細管上皮細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上皮細胞へのメチルでしまるように関わる分子を明らかにするため、尿細管上皮細胞に発現する有機アニオントランボーターによるメチルマロン酸の基質配識を評価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に乳する有機アニオントランスボーターのAT1を介したメチルマロン酸の取り込みは示された一方AT3を介したメチルマロン酸取り込みは示されていない。本研究では、近位尿細管副子縁腱は現する有機アニオントランスボーターであるOAT4によるメチルマロン酸の基質認識を明らかるため、tetracycline誘導性OAT4発現細胞を用いて解析した。OAT4は、基質によって、細胞カルボン酸との交換輸送による取り込み及び細胞外塩化物イオンとの交換輸送による消出のしれの方向への基質輸送にも関与する。しかし、細胞外塩化物イオンの有無にかかわらずOAT4したメチルマロン酸の輸送は示されなかった。そこで、尿細管刷子縁腱におけるメチルマロの取り込み機構を解析にするため、ラット腎尿細管上皮細胞膜小胞を作成した。作成した腺は、ほぼすべてが生体と同し配向性を示すと算出され、ナトリウム依存性のD-glucose取り込ましたことから、尿細管刷子線における輸送機能を評価可能であると判断した。ラット腎耐膜小胞を介した放射標準体メチルマロン酸の取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4℃ける取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、膜小胞を介した皮)所の上昇し、4℃ける取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、膜小胞を介したち分間のルマロン酸和り込みは、2秒間、時間依存的に上昇し、4℃ける取り込みは、非標識メチルマロン酸の取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4℃ける取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介したち分間のルマロン酸和り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4℃ける取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介したち分間の水であった。また、腹小胞を介したち分間の水であった。また、腹小胞を介したりが上がしたのが上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上が上	kelo Associated Reposit	ory of Academic resouces
### Author 野口、幸希(Noguchi, Saki) Publisher 福澤基金運営委員会 Publication year 2021 Juttle 福澤語言記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.) Jalc DOI Abstract 有機酸代謝異常によって生成した有機酸は厚中に排出される。中でもメチルマロン酸は、近代密生り込みに関わる分子を明らかにするため、探細管上皮細胞に発現する角梗アーオントランボーターのAT1を介したメチルマロン酸のよりで表現でした。それまでに、近位原細管基底側を持ちれて野毒性を全することが知られる。腎近位原細管上皮細胞において野毒性を全することが知られる。腎近位原細管上皮細胞のタメチルマロン酸のよりで表別でした。よれまでに、近位原細管基底側の表別であるが、大力では原細管が表現でしたメチルマロン酸のより込みはまされた一方AT3を介したメチルマロン酸のより込みはまされた一方AT3を介したメチルマロン酸のより込みはまされた一方AT3を介したメチルマロン酸のより込みはまされた一方AT3を介したメチルマロン酸のより込みは、まされていない。本研究では、近位原細管部を機能があるため、tetracycline等導性のAT3発類細胞を用いて解析した。OAT4は、基質によって、細胞カルボー酸との交換輸送による取り込み及び細胞外塩化物・オンとの交換輸送による取り込み及び細胞外塩化物・オンとの交換輸送による排出の1れの方向への基質輸送に表目与する。しかし、細胞外塩化物・オンとの交換輸送による排出の1れの方向への基質輸送に表目与する。しかし、細胞外塩化物・オンとの交換輸送による排出の1れの方向への基質輸送に表にも関うする。しかし、細胞外塩化物・オンとの交換輸送による排出の1れの方向へB基では、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリウム依存性のD-glucose取り込み 機構を解析にするため、ラット腎臓・腹外胞を介でしたと分析の表別を行いたとから解析画体を介した。ラット腎臓・腹外胞を介でした放射・排除機メチルマロン酸の取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介したら分間のルマロン酸取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介したら分間のルマロン酸取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介したら分間のルマロン酸取り込みは、37℃における取り込みの約20%であった。また、腹小胞を介した。ラット腎臓・腹小胞を介とが上れ、12~10~10~10~10~10~10~10~10~10~10~10~10~10~	Title	有機酸の体内動態制御分子を介した腎上皮細胞内における有機酸濃度正常化戦略の構築
Publication year 2021	Sub Title	, ,
Publication year	Author	野口, 幸希(Noguchi, Saki)
Jutitle 福澤論吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.) Abstract 特機酸代謝異常によって生成した有機酸は尿中に排出される。中でもメチルマロン酸は、近代細管上皮細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上皮細胞へのメチルマロ酸取り込みに関わる分子を明らかにするため、尿細管上皮細胞に発現する有機アニオントランボーターによるメチルマロン酸の動質製設施育価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に当ずる有機アニオントランスポーターのATIを介したメチルマロン酸の取り込みは示された力、AT3を介したメチルマロン酸取り込みは示されていない。本研究では、近位尿細管部上溶腸は、現する有機アニオントランスポーターのATIを介したメチルマロン酸の取り込みは示されているい。本研究では、近位尿細管部上溶腸はカルボン酸との皮染輸送による取り込み及び細胞や塩化物イオンのの支換輸送によるオ排出の1れの方向、の基質輸送にも関与する。しかし、細胞小塩化物イオンの分集物送によるオ排出の1れの方向、の基質輸送にも関与する。しかし、細胞小塩化物イオンの有無にかかわらずOAT4したメチルマロン酸の第送は示されなかった。そこで、尿細管飼子縁膜にかけるからなOAT4によるメチルマロン酸の第送は示されなかった。そこで、尿細管例子縁膜にかける光チルマロの取り込み機構を解析にするため、ラット腎尿細管上皮細胞膜が胞を作成した。作成した膜、は、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリワム依存性のPJMにのより、アレたことから、尿細管例子線における神経機能を評価可能であると判断した。ラット腎腎臓小胞を介した放射標識体メチルマロン酸の取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4つ(ける取り込みは、37℃によける市政)込みの約20%であった。また、膜小胞を介した方分間の、ルマロン酸の1分みは、2000円が1分の取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4つ(ける取り込みは、2000円が1分を取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4つ(ける取り込みは、2000円が1分を表すとではではであった。また、膜小胞を介した方分間の、ルマロン酸の消炎性体が介あった。また、膜小胞を介した方分間の、1人で口が取りが1分の形式をはかりが1分の形式をはかりが1分の形式をはかが1分にあるでは、1分に原理を作ることが示唆さればいます。1分に原性の1分によるは大部では1分によるに対したが1分に表すでは1分によりでは1分によりでは1分によりでは1分には1分によりでは1分には1分によりでは1	Publisher	福澤基金運営委員会
Jittle 福澤論古記念慶應義塾学事振興基金事業報告集(2020.) Abstract 特機酸代謝異常によって生成した有機酸は尿中に排出される。中でもメチルマロン酸は、近代細管上皮細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上皮細胞へのメチルマロ酸は、近代細管上皮細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上皮細胞で、のメチルマに素が上で、カイラを外上では一般である。腎近位尿細管上皮細胞で、カメチルマロン酸のよ質認識を評価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に当ずる有機アニオントランスポーターのAT1を介したメチルマロン酸の取り込みは示された一分、本研究では、近位尿細管副系の側に関サるため、tetracycline誘導性のAT4発現細胞を用いて解析した。OAT4は、基質によって、細胞カルボン酸との支強輸送による取り込み及の対象が内でオンとの交換輸送による才排出の人物の方向への基質輸送にも関与する。しかし、細胞外塩化物イオンの有無にかからずのAT4にカメチルマロン酸の輸送は示されなかった。そこで、尿細管削子繰膜における熱に大きが大力では、ほぼすがてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリワム依存性のD-glucos取り込み、示したことから、尿細管削予練法におけるが表性機能を評価可能であると判断した。ラット腎別臓小胞を介化したが非標識体メチルマロン酸の取り込みは、非常臓メチルマロン酸の取り込みは、2分間、時間依存的に上昇し、4℃付ち取り込みは、3下の上ととか射が洗したおけるメチルマロン酸の取り込みは、3下の取り込みは、3下の取り込みは、3下の取り込みは、3下の取り込みは、3下の取り込みは、3下の取り込みはは、3下の取り込みはは、3下の取り込みはは、3下の取り込みはは、3下の取り込みはは、3下の取り込みはは、3下の取り込みが表に存在することによって約50%減少した。これらより、近位尿細管、子線膜を介したメチルマロン酸輸送にはコハク酸酸性の対域が大力なすることが示唆されている酸の取り込みは、4下の取りが表に存在することによって約50%減少した。これらより、近位尿細管、子線膜を介したメチルマロン酸輸送にはコハク酸素性が大力をすることが示唆されている機能をしたメチルマロン酸の制造ははないが表に存在することによって約50%減少した。これらより、近位原細をでは、40人の一般原でが、10人の一般の形式が表に存在することが示唆されているが表は、40人の一般原でが、10人の一般原では、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人のでは、40人の	Publication year	2021
Abstract	•	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
相管上段細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上段細胞へのメチルマロン酸は、近代酸でい込みに関わる分子を明らかにするため、尿細管上皮細胞のスチルマストントランボーターによるメチルマロン酸の基質認識を評価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に3する有機アニオントランスポーターのAT1を介したメチルマロン酸の取り込みは示された一方AT3を介したメチルマコン酸の乳質器造を評価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に3する有機アニオントランスポーターのAT1を介したメチルマロン酸の取り込みは示された一方AT3を介したメチルマコンと取り込みは示されたした。を研究では、近位尿細管基底側膜に3ずる有機アニオントランスポーターであるOAT4によるメチルマロン酸の基質認識を明らあるため、eteracycline誘導性の石半発現細胞を用いて解析した。OAT4はた。OAT4はた。OAT4はためイオンの有無にかからずOAT4したメチルマロン酸の動造がはよみであるとか、eteracycline誘導性の石半発現細胞を用いて解析した。OAT4はたらの不りはからずOAT4したメチルマロン酸の輸送は示されなかった。そこで、疾細管削予操能にかからずOAT4したメチルマロン酸の輸送は示されなかった。そこで、矢細管削予操にがけるメチルマロンの取り込み及機構を解析にするため、ラット腎尿細管上皮細胞膜小胞を作成した。作成した腺は、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリウム依存性のD-glucose取り込まし、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリウム依存性のD-glucose取り込まし、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと変出され、ナトリウム依存性のD-glucose取り込まし、ほびからからが表別込みは、非標識メチルマロン酸のMMまたはメチルマロン酸の構造異性体で、コハク酸がリ込みの約20%であった。また、腹小を介した5分間を関いが上での大きでは1人7分酸のMが上でみたりたいたメチルマロン酸の相当なが表別込みの約20%であった。また、皮が全分した。これらより、近位尿細管・子縁膜をたいたメチルマロン酸の材造なはが多いでも変しが変した。これらより、近位尿細管・子縁膜をたいたメチルマロン酸の対流を性をで、Organic acids generated by disorders of organic acid metabolism are excreted in the urine. Of them, methylmalonic acid, a metabolite of methylmalonicy-CoA, exerts renal toxicity in the prox tubules. Since both renal excretion and reabsorption are estimated in its renal excretion, subs recognition of methylmalonic acid by renal brash border and basal organic anion transporters (OAT5) were examined. OAT4, a bidirectional organic anion transporter located in brush border membrane of human proximal tubules is proposed to use chloride ion as a counterpart of organic exchange. However, OAT4-mediated uptake of methylmalonic acid was not detected be the presence or absence of extracellular chloride. Then, rat kidney vesicles were prepared to analyze the transport mechanism of methylmalonic acid through the proximal tubules. Almost resultant vesicles indicated right-side-out orientation, and sodium ion-dependent D-glucose up by the vesicles were detected. Thus, the vesicles were judged to be able to evaluate the trans through the proximal tubules and the reabsorption mech		[A/FIN] [HOND/030至1 F M/1 至 F / N N 1 / N COCO.)
Genre Research Paper URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002		(OATs) were examined. OAT4, a bidirectional organic anion transporter located in brush border membrane of human proximal tubules is proposed to use chloride ion as a counterpart of organic anion exchange. However, OAT4-mediated uptake of methylmalonic acid was not detected both in the presence or absence of extracellular chloride. Then, rat kidney vesicles were prepared to analyze the transport mechanism of methylmalonic acid through the proximal tubules. Almost all resultant vesicles indicated right-side-out orientation, and sodium ion-dependent D-glucose uptake by the vesicles were detected. Thus, the vesicles were judged to be able to evaluate the transport through the brush border membrane of proximal tubules. The uptake of methylmalonic acid by the vesicles time dependently increased over 2 min and the uptake at 4°C was decreased to 20% of the uptake at 37 °C. Furthermore, uptake of tritium labeled-methylmalonic acid by the vesicles at 5 min was decreased almost half by the existence of extracellular unlabeled methyl malonic acid (10 mM) and succinic acid (10 mM), structural isomer of methylmalonic acid. Therefore, involvement of succinic acid sensitive-transporter was suggested in the reabsorption mechanism of methyl
Genre Research Paper URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002	Notes	
URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002		
		https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって 保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2020 年度 福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	1,500	千円
	氏名	野口 幸希	氏名 (英語)	Saki Noguchi			713

研究課題 (日本語)

有機酸の体内動態制御分子を介した腎上皮細胞内における有機酸濃度正常化戦略の構築

研究課題 (英訳)

Developing the strategy to normalize organic acids concentration in renal epithelial cells via transporting regulation.

研究組織							
氏 名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position						
野口幸希(Saki Noguchi)	薬学部·助教						

1. 研究成果実績の概要

有機酸代謝異常によって生成した有機酸は尿中に排出される。中でもメチルマロン酸は、近位尿細管上皮細胞において腎毒性を呈することが知られる。腎近位尿細管上皮細胞へのメチルマロン酸取り込みに関わる分子を明らかにするため、尿細管上皮細胞に発現する有機アニオントランスポーターによるメチルマロン酸の基質認識を評価した。これまでに、近位尿細管基底側膜に発現する有機アニオントランスポーター OAT1 を介したメチルマロン酸の取り込みは示された一方、OAT3 を介したメチルマロン酸取り込みは示されていない。本研究では、近位尿細管刷子縁膜に発現する有機アニオントランスポーターである OAT4 によるメチルマロン酸の基質認識を明らかにするため、tetracycline 誘導性 OAT4 発現細胞を用いて解析した。OAT4 は、基質によって、細胞内ジカルボン酸との交換輸送による取り込み及び細胞外塩化物イオンとの交換輸送による排出のいずれの方向への基質輸送にも関与する。しかし、細胞外塩化物イオンの有無にかかわらず OAT4 を介したメチルマロン酸の輸送は示されなかった。そこで、尿細管刷子縁膜におけるメチルマロン酸の取り込み機構を解析にするため、ラット腎尿細管上皮細胞膜小胞を作成した。作成した膜小胞は、ほぼすべてが生体と同じ配向性を示すと算出され、ナトリウム依存性の Dーglucose 取り込みを示したことから、尿細管刷子縁における輸送機能を評価可能であると判断した。ラット腎刷子縁膜小胞を介した放射標識体メチルマロン酸の取り込みは、2 分間、時間依存的に上昇し、4℃における取り込みは、37℃における取り込みの約 20%であった。また、膜小胞を介した5分間のメチルマロン酸取り込みは、非標識メチルマロン酸 10 mM またはメチルマロン酸の構造異性体であるコハク酸 10mM が小胞外液に存在することによって約 50%減少した。これらより、近位尿細管刷子縁膜を介したメチルマロン酸輸送にはコハク酸感受性の輸送担体が介在することが示唆された。

2. 研究成果実績の概要(英訳)

Organic acids generated by disorders of organic acid metabolism are excreted in the urine. Of them, methylmalonic acid, a metabolite of methylmalonyl—CoA, exerts renal toxicity in the proximal tubules. Since both renal excretion and reabsorption are estimated in its renal excretion, substrate recognition of methylmalonic acid by renal brash border and basal organic anion transporters (OATs) were examined. OAT4, a bidirectional organic anion transporter located in brush border membrane of human proximal tubules is proposed to use chloride ion as a counterpart of organic anion exchange. However, OAT4-mediated uptake of methylmalonic acid was not detected both in the presence or absence of extracellular chloride. Then, rat kidney vesicles were prepared to analyze the transport mechanism of methylmalonic acid through the proximal tubules. Almost all resultant vesicles indicated right-side-out orientation, and sodium ion-dependent D-glucose uptake by the vesicles were detected. Thus, the vesicles were judged to be able to evaluate the transport through the brush border membrane of proximal tubules. The uptake of methylmalonic acid by the vesicles time dependently increased over 2 min and the uptake at 4°C was decreased to 20% of the uptake at 37 °C. Furthermore, uptake of tritium labeled-methylmalonic acid by the vesicles at 5 min was decreased almost half by the existence of extracellular unlabeled methyl malonic acid (10 mM), structural isomer of methylmalonic acid. Therefore, involvement of succinic acid sensitive-transporter was suggested in the reabsorption mechanism of methyl malonic acid through brush border membrane of proximal tubules.

3. 本研究課題に関する発表							
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)				
	Substrate Recognition of Renally Eliminated Angiotensin II Receptor Blockers by Organic Anion Transporter 4	•	2020 年 10 月				
, , , ,	MicroRNA-126 suppresses the invasion of trophoblast-model JEG-3 cells by targeting LIN28A	Biochemical and Biophysical Research Communications	2021 年 2 月				
野口幸希、舟橋和毅、西村 友宏、登美斉俊	Olmesartan の MDCK 細胞層透過 における OAT4 介在輸送の方向性 評価	日本薬剤学会第 35 年会	2020 年 5 月				
	OAT1 及び OAT3 を介したアンジ オテンシン II 受容体拮抗薬輸送の 評価	第5回トランスポーター研究会関東部会	2020年11月				