降圧効果を主要なエンドポイントとしたものではないが、ステント留置に降圧効果や腎機能保持効果があるのであれば、心血管イベントや腎イベントを抑制しうるのであるという仮説を検証するために、これらのイベントをエンドポイントとしてデザインされた。腎交感神経焼灼術同様、腎血管に対するインターベンションを用いた臨床介入試験であり、興味深い結果が得られたため、ここで結果を紹介したい。

動脈硬化性腎動脈狭窄があり、2剤以上の降圧薬を内服しても収縮期高血圧を認める患者、または動脈硬化性腎動脈狭窄がありCKDを有する患者の947例がランダムに内服治療群と内服治療+ステント留置術群に振り分けられた。平均43カ月の観察期間において、一次複合エンドポイント(心血管死亡、脳卒中、心筋梗塞、うっ血性心不全による入院、進行性の腎機能障害、腎代替療法の導入)には2群間に統計学的有意な差を見出すことができなかった。収縮期血圧においては、ステント留置群で観察期間中常に-2 mmHg程度の弱いながらも有意な差を示していたが、この降圧効果がイベント発症抑制にはつながらなかった。この原因として、著者らは、対照群である内服治療群に対して質の高い治療(降圧薬としてARB、アムロジピン、サイアザイド系利尿薬、抗脂質治療として抗血小板薬、アトルバスタチン、厳格な糖尿病治療)が行われたためであろうと推測し、このような内服治療が進んだ時代においてはステント留置の上乗せ効果は期待できないのではないかと締めくくっている。

本稿で紹介した腎動脈に対するインターベンションの2つの大規模臨床試験はともにインターベンションの有効性を示せなかったが、今後は有効例と無効例の詳細な検討を

加えて、メリットが得られる症例を取捨選択することで、これらの治療法の適切な対象患者を見極めていくことも必要になるであろう。

### 偽性低アルドステロン症II型(PHA II)

2001年にPHA IIの原因遺伝子としてWNK1, WNK4が同定され<sup>14)</sup>, その病態におけるこれらkinaseの役割が研究されてきた。WNK1やWNK4をサイアザイド感受性Na-Cl輸送体(NCC)を含むさまざまな輸送体やチャネルと共発現させてその影響を検討した当初の多くの研究では、WNK4はそれら輸送体に対して抑制的な役割を持つことが示されていた<sup>15~20)</sup>。その後、oxidative stress-responsive gene 1(OSR1)とSte20-related proline-alanine-rich kinase(SPAK)がWNK1とWNK4の基質であることが判明し<sup>21,22)</sup>, またOSR1とSPAKがNCCをリン酸化して活性化することも明らかとなった<sup>23)</sup>。さらに、PHA II患者に認められたWNK4変異をknock-inしたマウスを用いた検討で、このWNK-OSR1/SPAK-NCCカスケードが*in vivo*において恒常的に活性化されていることが示され、それがPHA IIの基本病態であることが初めて証明された<sup>23)</sup>。しかしながら、変異WNK4がどのようにこのカスケードの恒常的活性化につながるのかは不明のままだった。2012年に、PHA IIの原因遺伝子として新たにkelch-like protein 3(KLHL3)とcullin3が同定されたが、これらの遺伝子がどのようにPHA IIの病態に関与するのかは、当時は不明だった<sup>24,25)</sup>。KLHL3と同じkelch-like protein familyに属するKLHL7やKLHL20がcullin3と結合し、E3 ligase活性を示すことが報告されていたことから、KLHL3も同様に、cullin3と結合しE3 ligase活性を呈することが推測され、WNK4, KLHL3, cullin3という異なった遺伝子がPHA IIという共通の疾患、すなわちWNK-OSR1/SPAK-NCCカスケードの恒常的活性化を生じることを考え併せると、NCCがKLHL3-cullin3 E3 ligaseの基質であることが想定された。2013年にKLHL3がcullin3とWNK4に相互作用し、WNK4をユビキチン化することで蛋白発現量を減少させることや、WNK1がKLHL3-cullin3の基質である可能性、さらにはKLHL3が直接NCCに結合し、NCCの細胞内局在を調節することも報告された<sup>26~29)</sup>。しかしながら、これらはすべて*in vitro*の研究だったため、*in vivo*のPHA IIの病態におけるKLHL3の標的分子が何であるかを明らかにする必要性が残されていた。

2014年5月にUchidaらの研究グループは、常染色体優

性型のPHA II患者で認められたKLHL3変異をknock-inしたマウスを作製し、*in vivo*での検証を行った<sup>30)</sup>。このマウスは、食塩感受性高血圧や高カリウム血症、代謝性アシドーシスなど、PHA II患者と同様の特徴を有すること、さらにはNCCのリン酸化が亢進していることも確認された。興味深いことに、このマウスの腎臓ではWNK1とWNK4の両者の蛋白レベルの発現が遠位曲尿細管(DCT)において増加しており、ヘテロマウスよりもホモマウスで顕著な増加が認められた。さらに、変異KLHL3はWNK1やWNK4のacidic motifに結合しないことが示され、KLHL3の遺伝子変異によるPHA IIの基本病態は、ユビキチン化の障害によるDCTにおけるWNK1, WNK4の蛋白発現増強であると考えられた。KLHL3変異によるPHA IIの患者は、WNK1やWNK4の変異によるPHA II患者に比べてより重篤な症状を呈することが報告されていたが<sup>24)</sup>, この現象は上記の研究結果から容易に理解できると思われる。すなわち、WNK1やWNK4の変異の場合は、いずれか1つのWNKの発現が亢進し、それによってNCCのリン酸化および活性化が生じるが、KLHL3の変異の場合は、ユビキチン化障害によって2つのWNK発現がともに増加するため、より顕著なNCCのリン酸化および活性化亢進が生じることが考えられ、それによって、より重篤な臨床症状につながるものが推測される。

また、PHA II患者で認められたcullin3の遺伝子変異は、スプライス変異によってexon 9の57アミノ酸が欠失したcullin3( $\Delta$ 403-459)を生じさせる<sup>24)</sup>。この変異によってcullin3のユビキチン化活性が低下してWNK4の分解が低下することが想定されていた。しかしながら、予想に反して2014年8月にEllisonらのグループは、変異cullin3はWNKやKLHL3に結合してユビキチン化する能力を保持しているどころか、むしろ野生型よりもその活性が強いことを明らかにし、活性亢進したcullin3がKLHL3の分解を促進することによってWNK4とKLHL3の結合を阻害し、WNK4の分解を抑制することでNCCのリン酸化による活性化を増強することを見出した<sup>31)</sup>。さらに、尿管特異的cullin3欠損マウスを作製して検討したところ、WNK4の増加とリン酸化NCCの増加は確認できたが、KLHL3の増加は認められなかった。定常状態でcullin3がKLHL3をユビキチン化して分解をしているのであれば、cullin3欠損マウスではKLHL3が増加することが予測されるが、このあたりは今後の検討を待ちたい。

アルドステロンやアンジオテンシンII, インスリンなどの刺激が、WNK-OSR1/SPAK-NCCカスケードを調節する

ことがこれまでの研究によって知られているが、この調節メカニズムに KLHL3-cullin3 による WNK 発現制御機構が関与しているのか、また、関与しているとすればどのようなシグナルによってコントロールされているのかが興味のあるところである。まだまだこの領域から目が離せない状況である。

## ウロモジュリン

最近の 20 万人以上のヨーロッパ系の人種を対象とした GWAS によって、ウロモジュリン遺伝子の SNPs が腎機能や CKD、高血圧と相関関係にあることが判明している<sup>32-38</sup>。ウロモジュリン(または Tamm-Horsfall 蛋白)は尿中に最も豊富に存在する蛋白で、ヘンレのループの太い上行脚(TAL)で特異的に分泌される。最近の研究によってウロモジュリンが TAL で NaCl の再吸収を担う 2 つの主要なイオン輸送体である Na-K-Cl 共輸送体(NKCC2)と腎髄質外層 K チャネル(ROMK)の活性を制御することが示唆されている<sup>39,40</sup>。

Rampoldi らの研究グループは、GWAS によって同定された最も有意な SNPs がウロモジュリン遺伝子のプロモーターに存在することから、この SNPs がウロモジュリン発現に影響があると考えて検証したところ、rs4293393 の risk allele はウロモジュリン遺伝子のプロモーター活性を約 2 倍に増加させることが明らかとなった<sup>41</sup>。この影響を *in vivo* で確認するためにウロモジュリンのトランスジェニックマウスを作製したところ、食塩感受性高血圧の表現型が得られ、この血圧上昇はヘテロよりもホモで顕著であった。また、腎臓における NKCC2 のリン酸化は、野生型>ヘテロ>ホモの順に増加しており、ホモマウスにおいては SPAK、OSR1 のリン酸化も亢進していた。さらに、フロセミドによる Na 利尿、降圧効果はトランスジェニックマウスにおいて顕著であることが判明した。これらの事実から、GWAS によって同定されたウロモジュリン遺伝子の SNP はウロモジュリンの発現を亢進させ、NKCC の活性化を介して食塩感受性高血圧発症に寄与することが考えられた。ウロモジュリン遺伝子の risk allele をホモで持つ高血圧患者は、そうでない高血圧患者に比べてフロセミドに対する反応性が高いことも明らかとなり、マウスで認められた血圧上昇メカニズムがヒトにも当てはまることが示唆された。しかしながら、ウロモジュリンが SPAK/OSR1 を活性化するメカニズムについては今後の検討が必要である。

## おわりに

この 1 年間に発表された論文のなかで、筆者の興味を引いた研究を中心に概説した。基礎研究で取り上げた 2 つの研究は、1 つは稀少遺伝子疾患の変異遺伝子の解析、もう 1 つは GWAS という common disease に対する大規模な遺伝子解析という対極的な手法によって Na 代謝制御にかかわる普遍的な調節機構を解明したという点でも興味深い。今後もさまざまな手法によって、血圧調節における腎臓の役割がさらに解明されることを期待したい。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

## 文献

1. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, Sobotka PA, Sadowski J, Bartus K, Kapelak B, Walton A, Sievert H, Thambar S, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet* 2009; 373(9671): 1275-1281.
2. Schlaich MP, Hering D, Sobotka P, Krum H, Lambert GW, Lambert E, Esler MD. Effects of renal denervation on sympathetic activation, blood pressure, and glucose metabolism in patients with resistant hypertension. *Front Physiol* 2012 Feb 2; 3: 10. doi: 10.3389.
3. Schmieder RE, Redon J, Grassi G, Kjeldsen SE, Mancia G, Narkiewicz K, Parati G, Ruilope L, van de Borne P, Tsioufis C. ESH position paper: renal denervation—an interventional therapy of resistant hypertension. *J Hypert* 2012; 30(5): 837-841.
4. Mahfoud F, Luscher TF, Andersson B, Baumgartner I, Cifkova R, Dimario C, Doevendans P, Fagard R, Fajadet J, Komajda M, et al. Expert consensus document from the European Society of Cardiology on catheter-based renal denervation. *Eur Heart J* 2013; 34(28): 2149-2157.
5. Krum H, Schlaich MP, Sobotka PA, Bohm M, Mahfoud F, Rocha-Singh K, Katholi R, Esler MD. Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the Symplicity HTN-1 study. *Lancet* 2014; 383(9917): 622-629.
6. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Bohm M. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376(9756): 1903-1909.
7. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, D'Agostino R, Flack JM, Katzen BT, Leon MB, Liu M, Mauri L, Negoita M, et al. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med* 2014; 370(15): 1393-1401.
8. van Jaarsveld BC, Krijnen P, Pieterman H, Derckx FH, Deinum J,

- Postma CT, Dees A, Woittiez AJ, Bartelink AK, Man in't Veld AJ, et al. The effect of balloon angioplasty on hypertension in atherosclerotic renal-artery stenosis. Dutch Renal Artery Stenosis Intervention Cooperative Study Group. *N Engl J Med* 2000 ; 342 (14) : 1007-1014.
9. Plouin PF, Chatellier G, Darne B, Raynaud A. Blood pressure outcome of angioplasty in atherosclerotic renal artery stenosis : a randomized trial. *Essai Multicentrique Medicaments vs Angioplastie (EMMA) Study Group. Hypertension* 1998 ; 31 (3) : 823-829.
  10. Webster J, Marshall F, Abdalla M, Dominiczak A, Edwards R, Isles CG, Loose H, Main J, Padfield P, Russell IT, et al. Randomised comparison of percutaneous angioplasty vs continued medical therapy for hypertensive patients with atheromatous renal artery stenosis. *Scottish and Newcastle Renal Artery Stenosis Collaborative Group. J Human Hypert* 1998 ; 12(5) : 329-335.
  11. Wheatley K, Ives N, Gray R, Kalra PA, Moss JG, Baigent C, Carr S, Chalmers N, Eadington D, Hamilton G, et al. Revascularization versus medical therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med* 2009 ; 361 (20) : 1953-1962.
  12. Bax L, Woittiez AJ, Kouwenberg HJ, Mali WP, Buskens E, Beek FJ, Braam B, Huysmans FT, Schultze Kool LJ, Rutten MJ, et al. Stent placement in patients with atherosclerotic renal artery stenosis and impaired renal function : a randomized trial. *Ann Int Med* 2009 ; 150(12) : 840-848, w150-1.
  13. Cooper CJ, Murphy TP, Cutlip DE, Jamerson K, Henrich W, Reid DM, Cohen DJ, Matsumoto AH, Steffes M, Jaff MR, et al. Stenting and medical therapy for atherosclerotic renal-artery stenosis. *N Engl J Med* 2014 ; 370(1) : 13-22.
  14. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, Ishikawa K, Nelson-Williams C, Desitter I, Gunel M, Milford DV, Lipkin GW, Achard JM, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science(NY)* 2001 ; 293 (5532) : 1107-1112.
  15. Wilson FH, Kahle KT, Sabath E, Lalioti MD, Rapson AK, Hoover RS, Hebert SC, Gamba G, Lifton RP. Molecular pathogenesis of inherited hypertension with hyperkalemia : the Na-Cl cotransporter is inhibited by wild-type but not mutant WNK4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100(2) : 680-684.
  16. Yang CL, Angell J, Mitchell R, Ellison DH. WNK kinases regulate thiazide-sensitive Na-Cl cotransport. *J Clin Invest* 2003 ; 111 (7) : 1039-1045.
  17. Kahle KT, Wilson FH, Leng Q, Lalioti MD, O'Connell AD, Dong K, Rapson AK, MacGregor GG, Giebisch G, Hebert SC, et al. WNK4 regulates the balance between renal NaCl reabsorption and K<sup>+</sup> secretion. *Nat Genet* 2003 ; 35 (4) : 372-376.
  18. Yamauchi K, Rai T, Kobayashi K, Sohara E, Suzuki T, Itoh T, Suda S, Hayama A, Sasaki S, Uchida S. Disease-causing mutant WNK4 increases paracellular chloride permeability and phosphorylates claudins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101(13) : 4690-4694.
  19. Ring AM, Cheng SX, Leng Q, Kahle KT, Rinehart J, Lalioti MD, Volkman HM, Wilson FH, Hebert SC, Lifton RP. WNK4 regulates activity of the epithelial Na<sup>+</sup> channel *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104(10) : 4020-4024.
  20. Yang CL, Liu X, Paliege A, Zhu X, Bachmann S, Dawson DC, Ellison DH. WNK1 and WNK4 modulate CFTR activity. *Biochem Biophys Res Com* 2007 ; 353(3) : 535-540.
  21. Moriguchi T, Urushiyama S, Hisamoto N, Iemura S, Uchida S, Natsume T, Matsumoto K, Shibuya H. WNK1 regulates phosphorylation of cation-chloride-coupled cotransporters via the STE20-related kinases, SPAK and OSR1. *J Biol Chem* 2005 ; 280(52) : 42685-42693.
  22. Vitari AC, Deak M, Morrice NA, Alessi DR. The WNK1 and WNK4 protein kinases that are mutated in Gordon's hypertension syndrome phosphorylate and activate SPAK and OSR1 protein kinases. *Biochem J* 2005 ; 391(Pt 1) : 17-24.
  23. Yang SS, Morimoto T, Rai T, Chiga M, Sohara E, Ohno M, Uchida K, Lin SH, Moriguchi T, Shibuya H, et al. Molecular pathogenesis of pseudohypoaldosteronism type II : generation and analysis of a Wnk4(D561A/+ ) knockin mouse model. *Cell Metab* 2007 ; 5(5) : 331-344.
  24. Boyden LM, Choi M, Choate KA, Nelson-Williams CJ, Farhi A, Toka HR, Tikhonova IR, Bjornson R, Mane SM, Colussi G, et al. Mutations in kelch-like 3 and cullin 3 cause hypertension and electrolyte abnormalities. *Nature* 2012 ; 482(7383) : 98-102.
  25. Louis-Dit-Picard H, Barc J, Trujillano D, Miserey-Lenkei S, Bouatia-Naji N, Pylypenko O, Beaurain G, Bonnefond A, Sand O, Simian C, et al. KLHL3 mutations cause familial hyperkalemic hypertension by impairing ion transport in the distal nephron. *Nat Genet* 2012 ; 44(4) : 456-460, s1-3.
  26. Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, et al. Impaired KLHL3-mediated ubiquitination of WNK4 causes human hypertension. *Cell Rep* 2013 ; 3(3) : 858-868.
  27. Wu G, Peng JB. Disease-causing mutations in KLHL3 impair its effect on WNK4 degradation. *FEBS Lett* 2013 ; 587(12) : 1717-1722.
  28. Shibata S, Zhang J, Puthumana J, Stone KL, Lifton RP. Kelch-like 3 and Cullin 3 regulate electrolyte homeostasis via ubiquitination and degradation of WNK4. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110(19) : 7838-7843.
  29. Ohta A, Schumacher FR, Mehellou Y, Johnson C, Knebel A, Macartney TJ, Wood NT, Alessi DR, Kurz T. The CUL3-KLHL3 E3 ligase complex mutated in Gordon's hypertension syndrome interacts with and ubiquitylates WNK isoforms : disease-causing mutations in KLHL3 and WNK4 disrupt interaction. *Biochem J* 2013 ; 451(1) : 111-122.
  30. Susa K, Sohara E, Rai T, Zeniya M, Mori Y, Mori T, Chiga M, Nomura N, Nishida H, Takahashi D, et al. Impaired degradation of WNK1 and WNK4 kinases causes PHAII in mutant KLHL3 knock-in mice. *Human Mol Genet* 2014 ; 23(19) : 5052-5060.
  31. McCormick JA, Yang CL, Zhang C, Davidge B, Blankenstein KI, Terker AS, Yarbrough B, Meermeier NP, Park HJ, McCully B, et

- al. Hyperkalemic hypertension-associated cullin 3 promotes WNK signaling by degrading KLHL3. *J Clin Invest* 2014 ; 124 (11) : 4723-4736.
32. Padmanabhan S, Melander O, Johnson T, Di Blasio AM, Lee WK, Gentilini D, Hastie CE, Menni C, Monti MC, Delles C, et al. Genome-wide association study of blood pressure extremes identifies variant near UMOD associated with hypertension. *PLoS Genet* 2010 ; 6(10) : e1001177.
33. Kottgen A, Glazer NL, Dehghan A, Hwang SJ, Katz R, Li M, Yang Q, Gudnason V, Launer LJ, Harris TB, et al. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2009 ; 41(6) : 712-717.
34. Kottgen A, Pattaro C, Boger CA, Fuchsberger C, Olden M, Glazer NL, Parsa A, Gao X, Yang Q, Smith AV, et al. New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2010 ; 42(5) : 376-384.
35. Pattaro C, De Grandi A, Vitart V, Hayward C, Franke A, Aulchenko YS, Johansson A, Wild SH, Melville SA, Isaacs A, et al. A meta-analysis of genome-wide data from five European isolates reveals an association of COL22A1, SYT1, and GABRR2 with serum creatinine level. *BMC Med Genet* 2010 ; 11 : 41.
36. Gudbjartsson DF, Holm H, Indridason OS, Thorleifsson G, Edvardsson V, Sulem P, de Vegt F, d'Ancona FC, den Heijer M, Wetzels JF, et al. Association of variants at UMOD with chronic kidney disease and kidney stones—role of age and comorbid diseases. *PLoS Genet* 2010 ; 6(7) : e1001039.
37. Boger CA, Gorski M, Li M, Hoffmann MM, Huang C, Yang Q, Teumer A, Krane V, O'Seaghdha CM, Kutalik Z, et al. Association of eGFR-related loci identified by GWAS with incident CKD and ESRD. *PLoS Genet* 2011 ; 7(9) : e1002292.
38. Pattaro C, Kottgen A, Teumer A, Garnaas M, Boger CA, Fuchsberger C, Olden M, Chen MH, Tin A, Taliun D, et al. Genome-wide association and functional follow-up reveals new loci for kidney function. *PLoS Genet* 2012 ; 8(3) : e1002584.
39. Mutig K, Kahl T, Saritas T, Godes M, Persson P, Bates J, Raffi H, Rampoldi L, Uchida S, Hille C, et al. Activation of the bumetanide-sensitive Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup> cotransporter (NKCC2) is facilitated by Tamm-Horsfall protein in a chloride-sensitive manner. *J Biol Chem* 2011 ; 286(34) : 30200-30210.
40. Renigunta A, Renigunta V, Saritas T, Decher N, Mutig K, Waldegger S. Tamm-Horsfall glycoprotein interacts with renal outer medullary potassium channel ROMK2 and regulates its function. *J Biol Chem* 2011 ; 286(3) : 2224-2235.
41. Trudu M, Janas S, Lanzani C, Debaix H, Schaeffer C, Ikehata M, Citterio L, Demaretz S, Trevisani F, Ristagno G, et al. Common noncoding UMOD gene variants induce salt-sensitive hypertension and kidney damage by increasing uromodulin expression. *Nat Med* 2013 ; 19(12) : 1655-1660.