

令和 3 年 8 月 23 日現在

機関番号：23903

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2018～2020

課題番号：18KK0453

研究課題名（和文）ビタミンB群のlysosome内蓄積を介した新規生体内プール機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of a novel pool mechanism of B vitamins through lysosome accumulation

研究代表者

保嶋 智也（Yasujima, Tomoya）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（薬学）・講師

研究者番号：50753555

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円

渡航期間： 6ヶ月

研究成果の概要（和文）：申請者らが同定した新規トランスポーターlysosomal multivitamin transporter 1（LMVT1）の詳細な機能解析を行った結果、LMVT1のpyridoxine輸送はプロトンとの共輸送を駆動力としていたため、リソソーム内にプールされたpyridoxineを細胞質内に供給している役割を担っていることが示唆された。また、LMVT1の基質認識性を調べていくと、LMVT1はビタミン以外の物質（薬物・生理活性物質）も輸送基質とすることが分かった。このことから、LMVT1は薬物動態や多様な生理機能の調節にも関与している可能性が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体において、葉酸（ビタミンB9）の細胞内プール機構の存在は知られていたが、本研究成果は、葉酸以外の水溶性ビタミンにおいても、細胞内にプールされる機構が備わっていることを強く示唆するものである。この知見は、世界で初めて見出されたものであり、学術的意義は非常に高いと考えられる。また、本知見を応用することにより、効果的なビタミン摂取法の提案が可能になると期待され、社会的意義も大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：As a result of detailed functional analysis of the novel transporter lysosomal multivitamin transporter 1 (LMVT1), the pyridoxine transport mediated by LMVT1 was driven by cotransport with protons. It was suggested to play a role in supplying pyridoxine from lysosomes into the cytoplasm, suggesting that it may be involved in the excretion and transport of various vitamins including pyridoxine from lysosome in an acidic environment to cytoplasm in a neutral pH environment. In addition, when the substrate recognition of LMVT1 was investigated, it was found that LMVT1 also transports compounds other than vitamins (drugs and bioactive substances). Taken these finding, LMVT1 may be involved in the regulation of pharmacokinetics and various physiological functions.

研究分野：薬物動態制御学

キーワード：トランスポーター リソソーム ピリドキシン ビタミンプール

## 1. 研究開始当初の背景

ビタミンは、生体内において補酵素としての機能を有し、三大栄養素である脂肪・糖質・タンパク質の代謝を助ける働きをしていることから、細胞の正常な機能維持、さらには生体恒常性の維持などに重要な役割を担っている。それゆえ、ビタミンが欠乏した状態が持続すると、代謝系の機能不全に起因した様々な疾患が惹起される。最も有名な例として、水溶性ビタミンの一つであるチアミンの欠乏症は、心不全と末梢神経障害をきたす脚気を引き起こし、重篤な場合、死に至ることが知られている。1900年代の初頭に脚気の原因がチアミン欠乏であると判明するまでは、年間1万人以上の死者が出る深刻な病気であったが、その後、食物からの積極的な摂取が呼び掛けられると、その数は激減した。このように、ビタミンは基本的に生体内において合成されず、生体内への供給は食物からの摂取に依存している。

食物から摂取されるビタミンは、生体内への吸収や分布過程において、生体膜(脂質二重膜)透過の過程を経ることが必要となる。しかし、水溶性の高いビタミンは、その物理化学的性質上、生体膜を受動的な単純拡散で効率的に透過することは不可能である。よって、水溶性ビタミンの吸収・分布はトランスポーターにより行われており、現在までに様々なビタミントランスポーターが同定されている。

腸管から吸収されたビタミンは、循環血によって全身の細胞に供給されるが、一方で腎臓から糸球体濾過により尿中へ排泄される。日常的にビタミン摂取が必要なのは、排泄による体内からの消失を補うことが必要なためである。しかしながら、食生活の乱れ等により、ビタミン摂取が不足しても、すぐには生体内のビタミンは枯渇しない。このことから、ビタミンを生体内にプールする機構が存在すると古くから考えられてきた。水溶性ビタミンである葉酸(ビタミンB<sub>9</sub>)については、細胞内で代謝変換を受けながら、トランスポーターを介してリソソーム内に蓄積し、葉酸プールが形成されているとの報告がある(Barrueco JR et al, *J Biol Chem*, 266, 11732-11737, 1991; Barrueco JR et al, *J Biol Chem*, 267, 15356-15361, 1992; Barrueco JR et al, *J Biol Chem*, 267, 19986-19991, 1992)。他の水溶性ビタミンでも、同様のプール機構がリソソーム内に存在する可能性が考えられるが、リソソーム膜で働くトランスポーターの分子実体はもちろんのこと、プール機構の存在すら明らかとなっていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

以上のような背景から、葉酸以外の水溶性ビタミンについても、リソソーム膜での特異的トランスポーターによる輸送制御に関わるプール機構が存在する可能性が考えられるが、未だ明らかとなっていない。一方、申請者らは、体内動態に関わるトランスポーターの解明が遅れているビタミンB<sub>6</sub>(pyridoxine)に着目し、そのトランスポーターの同定に取り組んでいる。そこで、ビタミンB<sub>6</sub>トランスポーター探索の一環として、また、ビタミンB<sub>6</sub>に働くリソソーム内プール機構の存在の可能性を探る試みとして、リソソーム膜のビタミンB<sub>6</sub>トランスポーターの探索に取り組むことにした。

一般に、リソソーム膜に局在するトランスポーターの輸送機能評価の際には、界面活性剤での処理によって細胞膜透過性を上昇させ、輸送基質を細胞質内へ移行させた上で、リソソーム内への取り込みを評価するという手法が取られる。しかし、界面活性剤処理の条件設定が難しく、再現性に問題がある。そこで、膜タンパク質をリソソーム膜に局在させる移行シグナルに着目した。すなわち、その移行シグナルを除去されたリソソーム膜タンパク質が細胞膜に移行する可能性に着目し、候補タンパク質の移行シグナルを除去することによって、細胞膜へ移行させ、細胞膜での輸送機能評価をするという手法を試みることにした。これにより、pyridoxine輸送活性を有する新規トランスポーターを見出すことに成功した。本研究では、この新規トランスポーターをlysosomal multivitamin transporter 1(LMVT1)と称することとし、そのpyridoxine輸送機能の解析を行った。これにより、本研究では、葉酸以外の細胞内ビタミンプール機構の存在を探るとともに、その機構におけるLMVT1の役割を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) COS-7細胞の培養

COS-7細胞の培養には、Thermo Fisher Scientific(Tokyo, Japan)製の細胞培養用フラスコ(規格75 cm<sup>2</sup>)及び24 wellプレート(底面積1.91 cm<sup>2</sup>/well)を用いた。細胞培養培地には、10% fetal bovine serum(FBS, Sigma-Aldrich)、1% penicillin/streptomycin(Sigma-Aldrich)を含むDulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Wako Pure Chemical, Osaka, Japan)を使用し、37°C、95% air - 5% CO<sub>2</sub>インキュベーター内で培養した。COS-7細胞(アフリカミドリザル腎由来細胞)は、東北大学加齢医学研究所医用細胞資源センターより提供を受けた。

### (2) COS-7細胞へのトランスポーター遺伝子の一過性導入

COS-7細胞の継代に際し、ビュルケルチュルク盤を用いて細胞数を計測した後、4.0 × 10<sup>5</sup> cells/mLとなるように調製し、24 wellプレートに0.5 mL/wellずつ播種した。約12時間培養し、細胞が70 - 90%程度のコンフルエント状態であることを確認した後、導入試薬として、5 µg/wellのpolyethylenimine(Polyscience, Warrington, PA, USA)を用いて(PEI法)、各プラスミド(1 µg/well)を導入した。約6時間培養した後に培地交換を行い、さらに約42時間培養

することにより（トランスフェクションより約 48 時間経過）、トランスポーターを一過性に導入した。また、上記の手順により pCI-neo vector のみを導入し、mock 細胞を作成した。

### (3) 取り込み実験

取り込み実験用の緩衝液として、Hanks' buffer を以下の組成で作成した。なお、緩衝剤は、pH 6.5 以下に調整する場合は MES を、pH 6.5 以上に調整する場合は HEPES を用いた。また、pH 調整には、2M HCl もしくは 2M NaOH を用いた。

実験には、トランスポーターを一過性に導入した COS-7 細胞（24 well プレート上で培養）を用いた。まず、細胞を培養している well 中の培地を吸引し、37°C の buffer（1 mL）を加え、5 分間プレインキュベーションした。その後、これを取り除き、取り込み試験溶液（0.25 mL）を加え、取り込みを開始させた。所定時間経過後、氷冷した buffer（stop solution、2 mL）を加えて反応を停止させ、さらに、stop solution（2 mL）で細胞を 2 回洗浄した。続いて、0.5% SDS を含む 0.2 M NaOH（0.5 mL）を加え、細胞を可溶化した。2 時間経過後、well 中をよく攪拌し、全量を放射能測定用検体としてカウンティングバイアルに入れた。ここに、液体シンチレーションカクテル（2 mL）を加え、ボルテックスミキサーにより攪拌した。液体シンチレーションカウンター（LSC-5100, Aloka Co., Tokyo, Japan）により放射能を測定した。また、SDS を含まない NaOH で可溶化した細胞について、BCA 法によりタンパク定量を行い、well 中のタンパク量を求めた。標準タンパクとしては、BSA を用いた。

### (4) Western blot 解析

#### Total lysate

FLAG-LMVT1 及び FLAG-LMVT1(ExxxAA)を一過性に導入した COS-7 細胞（24 well プレート上で培養）を用い、氷冷した Hanks' NaCl buffer (pH 7.4)で細胞を 1 回洗浄後、lysis buffer 1 (50 mM Tris (pH 8.0), 1% SDS, 4 M urea, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl)で可溶化した。細胞を回収し、超音波処理により破碎した後、遠心分離（13000 rpm、5 分、4°C）を行った。上清を回収し、sample buffer (100% glycerol, 1 M Tris-HCl (pH 6.8), 8% SDS, 0.04% bromophenol blue, 2-mercaptoethanol (2 mL))に溶解させ、細胞全体からの抽出サンプルを得た。

得られたサンプルを 15% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 処理し、目的のタンパク質を単離した。その際、使用するゲルは、以下の組成で作成した。

Immun Blot PVDF membrane (ATTO, Tokyo, Japan)を methanol に 1 分間浸した後、ブロッキング用紙 (ATTO)と共に transfer buffer (25 mM Tris, 192 mM glycine, 0.3 mM SDS, 15% methanol) に 15 分間浸した。泳動後の SDS-PAGE ゲルを transfer buffer に潜らせ、ゲルの大きさに応じて 2 mA/cm<sup>2</sup> で 90 分間、PVDF membrane へ転写を行った。次に、PVDF membrane を Tris buffered saline (10 mM Tris, 150 mM NaCl) with 0.1% Tween 20 (TBS-T) で洗浄し、5% スキムミルク含有 TBS-T (TBS-T milk) で 1 時間ブロッキングを行った。その後、1 次抗体を TBS-T milk で 500 倍希釈した溶液に浸し、4°C で一晩静置した。PVDF membrane を TBS-T で洗浄し、2 次抗体（後述）を TBS-T milk で 10000 倍希釈した溶液に浸し、室温で 1 時間振盪した。その後、Luminata<sup>TM</sup> Forte Western HRP Substrate (Merck Millipore, Burlington, MA, USA)を用いて発色させ、Amersham Imager 600 (GE Healthcare Life Sciences, Chicago, IL, USA)によりバンドを確認した。100 mM glycine (pH 2.2) に 30 分間浸して振盪し、抗体の不活化を行った後、同様の手順により、各サンプルにおけるタンパク量の指標として  $\beta$ -actin の検出を行った。ただし、1 次抗体は TBS-T milk に 1000 倍希釈したものをを用いた。

#### Membrane fraction

COS-7 細胞を  $4.0 \times 10^5$  cells/mL となるように調製した後、シャーレに 12 mL ずつ播種した。約 12 時間培養し、細胞が 70–90% 程度のコンフルエント状態であることを確認した後、FLAG-LMVT1 及び FLAG-LMVT1 (ExxxAA)を 24  $\mu$ g ずつ一過性に導入した（導入試薬として、120  $\mu$ g の polyethyleneimine を使用）。氷冷した Hanks' NaCl buffer (pH 7.4)で細胞を 2 回洗浄後、10 mL の NaCl buffer に 2.5 mg の Biotin-SS-Sulfo-Osu (Dojindo, Kumamoto, Japan)を溶かした液体を注ぎ、氷上で 30 分間振盪した。溶液を捨て、氷冷した Quench buffer (50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1 mM EDTA, 150 mM NaCl)を注ぎ、氷上で 10 分間振盪した。buffer を捨て、氷冷した NaCl buffer で細胞を 1 回洗浄した。1 mL の lysis buffer 2 (1% Triton X-100, 25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM NaCl) で細胞を可溶化し、スクレーパーで穏やかに剥がした。全量をチューブに回収し、超音波処理により破碎した後、遠心分離（13000 rpm、15 分、4°C）を行った。上清（1 mL）を新たなチューブに移し、Avidin-Agarose from egg white (Sigma-Aldrich)を 50  $\mu$ L 加えた後、小型ロータリーミキサー NRC-20D (Nissin, Tokyo, Japan)を用いて、4°C で一晩、回転攪拌した。遠心分離（1500 rpm、3 分、4°C）を行い、上清を取り除いた後、0.5 mL の lysis buffer 2 でよく洗浄した。この工程をさらに 2 回繰り返し、遠心分離（1500 rpm、3 分、4°C）後に上清を完全に除いた。ここに、lysis buffer 1 を加えて可溶化し、さらに sample buffer に溶解させ、細胞膜画分の抽出サンプルを得た。このサンプルを用い、SDS-PAGE 処理以降、細胞全体からの抽出サンプルの場合と同様の手順で操作を行った。

### (1) LMVT1 の細胞膜局在化

LMVT1 のリソソーム膜移行シグナル (ExxxAA) を置換除去した LMVT1 (ExxxAA) 導入細胞において、mock 細胞での取り込みに比べて 5 倍程度の高い取り込みが見られ、LMVT1 (ExxxAA) が pyridoxine に対する輸送能を有することが示唆された。一方で、LMVT1 導入細胞での取り込みは、mock 細胞での取り込みと同程度であり、LMVT1 の pyridoxine 輸送活性は見られなかった。これは、LMVT1 がリソソーム膜に局在するため(細胞膜にはないため)、pyridoxine の細胞内取り込みに働くことができなかつたことによると考えられる。リソソーム膜移行シグナルが除去されている LMVT1 (ExxxAA) は、細胞膜に移行したことで、pyridoxine の細胞内取り込みに働くことができたものと考えられる。リソソーム膜移行シグナルは、LMVT1 の N 末端近くの細胞内ドメインにあるため、この部分の 2 アミノ酸の置換による移行シグナル除去が LMVT1 の機能に影響を及ぼす可能性はほとんどない。したがって、LMVT1 も LMVT1 (ExxxAA) と同様に pyridoxine 輸送能を有するものと考えられる。なお、LMVT1 (ExxxAA) の pyridoxine 輸送活性は、pH 7.4 では認められず、ここでの評価は pH 5.0 の酸性条件で行った。

### (2) LMVT1 (ExxxAA) のタンパク質の発現及び細胞膜局在の比較

COS-7 細胞に一過性に導入した LMVT1 及び LMVT1 (ExxxAA) のタンパク質の発現及び細胞内局在を確認するため、FLAG 標識体 (FLAG- LMVT1、FLAG- LMVT1 (ExxxAA)) を用いて Western blot 解析を行った。その結果、細胞全体では、FLAG- LMVT1 と FLAG- LMVT1 (ExxxAA) は同様に高発現していたが、アビジン-ビオチン処理により得た細胞膜画分では、FLAG- LMVT1 に比べ、FLAG- LMVT1 (ExxxAA) が多いことが確認された。これらの結果は、リソソーム膜移行シグナルの除去により、LMVT1 がリソソーム膜から細胞膜へ移行したことを示唆するものである。また、LMVT1 導入細胞において、pyridoxine 取り込み活性が見られなかつた点について、LMVT1 がリソソーム膜に局在し、細胞膜にはないためという解釈を支持するものである。以上より、LMVT1 はリソソーム膜での pyridoxine 輸送に関わるトランスポーターとして有力であると考え、LMVT1 (ExxxAA) を利用した pyridoxine 輸送機能解析を進めることとした。

### (3) LMVT1 (ExxxAA) による pyridoxine 取り込みの時間推移

LMVT1 (ExxxAA) による pyridoxine 輸送機能解析にあたり、LMVT1 (ExxxAA) を COS-7 細胞一過性発現系での pyridoxine (10 nM) の取り込みの時間推移を pH 5.0 の酸性条件下で検討した。LMVT1 (ExxxAA) 導入細胞での pyridoxine 取り込みは、mock 細胞での取り込みを大きく上回り、1 分まで時間に比例して増大した。これに基づき、以降の実験では、取り込み時間を 1 分に設定し、LMVT1 (ExxxAA) による pyridoxine の初期取り込みを評価することとした。

### (4) LMVT1 (ExxxAA) による pyridoxine 取り込みに対する細胞外 pH の影響

LMVT1 (ExxxAA) による pyridoxine 輸送機能特性の評価として、まず、細胞外 pH の影響について検討した。先述のように、LMVT1 (ExxxAA) の pyridoxine 輸送活性は酸性条件下で高いことが示唆されているが、その pH 依存性についての詳細な検討を試みたものである。LMVT1 (ExxxAA) を導入した COS-7 細胞での pyridoxine (10 nM) の取り込みは、pH 5.0 から 7.0 までの範囲で pH 上昇に伴って低下し、pH 7.0 以上では、mock 細胞での取り込みと同等の低レベルとなった。一方、mock 細胞での pyridoxine 取り込みは、pH に依らず低レベルで推移し、LMVT1 (ExxxAA) 導入細胞での pH 依存的な pyridoxine 取り込み特性は LMVT1 (ExxxAA) の機能特性に由来するものであることが確認された。この結果から、LMVT1 (ExxxAA) の pyridoxine 輸送機能は顕著な酸性指向性を有しており、酸性条件下で高い活性を示す一方で、pH 7.0 以上の中性ないしアルカリ性条件下では、ほとんど機能しないことが示唆された。通常、細胞質は pH 7.4 前後の中性付近の環境にある一方で、リソソーム内は pH 5 前後の酸性環境にある。このような細胞質及びリソソーム内 pH 環境を考慮すると、酸性指向の pH 依存性を示す LMVT1 の生理的役割としては、リソソーム内から細胞質への pyridoxine の排出輸送への関与が考えられる。

このような酸性指向の pH 依存性輸送のメカニズムとしては、H<sup>+</sup> 共輸送の可能性が考えられる。この点を探るため、H<sup>+</sup> イオノフォア (脱共役剤) である CCCP (carbonyl cyanide-m-chlorophenyl hydrazone) 及び FCCP (carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazone) の効果を検討した。その結果、取り込み溶液への CCCP 及び FCCP の添加によって細胞内外のプロトン濃度勾配を消失させることにより、LMVT1 (ExxxAA) を導入した COS-7 細胞での pyridoxine 取り込みは大きく低下し、mock 細胞での取り込みと同程度となった。一方、mock 細胞での取り込みは、CCCP 及び FCCP の影響を受けることなく、低レベルであり、LMVT1 (ExxxAA) 導入細胞での結果は、LMVT1 (ExxxAA) の特性に由来するものであることが確認された。この結果は、H<sup>+</sup> 濃度勾配の消失により LMVT1 (ExxxAA) の pyridoxine 輸送活性は失われることを示唆するものであり、したが

って、LMVT1はH<sup>+</sup>濃度勾配を駆動力とする機構により機能することを示唆するものである。

#### (5) LMVT1 (ExxxAA)による pyridoxine 取り込みの濃度依存性

LMVT1 (ExxxAA)による pyridoxine 取り込みの濃度依存性について検討した結果、トランスポーターによる輸送の特徴である飽和性が認められた。この飽和性は Michaelis-Menten 型の担体輸送モデルに適合し、Michaelis 定数( $K_m$ )は 0.511 mM、最大輸送速度( $V_{max}$ )は 6.22 nmol/min/mg protein と得られた。この速度論的特性から、本研究での通常の輸送特性評価での pyridoxine 濃度 (10 nM) は、 $K_m$ を十分に下回り、輸送効率が最高となる線形領域内にあることが確認された。また、pyridoxine の血中濃度は 25 nM 程度とされており、同様に  $K_m$ 大きく下回っている(2万倍程の差異)。各種臓器における細胞内及びリソソーム内 pyridoxine 濃度は不明であるが、 $K_m$ に近い水準に達することはないと推察される。したがって、LMVT1 は、通常は、 $V_{max}/K_m$ を輸送係数として、ほぼ pyridoxine 濃度に比例した速度で効率的に pyridoxine 輸送に働いているものと推察される。

#### (6) LMVT1 (ExxxAA)による pyridoxine 取り込みに対する各種物質の阻害効果

LMVT1 (ExxxAA)の基質認識特性を探るため、<sup>3</sup>H]pyridoxine (10 nM)の取り込みに対する pyridoxine 類縁物質及び各種薬物等の阻害活性を評価することにより、基質(競合阻害物質)として認識される可能性のある物質の検索を試みた。その結果、pyridoxine 類縁物質(5 mM)の中では、4-deoxypyridoxine が pyridoxine に対する強い阻害活性を示し、LMVT1 (ExxxAA)の基質として認識される可能性が示唆された。しかし、pyridoxamine は阻害活性を示さなかった。また、pyridoxal の阻害活性はごく弱く、そのリン酸化体である pyridoxal-5'-phosphate (PLP)は阻害活性を示さなかった。これらは、LMVT1 (ExxxAA)によってほとんど認識されないものと考えられる。pyridoxine と同じく塩基性の水溶性ビタミンである thiamine 及び nicotinamide (5 mM)についても検討したが、thiamine の阻害活性はごく弱く、nicotinamide は阻害活性を示さなかった。阻害活性をほとんど示さなかった pyridoxamine (pKa 3.77)、pyridoxal (pKa 4.11)、PLP (pKa 4.11)では、阻害活性を示した非標識体の pyridoxine (pKa 5.58)と 4-deoxypyridoxine (pKa 6.67)に比べて塩基性が弱い。この点から、塩基性の強度が LMVT1 による基質認識に関与している可能性が考えられる。

各種薬物等(500 μM)では、塩基性薬物である diphenhydramine と imipramine が有意な阻害活性を示し、LMVT1 (ExxxAA)の基質として認識される可能性が示唆された。特に、imipramine の阻害率は 50%程度であったことから、その  $IC_{50}$ は 500 μM 程度と推定される。この推定  $IC_{50}$ は pyridoxine 輸送の  $K_m$ とほぼ等しいことから、imipramine は pyridoxine と同等の親和性を有する可能性が考えられる。今後、細胞内及びリソソームでの pyridoxine 類の動態における LMVT1 の役割と合わせて、その基質認識等の機能特性の解明が望まれるところである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamashiro Takahiro, Yasujima Tomoya, Ohta Kinya, Inoue Katsuhisa, Yuasa Hiroaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of the amino acid residue responsible for the myricetin sensitivity of human proton-coupled folate transporter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-54367-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ishiuchi Kan'ichiro, Morinaga Osamu, Ohkita Takeshi, Tian Chuanting, Hirasawa Asuka, Mitamura Miaki, Maki Yasuhito, Kondo Tsubasa, Yasujima Tomoya, Yuasa Hiroaki, Minamizawa Kiyoshi, Namiki Takao, Makino Toshiaki	4. 巻 9
2. 論文標題 18-glycyrrhetyl-3-O-sulfate would be a causative agent of licorice-induced pseudoaldosteronism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1587
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-38182-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takenaka Risa, Yasujima Tomoya, Furukawa Junji, Hishikawa Yosuke, Yamashiro Takahiro, Ohta Kinya, Inoue Katsuhisa, Yuasa Hiroaki	4. 巻 109
2. 論文標題 Functional Analysis of the Role of Equilibrative Nucleobase Transporter 1 (ENBT1/SLC43A3) in Adenine Transport in HepG2 Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2622 ~ 2628
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xphs.2020.04.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ramamoorthy Kalidas, Anandam Kasin Yadunandam, Yasujima Tomoya, Srinivasan Padmanabhan, Said Hamid M.	4. 巻 319
2. 論文標題 Posttranscriptional regulation of thiamin transporter-1 expression by microRNA-200a-3p in pancreatic acinar cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G323 ~ G332
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpgi.00178.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro Takahiro, Yasujima Tomoya, Said Hamid M., Yuasa Hiroaki	4. 巻 295
2. 論文標題 pH-dependent pyridoxine transport by SLC19A2 and SLC19A3: Implications for absorption in acidic microclimates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 16998 ~ 17008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.013610	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Anandam Kasin Yadunandam, Srinivasan Padmanabhan, Yasujima Tomoya, Al-Juburi Saleh, Said Hamid M.	4. 巻 320
2. 論文標題 Proinflammatory cytokines inhibit thiamin uptake by human and mouse pancreatic acinar cells: involvement of transcriptional mechanism(s)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G108 ~ G116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00361.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 三宅浩平、小川有沙、山城貴弘、保嶋智也、湯浅博昭
2. 発表標題 SLC19A3の脳神経変性疾患関連遺伝子変異と輸送機能との関係
3. 学会等名 薬学会, 140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下紗瑛奈、山城貴弘、保嶋智也、湯浅博昭
2. 発表標題 SLC19A3によるpyridoxine及びthiamineの輸送に対するフラボノイド類の阻害作用の解析
3. 学会等名 薬学会, 140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 難波莉子、保嶋智也、山城貴弘、湯浅博昭
2. 発表標題 Functional characterization of the carrier-mediated nicotinamide transport system in HepG2 cells
3. 学会等名 薬物動態学会，34回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三宅浩平、高橋駿介、山城貴弘、保嶋智也、湯浅博昭
2. 発表標題 Species differences in SLC19A3 for pyridoxine transport function
3. 学会等名 薬物動態学会，34回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山城貴弘、保嶋智也、湯浅博昭
2. 発表標題 Functional identification of SLC19A2/3 as pyridoxine transporters
3. 学会等名 薬物動態学会，34回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下紗瑛奈、山城貴弘、保嶋智也、湯浅博昭
2. 発表標題 SLC19A3に対するフラボノイド類の阻害作用
3. 学会等名 病院薬剤師会東海ブロック/薬学会東海支部合同学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山城貴弘、保嶋智也、太田欣哉、井上勝央、湯浅博昭
2. 発表標題 PCFTの葉酸輸送機能におけるmyricetin感受性に関するアミノ酸残基の同定
3. 学会等名 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 41回
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋市立大学 大学院薬学研究科 薬物動態制御学分野 <a href="http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/yzg/index.html">http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/yzg/index.html</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	セイド ハミド  (Said Hamid)	カリフォルニア大学アーバイン校・医学部・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	カリフォルニア大学 アーバイン校		