

発表番号 51 (0524)

Na⁺ 依存性乳酸輸送の腎尿酸再吸収機構における役割

安西 尚彦 (杏林大学医学部)

金井 好克 (杏林大学医学部)

平田 拓 (杏林大学医学部)

ヒト及び霊長類は、尿酸酸化酵素を欠損しているため、尿酸は代謝を受けずに腎臓より排泄される。ヒト腎臓では *urate/anion exchanger* の存在により尿酸輸送は再吸収優位となり、他の哺乳類と比べ血中尿酸値が高い。そこで尿酸排泄低下は高尿酸血症・痛風の原因となり、尿酸排泄亢進が腎性低尿酸血症の成因となる (Curr Rheumatol Rep, 2005)。我々のグループではこれらの病態に関与が推測される尿酸トランスポーター URAT1 遺伝子同定に成功し、これが腎尿細管管腔側膜の *urate/anion exchanger* であり、URAT1 遺伝子変異が特発性腎性低尿酸血症の一因となることを報告した (Nature, 2002)。続いて本助成研究者は PDZ 蛋白質の PDZK1 が URAT1 の結合パートナーであることを解明し、URAT1 発現細胞への PDZK1 共発現が、尿酸輸送活性を増加させることを明らかにした。 (J Biol Chem, 2004)

腎尿細管における尿酸取り込みは、従来間接的に尿細管での Na⁺取り込みとリンクしていることが示されていた。その機序として Na⁺依存性モノカルボン酸取り込み機構により、細胞内に蓄積した乳酸およびニコチン酸外向きの濃度勾配を利用して、*urate/anion exchanger* が尿酸を取込むという機能連関が想定されていた。URAT1 による尿酸輸送は、乳酸やニコチン酸などの細胞内の交換基質の外向きの濃度勾配の存在により増強される。最近これらのモノカルボン酸を Na⁺ 依存性に尿細管に取り込む新規トランスポーター SMCT (Sodium-dependent

monocarboxylate transporter) が同定された。我々は SMCT C 末端が PDZK1 と結合することを酵母 Two-hybrid 法により確認した (Curr Opin Nephrol Hypertens, 2005) ことで、腎近位尿細管管腔側膜における PDZK1 を介したタンパク質間相互作用により URAT1 と SMCT からなる尿酸輸送分子複合体がユニットとして存在し、Na⁺ 依存性尿酸輸送機構の分子実体となる可能性を予測した。本研究ではこの分子複合体の実証による乳酸を介した Na⁺ 依存性尿酸輸送機構の解明を最終目的とし、その準備段階として本研究期間内に、SMCT-PDZK1 結合のモノカルボン酸輸送に対する影響の解明を試みた。

SMCT1 の C 末端配列をベイトとし、ヒト腎臓 cDNA ライブラリーに対して酵母 Two-hybrid screening を行い、PDZK1 を同定されることを確認した。SMCT-PDZK1 結合には、SMCT C 末端の PDZ モチーフと、PDZK1 の第一および第三 PDZ ドメインが重要であり、この PDZK1 第三 PDZ ドメインでの SMCT との結合が、URAT1-PDZK1-SMCT という三者複合体の形成を理論上可能とした。URAT1 および PDZK1 の共局在が報告されている腎近位尿細管管腔側膜に SMCT immunoreactivities が確認されたことは、さらに三者複合体形成の可能性を支持した。この三者複合体の証明が今後の重要な課題となる。

助成番号 0524

Na⁺ 依存性乳酸輸送の腎尿酸再吸収機構における役割

安西 尚彦 (杏林大学医学部薬理学教室)

金井 好克 (杏林大学医学部薬理学教室)

平田 拓 (杏林大学医学部薬理学教室)

①研究目的

ヒト及び霊長類は、尿酸酸化酵素を欠損しているため、尿酸は代謝を受けずに腎臓より排泄される。ヒト腎臓では尿酸再吸収に働く *urate/anion exchanger* の存在により腎尿酸輸送は再吸収優位となり、他の哺乳類と比べ血中尿酸値が高い。そこで尿酸排泄低下は高尿酸血症・痛風の原因となり、尿酸排泄亢進が腎性低尿酸血症の成因となる¹⁾。申請者らのグループではこれらの病態に関与が推測される尿酸トランスポーター (Urate transporter 1: URAT1) 遺伝子同定に成功し、これが腎尿細管管腔側膜の *urate/anion exchanger* であり、URAT1 遺伝子変異が特発性腎性低尿酸血症の一因となることを報告した²⁾。同患者の尿中尿酸排泄率は 90%以上であるため、腎臓の尿酸再吸収の大部分が URAT1 により行われ、URAT1 は血中尿酸調節に関与すると予測された²⁾。そこで本助成研究者らは URAT1 の C 末端配列をベイトとして利用した酵母 Two-hybrid 法をヒト腎臓 cDNA ライブラリーに対して行い、細胞内 PDZ 蛋白質の PDZK1 を同定することに成功した³⁾。PDZK1 は URAT1 C 末端にある PDZ モチーフ (T-Q-F) を介したタンパク質間相互作用により URAT1 と結合すること、また4つある PDZK1 の PDZ ドメインのうちドメイン 1, 2, 4 と結合することがわかった。URAT1 安定発現細胞に PDZK1 の遺伝子導入を行うと、腎臓の尿酸輸送活性を増加させることが明らかになり、これは PDZK1 の発現により URAT1 の細胞膜上での発現増加を伴ったことから、URAT1 分子の膜上での発現の安定化により、見かけ上の尿酸輸送活性が観察されたものと考えられた³⁾。

腎尿細管における尿酸取り込みは、従来間接的に尿細管での Na⁺ 取り込みとリンクしていることが示されていた⁴⁾。その機序として Na⁺ 依存性モノカルボン酸取り込み機構により、細胞内に蓄積した乳酸およびニコチン酸外向きの濃度勾配を利用して、尿酸/陰イオン交換輸送体が尿酸を取り込むという機能連関が想定されていた。我々の研究グループにより 2002 年に同定された尿酸/陰イオン交換輸送体 URAT1 による尿酸輸送は、乳酸やニコチン酸などの細胞内の交換基質の外向きの濃度勾配の存

在により増強された²⁾。最近この乳酸を Na⁺ 依存性に尿細管に取り込む新規トランスポーター SMCT (Sodium-dependent monocarboxylate transporter) が同定された⁵⁾。我々は SMCT C 末端が PDZK1 と結合することを酵母 Two-hybrid 法により確認したことより⁶⁾、腎近位尿細管管腔側膜における PDZK1 を介したタンパク質間相互作用による URAT1 と SMCT による尿酸輸送分子複合体がユニットとして存在し、従来から指摘されてきた細胞外液量変動による血中尿酸値変化を説明する Na⁺ 依存性尿酸輸送機構の解明につながると予測された。本研究ではこの分子複合体の証明による乳酸を介した Na⁺ 依存性尿酸輸送機構の解明を目的とする。

②研究方法

1. PDZK1 を介したタンパク質間相互作用による URAT1 と SMCT による尿酸輸送分子複合体の証明

URAT1/PDZK1/SMCT 三者による分子複合体が存在することの実証を最終目的として、*in vitro* および *in vivo* の系を用いて検討する。

1. 1 SMCT-PDZK1 相互作用の解明

1. 1. 1 ヒト SMCT C 末端配列をベイトとするヒト腎臓 cDNA library を対象とした酵母 Two-hybrid screening

強制的な酵母 Two-hybrid assay により、SMCT C 末端と PDZK1 が相互作用をすることは、既に見出しているが、この結合が実際のヒト腎臓 cDNA library を対象とした際にも検出できるかどうかを明らかにするため、ヒト SMCT C 末端配列をベイトとし、同 library を対象にした酵母 Two-hybrid screening⁷⁾を行った。

1. 1. 2 SMCT C 末端 PDZ モチーフの PDZK1 結合への意義

SMCT C 末端のアミノ酸配列は G-T-R-L であり、Type I PDZ モチーフに分類される。そこでこの最後の 3 アミノ酸残基の欠損変異体 ($\Delta 3$) と、2 箇所の結合必須アミノ酸のアラニン置換変異体 (T608A, L610A) を作成し、PDZK1 全長プレイベクターとの結合性を酵母 Two-hybrid assay を用いて検討した。

1. 1. 3 PDZK1 単一 PDZ ドメインの SMCT C 末端との結合 profile の解明

URAT1 では、その C 末端が PDZK1 の4つの PDZ ドメインのうち、ドメイン 1, 2, 4 と結合することは既に報告している。本研究では SMCT C 末端が PDZK1 の4つの PDZ ドメインのうちどれと結合するかを明らかにするため、URAT1 での検討の際に用いた PDZK1 の単一の PDZ ドメインだけを持つ vector construct を用いて、酵母 Two-hybrid 法により結合ドメインを特定する。

1. 2 抗ヒト SMCT 抗体の作成

今後行われる免疫組織染色および生化学的実験への利用のため、ヒト SMCT 細胞内 N 末端配列および C 末端配列部分のアミノ酸配列の一部を用いて、抗原ペプチドを合成し、それに対するウサギ・ポリクローナル抗体を作成した。

1. 3 SMCT 腎臓内局在の確認

PDZK1 を介し、URAT1 と SMCT がリンクされていることの証明の一つとして、3つのタンパク質の同一ネフロンセグメント内共発現を確認するため、ヒト腎臓切片を材料に、抗ヒト SMCT 抗体を用いた免疫組織染色⁸⁾を行った。

2. SMCT 遺伝子一過性発現細胞を用いたモノカルボン酸輸送に与える PDZK1 効果の検討

URAT1 および SMCT など個々の単一遺伝子だけではその概念が確立できなかった、腎近位尿細管の乳酸を介する Na⁺ 依存性尿酸輸送機構を、URAT1/SMCT 共発現細胞という再構成系を用いて検討することを最終目的とし、その準備段階として SMCT-PDZK1 結合のモノカルボン酸輸送に対する影響を解明する。

2. 1 SMCT 全長 cDNA 哺乳類発現用ベクターコンストラクト作成

我々は米国 Georgia 医科大学教授 Vadivel Ganapathy 氏よりヒト SMCT 全長クローンの供与を受けている。本クローンを pcDNA3.1/Zeocin にサブクローニングし、pcDNA3.1/Zeocin-SMCT コンストラクトを作成する。

2. 2 PDZK1 overexpression によるモノカルボン酸輸送活性への影響

2a で作成したベクターを Lipofection 法により HEK293 細胞導入する。さらに同時に PDZK1 遺伝子導入を行い、その有無によるモノカルボン酸輸送活性変化を調べる⁸⁾。

③研究結果

1. PDZK1 を介したタンパク質間相互作用による URAT1 と SMCT による尿酸輸送分子複合体の証明

1. 1 SMCT-PDZK1 相互作用の解明

1. 1. 1 ヒト SMCT C 末端配列をベイトとするヒト腎臓 cDNA library を対象とした酵母 Two-hybrid screening

ヒト SMCT C 末端配列を PCR 法により増幅してベイトベクターを作成し、ヒト腎臓 cDNA library を対象にした酵母 Two-hybrid screening を行った。3.7 X 10⁶ 酵母クローンのスクリーニングにより、22 個の GFP レポーター遺伝子陽性クローンを同定した。シークエンス解析の結果、その内の 13 個が予想された PDZ タンパク質の PDZK1 であり、SMCT と PDZK1 の結合は、腎臓において生理的にも重要な相互作用であることが推測された。さらに今回新規の PDZ タンパク質 SEMCAP3 が 3 個同定された。

1. 1. 2 SMCT C 末端 PDZ モチーフの PDZK1 結合への意義

SMCT C 末端の最後の 3 アミノ酸残基の欠損変異体 ($\Delta 3$)、および 2 箇所の結合必須アミノ酸のアラニン置換変異体 (T608A, L610A) ベイトと PDZK1 全長プレイベクターとの結合性の結果を Fig. 1 に示す。

| | C terminal | | | | | LEU | GFP | |
|-------------------|------------|---|----|---|---|-----|-----|---|
| hSMCT-WT | S | N | G | T | R | L* | + | + |
| hSMCT- $\Delta 3$ | S | N | G* | | | | - | - |
| hSMCT-L610A | S | N | G | T | R | A* | - | - |
| hSMCT-T608A | S | N | G | A | R | L* | - | - |

Fig. 1 Interaction between SMCT C-term mutants and PDZK1

本実験結果で示されたように、C 末端の 3 種の変異体において、PDZK1 との結合が失われたことから、SMCT と PDZK1 との結合には SMCT C 末端の PDZ モチーフが重要であることが確認された。

1. 1. 3 PDZK1 単一 PDZ ドメインの SMCT C 末端との結合 profile の解明

PDZK1 の4つの PDZ ドメインを持つが、SMCT C 末端が PDZK1 の4つの PDZ ドメインのうちどれと結合するかを明らかにするため、PDZK1 の単一の PDZ ドメインだけを持つ vector construct を用いて、酵母 Two-hybrid 法を行った。結果を Fig. 2 に示す。

| | | PDZ1 | PDZ2 | PDZ3 | PDZ4 |
|----------|----------|------|------|------|------|
| hSMCT-CT | SNG TRL* | + | - | + | - |

Fig. 2 Interaction between SMCT C-term and PDZK1 single PDZ domains

以上の結果より、SMCT と PDZK1 との結合には PDZK1 の第一および第三 PDZドメインが重要であることが確認された。

1.2 抗ヒト SMCT 抗体の作成

ヒト SMCT 細胞内 N 末端配列(MDTPRGIGT)および C 末端配列(NSDQSGKSNGLRL)部分のアミノ酸配列の一部を用いて、抗原ペプチドを合成し、それに対するウサギ・ポリクローナル抗体を作成した。

1.3 SMCT 腎臓内局在の確認

PDZK1 を介し、URAT1 と SMCT がリンクされていることの証明の一つとして、3つのタンパク質の同一ネフロンセグメント内共発現を確認するため、ヒト腎臓切片を材料に、抗ヒト SMCT 抗体を用いた免疫組織染色を行った。その結果を Fig. 3 に示す。

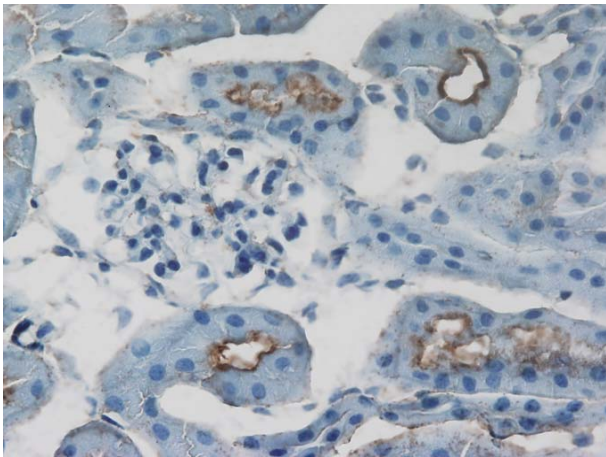


Fig. 3 Intrarenal localization of human SMCT

SMCTのC末抗体では染色性が認められなかったが、N末抗体では、Fig. 3 に示すような金に尿細管管腔側膜において SMCT の immunoreactivities が観察された。我々は同部位で尿酸トランスポーターURAT1、および PDZ タンパク質の PDZK1 が局在することを報告している。直接証明とはならないものの、SMCT, URAT1, PDZK1 の三者が局在する可能性を示唆し、またその共局在は生理的に意味のあるものと考えられた。

2. SMCT 遺伝子一過性発現細胞を用いたモノカルボン酸輸送に与える PDZK1 効果の検討

2.1 SMCT 全長 cDNA 哺乳類発現用ベクターコンストラクト作成

ヒト SMCT 全長クローンを pcDNA3.1/Zeoicin にサブクローニングし、pcDNA3.1/Zeoicin-SMCT コンストラクトを作成した。

2.2 PDZK1 overexpression によるモノカルボン酸輸送活性への影響

2a で作成したベクターを Lipofection 法により HEK293 細胞導入する。さらに同時に PDZK1 遺伝子導入を行い、その有無によるモノカルボン酸輸送活性変化を調べる。結果を Fig. 4 に示す

Fig. 4 に示すように、URAT1 の際には認められた PDZK1 による輸送活性増加効果は、SMCT においては認められなかった。

そこでこれが Host として用いた培養細胞による可能性を考慮し、続いて HRPE 細胞への一過性発現を行った。

Fig. 5 に示すように、SMCT の輸送活性は PDZK1 の共遺伝子導入により約 1.7 倍の増強効果が認められた。

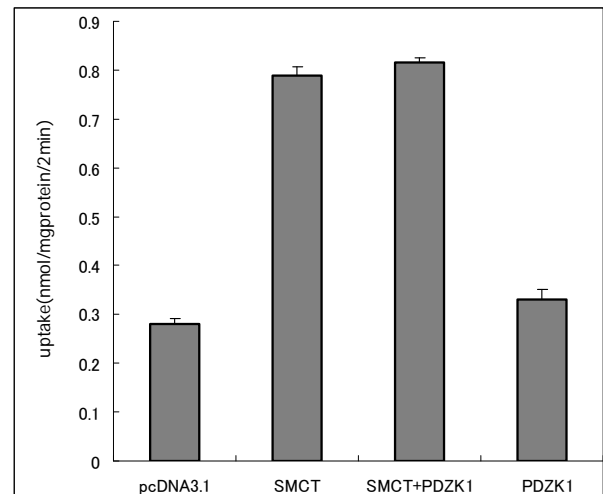


Fig. 4 The effect of PDZK1 coexpression on transiently-expressed hSMCT on HEK293 cells

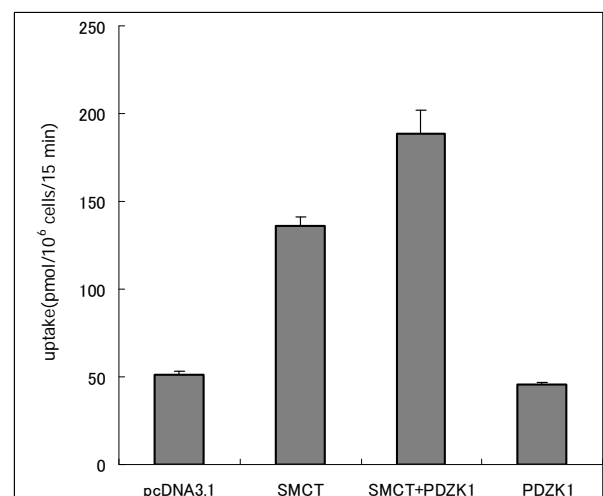


Fig. 5 The effect of PDZK1 coexpression on transiently-expressed hSMCT on HEK293 cells

④考察

従来腎臓における尿酸の取込みは、間接的に尿細管での Na^+ 取り込みとリンクしていることが示されていた⁴⁾。その機序として Na^+ 依存性モノカルボン酸取込み機構により、細胞内に蓄積した乳酸およびニコチン酸外向きの濃度勾配を利用して、尿酸/陰イオン交換輸送体が尿酸を取込むという機能連関が想定されていた。我々の研究グループによる 2002 年の尿酸/陰イオン交換輸送体 URAT1 の同定²⁾に続く、 Na^+ 依存性モノカルボン酸輸送体 SMCT (Sodium-dependent monocarboxylate transporter) の同定⁵⁾は、 Na^+ 依存性尿酸輸送機構の分子機序の解明に大きな手がかりを与えたと言える。さらに近位尿細管における尿流量を考慮に入れた際に、これら2つのトランスポーター分子が、効率的な機能協間を達成するためには、近位尿細管管腔側膜において機能的に連関するだけでなく、物理的にも近傍に存在しているのではないかと着想するに至った。そこで予備実験を行い、我々は SMCT C 末端が PDZK1 と結合することを酵母 Two-hybrid 法により確認した⁶⁾ ことより、腎近位尿細管管腔側膜における PDZK1 を介したタンパク質間相互作用による URAT1 と SMCT による尿酸輸送分子複合体がユニットとして存在することが、 Na^+ 依存性尿酸輸送機構の分子機序ではないかというアイデアに至った (Fig. 6)。本研究ではこの分子複合体の証明による乳酸を介した Na^+ 依存性尿酸輸送機構の解明を最終目的として、その第一段階となる SMCT-PDZK1 結合のモノカルボン酸輸送に対する影響を解明した。

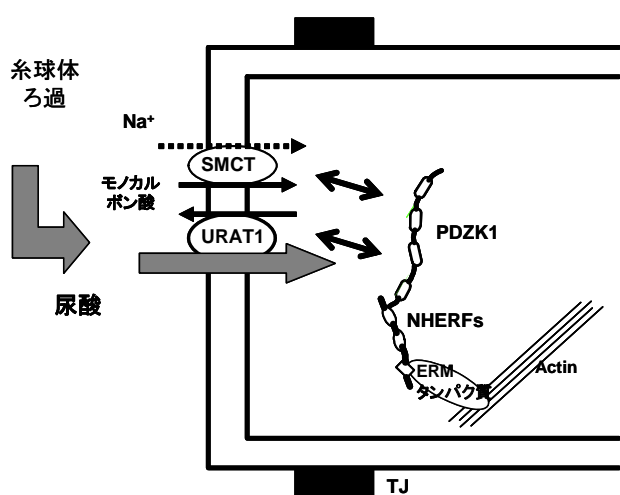


Fig. 6 Model of sodium-dependent urate transport at the apical membrane of the renal proximal tubules

SMCT-PDZK1 結合は、予備実験の段階で予想されたように、SMCT C 末端の PDZ モチーフと、PDZK1 の第一および第三 PDZ ドメインが重要であった (Figs. 1, 2) が、この PDZK1 第三 PDZ ドメインでの SMCT との結合は、URAT1 との物理的リンクを考える上で重要である。すなわち URAT1 では、その C 末端が PDZK1 の4つの PDZ ドメインのうち、ドメイン 1, 2, 4 と結合することを既に報告しているが、第三ドメインでの URAT1 の結合は生じない。すなわちこの空席の第三ドメインを SMCT が占めることで、URAT1-PDZK1-SMCT という三者複合体が理論上可能となると言える。

この可能性は SMCT のヒト腎臓に対する免疫組織化学染色結果によっても示された (Fig. 3)。これまでに尿酸トランスポーター URAT1、および PDZ タンパク質の PDZK1 が局在することが報告されている腎近位尿細管管腔側膜に SMCT の Immunoreactivities が確認されたため、少なくとも三者は同一のネフロンセグメントで機能していることが示され、さらに三者複合体形成の可能性は高まったと言える。

URAT1 と PDZK1 の HEK293 細胞への遺伝子共発現により、URAT1 の尿酸輸送活性が約 1.4 倍に増加した。そこで、三者複合体形成時の解析の第一段階として、今回は SMCT と PDZK1 の HEK293 細胞への共導入を行った。しかし Fig. 4 に示すように、SMCT 輸送活性の増加効果は認められなかった。興味深いことに、ヒト網膜細胞由来の HPRE 細胞における遺伝子共発現では、PDZK1 による SMCT 輸送活性の増加効果を認めた (Fig. 5) が、このことは発現する細胞ごとにその効果が違うこと、すなわち細胞の持つ基本的システムの相違が、これら分子複合体形成における役割の違いを表すという着想を初めて見出すことになった。

しかし本研究期間に行った SMCT C 末端をベイトとする酵母 Two-hybrid screening にて新たな PDZ タンパク質 SEMCAP3 の同定に成功したが、SMCT-PDZK1 の結合は、SEMCAP3 との競合を受ける可能性があり、そのことが PDZK1 を介した URAT1 との機能的連関の制御因子となることも考えられる。その中においては、HEK293 細胞における SMCT 輸送活性への効果がないことが大きな違いとはならないということも考える。

以上 Na^+ 依存性尿酸輸送機構の解明を最終目的とした本研究で、研究期間内にその第一段階となる SMCT-PDZK1 結合の PDZ 相互作用の関与を明らかにし、またモノカルボン酸輸送に対する影響を解明することができた。

⑤今後の課題

当初より検討をしながら、実現に至らなかった問題として以下の点があげられる。

1. URAT1/PDZK1/SMCT 三者複合体の証明

三者の遺伝子の哺乳類細胞 (HEK293, COS 等) への共導入、大腸菌発現系 (GST 融合タンパク質等) ないし *in vitro* 合成系を用いた調整 URAT1, PDZK1, SMCT タンパク質会合法による三者複合体の形成、さらには抗 URAT1、抗 SMCT、抗 PDZK1 各抗体および GST 融合 URAT1, PDZK1, SMCT タンパク質を Probe とし、Affinity pull-down MS/MS 法を用いたタンパク質複合体存在の証明などの方法により、推定的なものに留まらず、URAT1/PDZK1/SMCT 三者が複合体を形成することを示すことは、今後の生理実験への展開を考えた際に重要な課題であると考えられ、今後継続して検討してゆく予定である。

2. URAT1 と SMCT の共発現細胞を用いた Na⁺ 依存性尿酸輸送の検討

既に我々は URAT1 安定発現 HEK293 細胞を樹立しているが、そこに pcDNA3.1/Zeocin-SMCT を Lipofection 法により導入し、Zeocin 耐性を利用してセレクションを行うことで、URAT1/SMCT 共発現細胞樹立を現在も試みている。報告書提出期限の関係で、本共発現細胞に PDZK1 遺伝子導入を行って、その有無による Na⁺ および尿酸輸送活性変化を調べた結果は、今回の報告会にて発表することとし、今後も本共発現細胞株を用いて、複合体の機能的役割の解明を目指してゆく。

文献等

- (1) Anzai N, Enomoto A, Endou H.: Renal urate handling: clinical relevance of recent advances. *Curr Rheumatol Rep.* 7(3): 227-234, 2005.
- (2) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, Shigeta Y, Jutabha P, Cha SH, Hosoyamada M, Takeda M, Sekine T, Igarashi T, Matsuo H, Kikuchi Y, Oda T, Ichida K, Hosoya T, Shimokata K, Niwa T, Kanai Y, Endou H.: Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature.* 417(6887): 447-452, 2002
- (3) Anzai N, Miyazaki H, Noshiro R, Khamdang S, Chairoungdua A, Shin HJ, Enomoto A, Sakamoto S, Hirata T, Tomita K, Kanai Y, Endou H.: The multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 regulates transport activity of renal urate-anion exchanger URAT1 via its C terminus. *J Biol Chem.* 279(44): 45942-45950, 2004
- (4) Roch-Ramel F, Guisan B, Schild L.: Indirect coupling of urate and p-aminohippurate transport to sodium in human brush-border membrane vesicles. *Am J Physiol.* 270(1 Pt 2): F61-F68, 1996
- (5) Gopal E, Fei YJ, Sugawara M, Miyauchi S, Zhuang L, Martin P, Smith SB, Prasad PD, Ganapathy V.: Expression of slc5a8 in kidney and its role in Na(+)-coupled transport of lactate. *J Biol Chem.* 279(43): 44522-44532, 2004
- (6) Anzai N, Jutabha P, Kanai Y, Endou H.: Integrated physiology of proximal tubular organic anion transport. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 14(5): 472-479, 2005.
- (7) Anzai N, Deval E, Schaefer L, Friend V, Lazdunski M, Lingueglia E.: The multivalent PDZ domain-containing protein CIPP is a partner of acid-sensing ion channel 3 in sensory neurons. *J Biol Chem.* 277(19): 16655-16661, 2002
- (8) Miyazaki H, Anzai N, Ekaratanawong S, Sakata T, Shin HJ, Jutabha P, Hirata T, He X, Nonoguchi H, Tomita K, Kanai Y, Endou H.: Modulation of renal apical organic anion transporter 4 function by two PDZ domain-containing proteins. *J Am Soc Nephrol.* 16(12): 3498-3506, 2005

0524

Role of Na⁺-dependent lactate transport in renal urate reabsorption

Naohiko Anzai, Yoshikatsu Kanai, Taku Hirata
Department of Pharmacology and Toxicology
Kyorin University School of Medicine

Summary

Urate is the major inert end product of purine degradation in higher primates because of the genetic silencing of hepatic oxidative enzyme uricase. The kidney plays a dominant role in urate elimination. Therefore, it is important to understand renal urate handling mechanism because the underexcretion of urate has been implicated in the development of hyperuricemia that leads to gout. Recently, we have identified the urate-anion exchanger URAT1 (SLC22A12) in the human kidney and found that defects in SLC22A12 lead to idiopathic renal hypouricemia. URAT1 is targeted by uricosuric and antiuricosuric agents that affect urate excretion. Using yeast two-hybrid approach, we identified the multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 as an apparent partner of URAT1 in the kidney. Co-expression experiments demonstrated that URAT1 transport activities are increased by PDZK1/URAT1 interactions. Recently, Ganapathy and his colleagues identified that SLC5A8 is a Na⁺-coupled transporter for monocarboxylates such as lactate and nicotinate. SLC5A8 is a candidate tumor suppressor gene, recently cloned from human intestine and demonstrated its functional identity as a sodium-coupled monocarboxylate transporter (SMCT). Through the Na⁺-coupled reabsorption of lactate, the counterion for URAT1, the modulation of SMCT function may affect the URAT1-mediated urate transport. We have preliminary observed that SMCT C-terminal that has PDZ motif (-T-R-L) binds to PDZK1. Physical coupling between URAT1 and SMCT via PDZK1 forms a single functional complex and it seems appropriate for the effective reabsorption of urate through the monocarboxylate handling in the renal proximal tubules. Deletion of the SMCT1 C-terminal PDZ motif abolished the interaction with PDZK1 in the yeast two-hybrid system. In addition, the first and third PDZ domains of NHERF3 associate strongly with the SMCT1 C-terminus. Localization of SMCT1 was detected at the apical side of the proximal tubules in human kidney. The association of hSMCT1 with PDZK1 enhanced [³H]nicotinate transport activities in HRPE cells (1.7-folds).