

신 세관의 이온 통로 및 운반체 단백질

한림대학교 의과대학 내과학교실

김 근 호

신 세관에서의 이온 이동은 통로 (channel)를 통한 단순 확산과 운반체 (transporter 혹은 carrier)를 통한 촉진확산 혹은 능동적 운반 과정에 의한다. 단백 수준에서 확인된 이온 통로에는 epithelial Na channel (ENaC), ROMK potassium channel, CLC chloride channel 및 epithelial Ca channel (ECaC)이 있다. 주요 이온 운반체로는 Na^+/H^+ Exchanger (NHE), Type IIa NaPi cotransporter (NPT2a), $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ cotransporter (NBC), Na^+-Cl^- cotransporter (NCC), $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ cotransporter (NKCC)가 있다.

서 론

이온들은 지용성 물질과 달리 세포막의 지질을 통과하지 못하므로 세포막 단백질에 의해 형성된 통로(channel)를 통해 이동할 수 있다. 이러한 통로들은 어떤 이온들에 대해 각기 매우 특이적이므로 이에 따라 나트륨 통로, 칼륨 통로 등이라 불린다. 통로를 통한 이동의 힘은 전기화학적 경사에 의해 발휘되므로 단순확산 과정이라 할 수 있다. 이에 비해, 어떤 세포막 단백질들은 특정 이온과 결합하여 그 3차원적 구조를 변형시키면서 이온을 세포 내 혹은 외로 이동시킨다. 이러한 세포막 단백질을 운반체 (transporter 혹은 carrier)라 하고 촉진확산 혹은 능동적 운반 과정에 관여한다. 이 글에서는 신장 상피세포의 내강 막과 기저외측 막에서 규명된 주요 이온 통로 및 운반체 단백질들에 대해 요약하고자 한다. 이들 중 수분과 산/염기 대사에 주로 역할하는 것들은 다른 장에서 다루므로 제외하였다. 독자의 이해를 위하여, 굳이 국문 번역하기 곤란한 문구들은 영문 그대로 표기하였다.

본 론

1. 이온 통로

1) Epithelial Na Channel (ENaC)

ENaC은 α , β , γ 의 세 가지 homologous subunit가 $\alpha_2\beta\gamma$ 의 tetramer를 이루어 구성된다. 이들은 알도스테론이 작용하여 나트륨을 흡수하는 신장 집합관, 원위부 대장 및 폐 상피에 분포한다. 각 subunit는 약 500개의

아미노산으로 구성되어 분자량이 85-95 kDa이고, 하나의 세포의 루우프와 세포내 NH_2 -terminal 및 COOH -terminal을 갖는다¹⁾. 그런데 예상과 달리, 각 subunit는 알도스테론에 반응하는 양상이 서로 다르고, 같은 subunit라도 조직에 따라 다른 변화를 나타낸다. 즉, 알도스테론에 반응하여 신장과 폐에서는 α subunit abundance가 증가하는 반면, 원위부 대장에서는 β 및 γ subunit abundance가 증가한다^{2,3)}.

각 subunit의 기능은 이들의 돌연변이에 의한 질환 또는 knock-out mice model에서 추론할 수 있다. Volume-expanded low-renin hypertension의 상염색체 우성형인 Liddle syndrome은 β 혹은 γ subunit의 COOH -terminal에서 발생하는 gain-of-function mutation에 의해 초래되고⁴⁾, α 혹은 γ subunit의 loss-of-function mutation에 의해서는 염분 소실, 고칼륨혈증 및 대사성 산증으로 발현하는 상염색체 열성형인 pseudohypoaldosteronism type 1이 발생한다⁵⁾.

ENaC은 알도스테론, 바소프레신, 당류코르티코이드, 인슐린 등 호르몬에 의해 활성이 조절된다. 최근에는 주로 간접적인 경로로 ENaC 활성을 조절하는 accessory protein들이 알려졌다. 그 중 serum- and glucocorticoid-regulated kinase (sgk1), K-Ras2A, channel-activating protease 1 (CAP-1) 등이 자극 인자이고, Nedd4, syntaxin 1A, CFTR 등은 억제 인자에 해당한다⁶⁾. sgk1은 알도스테론 자극에 의해 초기에 유도되는데 ENaC을 내강 세포막으로 이동하도록 매개하는 역할이 있는 듯하다⁷⁾.

2) ROMK

Patch-clamp technique에 의하여 여러 칼륨 통로들이

책임저자: 김근호, 한강성심병원 내과
Tel: (02)2639-5408 Fax: (02)677-9756
E-mail: gheunho@hanmail.net

신장내 존재하고 분포함이 알려졌다. 그 중 클로닝되고 생리학적 기능이 잘 알려진 칼륨 통로가 ROMK이다. ROMK channel은 비후상행각 내강 막과 집합관 주세포의 내강 막에서 칼륨 분비의 중요한 기능을 수행하는 low-conductance K channel에 해당한다⁸⁾. 이는 전기생리학적으로 voltage-gated (Kv) family와 구분되는 inward-rectifier family에 속하므로 Kir 1.1로도 표시된다.

ROMK 단백질은 두 transmembrane domain과 세포내 NH₂-terminal 및 COOH-terminal을 갖는 구조로서, tetramer를 이루어 그 가운데로 칼륨을 이동시킨다. splice variant인 아형이 쥐의 경우 세 가지, 사람에서는 다섯 가지가 알려졌는데 이들은 NH₂-terminal 아미노산 일부가 서로 다를 뿐이다⁹⁾. ROMK1 transcript는 피질 및 외수질 집합관에 분포하고, ROMK3 transcript는 수질 비후상행각, 원위 곡세관 및 연결관에 분포하며, ROMK2 transcript는 수질 비후상행각으로부터 피질 집합관까지 분포한다. ROMK 단백질 또한 비후상행각, 원위 곡세관, 연결관, 피질 및 외수질 집합관에 분포한다. ROMK1 단백질의 크기는 45 kDa이고, NH₂- 및 COOH-terminal에 PKA, PKC 혹은 protein tyrosine kinase가 작용하는 인산화에 의해 ROMK 활성이 조절된다. 예를 들어 칼륨 섭취가 증가하면 tyrosine kinase를 매개로 ROMK trafficking (insertion과 endocytosis 사이의 평형 변화)이 발생하여 집합관 주세포 내강 막에 분포하는 ROMK 발현이 증가한다¹⁰⁾. 또한 ROMK는 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), sulfonylurea receptor (SUR) 및 A kinase anchoring proteins (AKAP)과 같은 막 단백질과 상호 작용하는데 그 생리학적 의의에 대해서는 아직 분명하지 않다¹¹⁾.

3) CLC

이제까지 포유류에서 9가지 CLC chloride channel이 클로닝되었다¹²⁾. 주로 골격근에 발현하는 CLC-1을 제외한 나머지 CLC channel은 모두 신장에서 발견된다. 그 중 CLC-K1, CLC-K2 및 CLC-5의 생리학적 역할에 대해 비교적 잘 알려졌다.

CLC-K1은 헨레 루우프 박상행각 (thin ascending limb)의 내강 및 기저외측 막에 분포하여 염소 이온을 이동시킨다. 이는 내수질 간질의 고장성을 유지시켜 요 농축 기능의 중요한 한 요소로 작용한다. 실제로 CLC-K1 유전자 파괴 생쥐에서 신성 요붕증이 증명된 바 있

다¹³⁾. CLC-K2는 사람의 경우 CLC-Kb라고 불리는데, CLC-K1과 아미노산 상동성이 약 80%이다. CLC-K1 유전자 파괴 생쥐를 이용한 조사에 의하면, CLC-K2는 비후상행각, 원위 곡세관, 및 연결관의 기저외측 막에 분포한다¹⁴⁾. CLC-Ka와 CLC-Kb가 기능을 제대로 하려면 barttin이란 막 단백질이 chloride channel의 β -subunit로서 함께 작용해야 한다고 최근 알려졌다¹⁵⁾.

CLC-5는 그 돌연변이가 Dent's disease의 원인이라는 사실로 주목받게 되었다. Dent's disease는 X 염색체-연관 열성으로 유전하며, 저분자량 단백질뇨, Fanconi 증후군, 고칼슘뇨증, 신결석 및 신부전으로 발현한다. 쥐 신장에서 조사된 바에 의하면, CLC-5는 근위 세관과 피질 집합관의 α 형 사이세포에서 H⁺-ATPase와 함께 분포한다¹⁶⁾.

4) Epithelial Ca Channel (ECaC)

사구체에서 여과된 칼슘은 98% 이상 세관에서 재흡수됨으로써 칼슘 항상성이 유지된다. 칼슘 재흡수의 대부분은 근위 세관과 헨레 루우프 비후상행각에서 passive, paracellular pathway에 의해 일어나지만, 원위 곡세관 (DCT), 연결관(CNT) 및 피질 집합관의 시작 부위에서 조절되는 transcellular transport가 요 중 칼슘 배설을 결정짓는다. 이곳 내강 막에서 칼슘 이동을 매개하는 운반체가 ECaC1이다. ECaC1을 통해 세포내로 들어온 칼슘 이온은 calcium-binding protein (calbindin-D_{28K})과 결합해서 확산된 다음, 기저외측 막의 Na⁺-Ca²⁺ exchanger (NCX1)과 Ca²⁺-ATPase (PMCA1b)를 통해 체내로 흡수된다¹⁷⁾.

ECaC1은 토끼 신장에서 클로닝되었고 729개의 아미노산으로 구성되어 83 kDa에 해당한다. 6개의 transmembrane domain과 세포내 위치하는 NH₂-terminal 및 COOH-terminal을 갖고, tetramer를 이루어 칼슘 통로 역할을 할 것으로 생각된다. 신장에서는 DCT2와 CNT에 국한하여 분포하지만, 십이지장과 공장 brush-border membrane에서도 발견된다¹⁸⁾. 이러한 조직들에서는 calbindin-D, NCX1 및 PMCA가 함께 존재하는 것이 특징이다.

한편, 쥐 십이지장에서 클로닝되어 과거에 calcium transporter 1 (CaT1)으로 불렸던 ECaC2는 ECaC1과 80%의 아미노산 상동성을 갖는다. ECaC1과 ECaC2는 별개의 유전자에 의해 생성되지만 모두 7q35 염색체에 있다. 아직까지 면역조직화학적으로 ECaC2의 분포에 대해

보고된 바는 없다.

2. 이온 운반체

1) Na⁺/H⁺ Exchanger (NHE)

NHE는 1:1 stoichiometry로 세포내 H⁺을 축출하고 동시에 Na⁺을 세포 내로 흡수시킨다. 이제까지 NHE 1-8의 여덟 가지 isoform이 클로닝되었다¹⁹⁾. NHE1은 대부분 신세관 세포의 기저외측 막에서 “house-keeping” 역할을 한다. NHE2는 일부 세관에 분포하지만 그 생리학적 역할이 미미한 것으로 알려졌다. 이에 비해 근위 세관과 비후상행각 내강 막에 분포하는 NHE3는 나트륨 흡수 및 요 산성화를 통한 중탄산염 재흡수에 중요한 역할을 한다. NHE4는 주로 신 수질에 분포하고 고장성에 의해 활성화되며 K⁺/H⁺ 교환 기능이 있지만, 중요한 역할은 분명하지 않다. NHE5와 NHE6의 신장내 분포와 기능에 대해서 아직 잘 알려지지 않았다.

근위 세관에서 transcellular NaCl 재흡수 전부와 transcellular NaHCO₃ 재흡수의 2/3는 NHE3에 의해 매개된다. 또한 transcellular NaHCO₃ 재흡수는 paracellular NaCl 재흡수를 조장하는 원동력이 된다. NHE 단백질은 NH₂-terminal 쪽 transmembrane domain에 Na⁺/H⁺ 교환 기능이 있고, COOH-terminal 쪽인 cytoplasmic domain에 protein kinases가 인산화 작용을 하고 여러 조절 인자들과 결합하는 조절 기능이 있다. 두 가지 대표적인 조절 인자로는 NHERF²⁰⁾와 megalin²¹⁾이 있다.

2) Na⁺-Coupled Cotransporters

(1) Na⁺-Pi⁻ cotransporter (NPT)

이제까지 알려진 Na⁺-Pi⁻ cotransporter 가운데 신장에서 가장 중요한 역할을 하는 것은 Type IIa NaPi cotransporter (NPT2a)이다. 이는 근위 세관 내강 막에서 인산염 재흡수에 작용함으로써 인산염 항상성을 유지하는데 기여한다. 이와 유사한 단백질인 Type IIb NaPi cotransporter (NPT2b)는 소장애 주로 분포한다. Type III NaPi cotransporter (NPT3) 또한 근위 세관에 분포하지만 기저외측 막에 있다. 이들은 Na⁺:H₂PO₄²⁻ stoichiometry가 3:2로서 electrogenic하다. 이에 비해 주로 신장과 간에서 발현하는 Type I NaPi cotransporter (NPT1)는 그 역할이 분명하지 않다. 아마도 근위 세관 내강 막에서 음이온 이동에 관여할 것으로 추측된다²²⁾.

NPT2a는 8개의 transmembrane domain과 세포내 위

치하는 NH₂-terminal 및 COOH-terminal로 구성된다. 이 운반체를 조절하는 대표적인 요소가 부갑상선호르몬과 식이 인산염 섭취인데, 세포막으로 이동 (traffic)이 그 기전이다. 그러나 일단 세포막으로부터 internalization되면 recycle하지 못하고 분해되는 것이 특징이다²³⁾. NPT2a가 인산염 항상성에 기여하는 역할은 유전자 파괴 생쥐 모델²⁴⁾ 및 돌연변이 환자보고²⁵⁾에서 확인된 바 있다.

(2) Na⁺-Si- cotransporter (NaSi-1)

체내 황산염(sulfate) 항상성은 식이 섭취, 장 흡수 및 신장 배설 사이의 평형에 의해 결정되는데, 신장의 조절 역할이 가장 크다. 황산염은 사구체에서 모두 여과된 후 근위 세관에서 재흡수되어 요 중에는 5-20%만이 배설된다. 근위 세관 내강 막의 NaSi-1과 기저외측 막의 sulfate anion transporter (Sat-1)이 황산염 재흡수를 매개하는 주요 경로이다. NaSi-1은 595개 아미노산으로 구성되어 66 kDa 크기이고, 13개의 transmembrane segment를 가지며 NH₂-terminal과 COOH-terminal이 각각 세포 내, 외에 위치한다²⁶⁾. 근위 세관과 회장에 분포하는 NaSi-1의 아미노산 서열은 100% 일치한다. Na⁺:SO₄⁻ stoichiometry가 2:1 혹은 3:1로서 electrogenic할 것으로 알려졌다²⁷⁾.

(3) Na⁺-Glucose cotransporter (SGLT)

사구체에서 여과된 포도당의 대부분은 근위 곡세관 내강 막에서 low-affinity, high-capacity transporter에 의해 재흡수되고, 나머지는 근위 곡세관 내강 막의 high-affinity, low-capacity transporter에 의해 재흡수된다. 이제까지 사람에서 3종의 SGLT가 발견되었는데, SGLT2가 전자(근위 세관 S1/S2 분절)에 해당하고 SGLT1이 후자(근위 세관 S3 분절)에 해당할 것이다²⁸⁾. SGLT3는 low-affinity glucose transporter이지만 신장에서의 역할은 분명하지 않다. SGLT 단백질은 75 kDa 크기로서 14개의 transmembrane domain과 세포의 위치한 NH₂-terminal 및 COOH-terminal을 갖는다. Na⁺이 NH₂-terminal에 결합하면 운반체 단백질의 3차구조가 변해서 포도당을 결합하여 운반한다. Na⁺:glucose stoichiometry는 SGLT2의 경우 1:1, SGLT1과 SGLT3의 경우 2:1로 알려졌다²⁹⁾.

(4) Na⁺-HCO₃⁻ cotransporter (NBC)

이제까지 알려진 human NBC isoform은 4가지가 있다 (NBC1-4). NBC1은 신장 근위 세관 기저외측 막에 분포하여 중탄산염을 흡수하는 근위 요 산성화에 작용한

다. NBC1 variant로서 췌장 관세포에 분포하는 pNBC1은 중탄산염 분비 역할을 한다³⁰. NBC1은 신장에서 $\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$ stoichiometry가 1:3이고 췌장에서는 1:2로서 모두 electrogenic하다. 신장에 분포하는 NBC1 (kNBC1)은 1035개 아미노산으로 이루어져 분자량이 116 kDa이며, 세포내에 NH_2 -terminal 및 COOH -terminal을 갖는 구조로 생각된다³¹.

NBC2와 NBC3는 신장을 포함한 여러 조직에 분포하고 $\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$ stoichiometry가 1:1로서 electroneutral인 특징이 있으며, 세포 pH 조절에 관여하는 것으로 보인다. 쥐의 NBC2는 NBCn1이라고도 불리는데, 비후상행각 및 집합관 기저외측 막에 분포한다³². NBC3의 경우 신장에서는 내수질 집합관 세포에 분포하는 것이 특징이다. 최근 NBC4의 주요 신장 분포가 비후상행각이라고 보고되었다³³.

3) Cation-Chloride Cotransporters (CCC)

$\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ cotransporter (NCC, TSC), $\text{Na}^+:\text{K}^+:\text{Cl}^-$ cotransporter (NKCC, BSC) 및 $\text{K}^+:\text{Cl}^-$ cotransporter (KCC)는 몇 가지 공통적 특징이 있어서 electroneutral CCC family에 속한다. 즉, 12개의 transmembrane domain과 세포내 NH_2 -terminal 및 COOH -terminal을 갖는 구조로서 운반하는 이온들이 동시에 존재해야 작동하고 thiazide 혹은 루우프 이뇨제에 의해 저해된다.

(1) NCC

원위 곡세관 내강 막에서 염분 흡수를 매개하고, thiazide 이뇨제에 의해 차단된다. estrogen³⁴과 mineralocorticoid³⁵ hormone이 NCC 발현을 증가시킨다. 그 조절 기전에 대해서는 아직 자세히 알려지지 않았다.

(2) NKCC

분비형인 NKCC1 (BSC2)과 흡수형인 NKCC2 (BSC1)가 있다. NKCC1 단백질은 생쥐 신장의 경우 내수질 집합관의 기저외측 막에서 발견되지만, 쥐에서는 내수질 집합관 대신 외수질 집합관의 A형 사이세포 기저외측 막에 분포한다. NKCC의 칼륨 이온 결합 부위에는 암모늄 이온이 경쟁적으로 결합한다. 따라서 NKCC1은 생쥐의 내수질 집합관과 쥐의 외수질 집합관에서 암모늄 분비에 작용할 것으로 생각된다³⁶. 한편, NKCC2는 비후상행각 내강 막에 분포하여 염분과 암모늄을 재흡수한다. NKCC2 단백질은 macula densa에도 분포하여 tubuloglomerular feedback의 한 축을 이루고, 또한 NKCC1이 수

입 소동맥의 사구체옆 평활근 세포에서도 발견된다³⁷. NKCC2 활성 및 발현은 바소프레신에 의해 조절된다³⁸.

(3) KCC

이제까지 클로닝된 4가지 KCC 중 신경세포에 특이적인 KCC2를 제외한 나머지는 모두 신장에서 발견된다³⁹. KCC가 근위 세관과 비후 상행각의 기저외측 막에서 운반체 역할을 할 것이라고 시사되지만, 아직 단백질 수준에서 증명되지 못하였다.

4) Na^+/K^+ -ATPase

다른 모든 나트륨 흡수 상피세포와 마찬가지로 신 상피세포의 기저외측 막에는 세관 전반에 걸쳐 Na^+/K^+ -ATPase가 분포한다. 각 세관 부위에서 재흡수되는 나트륨 양과 이곳의 Na^+/K^+ -ATPase abundance 사이에는 밀접한 관계가 있어서, 비후상행각과 원위 곡세관의 Na^+/K^+ -ATPase 활성이 가장 높다⁴⁰.

Na^+/K^+ -ATPase의 일차성 능동 운반의 힘은 ATP 분자의 가수분해에 의해 발휘되므로, ATP-Mg complex가 Na^+/K^+ -ATPase의 실제 기질이다. ATP 한 분자가 가수분해되면 Na^+/K^+ -ATPase는 세포내 3 Na^+ 을 세포외로, 세포외 2 K^+ 을 세포내로 이동시킨다. Na^+/K^+ -ATPase의 활성은 세포내 나트륨 농도 증가에 의해 자극되고, 반대로 세포내 나트륨 농도가 저하되면 그 활성이 억제된다.

Na^+/K^+ -ATPase는 α subunit와 β subunit의 1:1 결합에 의해 형성된다. α subunit는 약 1,000개의 아미노산으로 구성되어 분자량이 110 kDa이고, 10개의 transmembrane domain (M_1 - M_{10})과 세포내 NH_2 -terminal과 COOH -terminal을 갖는다. 세포내 나트륨과 ATP가 α subunit의 cytoplasmic domain에 결합하고, 세포외 칼륨은 α subunit의 extracellular domain에 결합한다. 또한 다른 P-type ATPase와 마찬가지로, Na^+/K^+ -ATPase 역시 활성화되는 동안 일시적으로 인산화되는데, M4와 M5 사이의 cytoplasmic loop에 인산화 장소(phosphorylation site)가 있어서 α subunit는 Na^+/K^+ -ATPase의 활성을 발휘하는 catalytic subunit에 해당한다.

α 및 β subunit 외에 최근 γ subunit의 존재가 알려졌다. Na^+/K^+ -ATPase γ subunit는 신장에서 α subunit의 분포와 일치하면서 α 및 β subunit와 함께 존재한다⁴¹. 그러나 그 기능적 의의에 대해서는 아직 분명하지 않다.

Na⁺/K⁺-ATPase의 각 subunit는 각각 여러 유전자에 의해 형성된다. α subunit의 경우 α₁-α₄의 4가지 아형이 있고, β subunit에는 β₁-β₃의 3가지 아형이 존재한다. 이들은 조직에 따라 분포하는 양상이 다른데, 신장에서는 주로 α₁β₁ heterodimer 형태이다. γ subunit의 경우도 신장에 γ₁과 γ₂의 2가지 아형이 존재한다고 한다.⁴²⁾

결 론

현대의 신장 생리학은 지난 1980년대에 이르러 알려진 각 세관 부위에서의 이온 이동 및 그 호르몬 조절이 분자 수준에서 어떻게 이루어지는지 규명하는 단계에 이르렀다. ENaC은 α, β, γ의 세 가지 homologous subunit가 α₂βγ의 tetramer를 이루어 구성하는데, 알도스테론 자극에 serum- and glucocorticoid-regulated kinase (sgk1)가 유도되어 ENaC 단백을 내강 막으로 이동시킴으로써 집합관에서 나트륨 재흡수가 증가한다. ROMK channel은 비후상행각 내강 막과 집합관 주세포의 내강 막에서 칼륨 분비의 중요한 기능을 수행하는 low-conductance K channel에 해당한다. CLC chloride channel 중 CLC-K1은 헨레 루우프 박상행각의 내강 및 기저외측 막에 분포하여 염소 이온을 이동시키고, CLC-K2는 비후상행각, 원위 곡세관, 및 연결관의 기저외측 막에 분포하여 염분 재흡수에 작용하며, CLC-5는 근위 세관에서 endocytosis 역할을 한다. ECaC1은 calcitriol에 반응하여 DCT2와 CNT 내강 막에서 칼슘 이동을 매개한다. 여덟 가지 NHE isoform 중 근위 세관과 비후상행각 내강 막에 분포하는 NHE3가 나트륨 흡수 및 중탄산염 재흡수에 중요한 역할을 한다. NPT2a는 근위 세관 내강 막에서 인산염 재흡수에 작용함으로써 인산염 항상성을 유지하는데 기여한다. NBC isoform 중 NBC1은 근위 세관 기저외측 막에 분포하여 중탄산염을 흡수하고, 쥐의 NBC2는 NBCn1이라고도 불리는데 비후상행각 및 집합관 기저외측 막에 분포한다. NCC는 원위 곡세관 내강 막에서 염분 흡수를 매개하며, estrogen과 mineralocorticoid hormone 자극에 의해 발현이 증가된다. NKCC2는 바소프레신에 반응하여 비후상행각 내강 막에서 염분을 재흡수함으로써 요 농축에 작용한다.

참 고 문 헌

1) Garty H, Palmer LG: Epithelial sodium channels:

function, structure, and regulation. *Physiol Rev* **77**: 359-396, 1997

2) Masilamani S, Kim GH, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA: Aldosterone-mediated regulation of ENaC alpha, beta, and gamma subunit proteins in rat kidney. *J Clin Invest* **104**:R19-R23, 1999

3) Masilamani S, Wang X, Kim GH, Brooks H, Nielsen J, Nielsen S, Nakamura K, Stokes JB, Knepper MA: Time course of renal Na-K-ATPase, NHE3, NKCC2, NCC, and ENaC abundance changes with dietary NaCl restriction. *Am J Physiol Renal Physiol* **283**:F648-F657, 2002

4) Warnock DG: Polymorphism in the beta subunit and Na⁺ transport. *J Am Soc Nephrol* **7**:2490-2494, 1996

5) Grunder S, Firsov D, Chang SS, Jaeger NF, Gautschi I, Schild L, Lifton RP, Rossier BC: A mutation causing pseudohypoaldosteronism type 1 identifies a conserved glycine that is involved in the gating of the epithelial sodium channel. *EMBO J* **16**:899-907, 1997

6) Rotin D: Regulation of the epithelial sodium channel (ENaC) by accessory proteins. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **9**:529-534, 2000

7) Loffing J, Zecevic M, Feraille E, Kaissling B, Asher C, Rossier BC, Firestone GL, Pearce D, Verrey F: Aldosterone induces rapid apical translocation of ENaC in early portion of renal collecting system: possible role of SGK. *Am J Physiol Renal Physiol* **280**:F675-F682, 2001

8) Giebisch G: Renal potassium channels: function, regulation, and structure. *Kidney Int* **60**:436-445, 2001

9) Palmer LG: Potassium secretion and the regulation of distal nephron K channels. *Am J Physiol* **277**: F821-F825, 1999

10) Wang W, Lerea KM, Chan M, Giebisch G: Protein tyrosine kinase regulates the number of renal secretory K channels. *Am J Physiol Renal Physiol* **278**: F165-F171, 2000

11) Berliner RW, Giebisch G: Remembrances of renal potassium transport. *J Membr Biol* **184**:225-232, 2001

12) Jentsch TJ, Stein V, Weinreich F, Zdebik AA: Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev* **82**:503-568, 2002

13) Matsumura Y, Uchida S, Kondo Y, Miyazaki H, Ko SB, Hayama A, Morimoto T, Liu W, Arisawa M, Sasaki S, Marumo F: Overt nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking the CLC-K1 chloride channel. *Nat Genet* **21**:95-98, 1999

14) Kobayashi K, Uchida S, Mizutani S, Sasaki S, Marumo F: Intrarenal and cellular localization of CLC-K2 protein in the mouse kidney. *J Am Soc Nephrol* **12**:1327-1334, 2001

15) Estevez R, Boettger T, Stein V, Birkenhager R,

- Otto E, Hildebrandt F, Jentsch TJ: Barttin is a Cl⁻ channel beta-subunit crucial for renal Cl⁻ reabsorption and inner ear K⁺ secretion. *Nature* **414**:558-561, 2001
- 16) Uchida S: In vivo role of CLC chloride channels in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* **279**:F802-F808, 2000
 - 17) Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ: Molecular mechanism of active Ca²⁺ reabsorption in the distal nephron. *Annu Rev Physiol* **64**:529-549, 2002
 - 18) Hoenderop JG, Hartog A, Stuijver M, Doucet A, Willems PH, Bindels RJ: Localization of the epithelial Ca²⁺ channel in rabbit kidney and intestine. *J Am Soc Nephrol* **11**:1171-1178, 2000
 - 19) Goyal S, Vanden Heuvel G, Aronson PS: Renal expression of novel Na⁺/H⁺ exchanger isoform NHE8. *Am J Physiol Renal Physiol* **284**:F467-F473, 2003
 - 20) Weinman EJ, Steplock D, Donowitz M, Shenolikar S: NHERF associations with sodium-hydrogen exchanger isoform 3 (NHE3) and ezrin are essential for cAMP-mediated phosphorylation and inhibition of NHE3. *Biochemistry* **39**:6123-6129, 2000
 - 21) Biemesderfer D, DeGray B, Aronson PS: Active (9.6 s) and inactive (21 s) oligomers of NHE3 in microdomains of the renal brush border. *J Biol Chem* **276**:10161-10167, 2001
 - 22) Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J: Molecular aspects in the regulation of renal inorganic phosphate reabsorption: the type IIa sodium/ inorganic phosphate co-transporter as the key player. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **10**:555-561, 2001
 - 23) Murer H, Forster I, Hernando N, Lambert G, Traebert M, Biber J: Posttranscriptional regulation of the proximal tubule NaPi-II transporter in response to PTH and dietary Pi. *Am J Physiol* **277**:F676-F684, 1999
 - 24) Beck L, Karaplis AC, Amizuka N, Hewson AS, Ozawa H, Tenenhouse HS: Targeted inactivation of Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**:5372-5377, 1998
 - 25) Prie D, Huart V, Bakouh N, Planelles G, Dellis O, Gerard B, Hulin P, Benque-Blanchet F, Silve C, Grandchamp B, Friedlander G: Nephrolithiasis and osteoporosis associated with hypophosphatemia caused by mutations in the type 2a sodium-phosphate cotransporter. *N Engl J Med* **347**:983-991, 2002
 - 26) Beck L, Silve C: Molecular aspects of renal tubular handling and regulation of inorganic sulfate. *Kidney Int* **59**:835-845, 2001
 - 27) Morris ME, Murer H: Molecular mechanisms in renal and intestinal sulfate (re)absorption. *J Membr Biol* **181**:1-9, 2001
 - 28) Wright EM: Renal Na⁺-glucose cotransporters. *Am J Physiol Renal Physiol* **280**:F10-F18, 2001
 - 29) Diez-Sampedro A, Eskandari S, Wright EM, Hirayama BA: Na⁺-to-sugar stoichiometry of SGLT3. *Am J Physiol Renal Physiol* **280**:F278-F282, 2001
 - 30) Soleimani M, Burnham CE: Na⁺:HCO₃⁻ cotransporters (NBC): cloning and characterization. *J Membr Biol* **183**:71-84, 2001
 - 31) Romero MF: The electrogenic Na⁺/HCO₃⁻ cotransporter, NBC. *JOP* **2**(4 Suppl):182-191, 2001
 - 32) Vorum H, Kwon TH, Fulton C, Simonsen B, Choi I, Boron W, Maunsbach AB, Nielsen S, Aalkjaer C: Immunolocalization of electroneutral Na⁺-HCO₃⁻ cotransporter in rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* **279**:F901-F909, 2000
 - 33) Xu J, Wang Z, Barone S, Petrovic M, Amlal H, Conforti L, Petrovic S, Soleimani M: Expression of the Na⁺-HCO₃⁻ cotransporter NBC4 in rat kidney and characterization of a novel NBC4 variant. *Am J Physiol Renal Physiol* **284**:F41-F50, 2003
 - 34) Verlander JW, Tran TM, Zhang L, Kaplan MR, Hebert SC: Estradiol enhances thiazide-sensitive NaCl cotransporter density in the apical plasma membrane of the distal convoluted tubule in ovariectomized rats. *J Clin Invest* **101**:1661-1669, 1998
 - 35) Kim GH, Masilamani S, Turner R, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA: The thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter is an aldosterone-induced protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**:14552-14557, 1998
 - 36) Mount DB, Delpire E, Gamba G, Hall AE, Poch E, Hoover RS, Hebert SC: The electroneutral cation-chloride cotransporters. *J Exp Biol* **201**:2091-2102, 1998
 - 37) Kaplan MR, Plotkin MD, Brown D, Hebert SC, Delpire E: Expression of the mouse Na-K-2Cl cotransporter, mBSC2, in the terminal inner medullary collecting duct, the glomerular and extraglomerular mesangium, and the glomerular afferent arteriole. *J Clin Invest* **98**:723-730, 1996
 - 38) Knepper MA, Kim GH, Fernandez-Llama P, Ecelbarger CA: Regulation of thick ascending limb transport by vasopressin. *J Am Soc Nephrol* **10**:628-634, 1999
 - 39) Mount DB, Gamba G: Renal potassium-chloride cotransporters. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **10**:685-691, 2001
 - 40) Garg LC, Knepper MA, Burg MB: Mineralocorticoid effects on Na-K-ATPase in individual nephron segments. *Am J Physiol* **240**:F536-F544, 1981
 - 41) Mercer RW, Biemesderfer D, Bliss DP Jr, Collins JH, Forbush B III: Molecular cloning and immunological characterization of the gamma polypeptide, a small protein associated with the Na,K-ATPase. *J Cell Biol* **121**:579-586, 1993
 - 42) Feraille E, Doucet A: Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: hormonal control. *Physiol Rev* **81**:345-418, 2001