

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月1日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590184

研究課題名（和文） ソフトイオン化質量分析法を基盤とする内分泌・代謝疾患の  
メタボローム解析研究課題名（英文） Analysis of mtabolome in relation to endocrinological and  
metabolic diseases by soft ionization mass spectrometry

研究代表者

池川 繁男（IKEGAWA SHIGEO）

近畿大学・薬学部・教授

研究者番号：90111301

研究成果の概要（和文）：

最新のソフトイオン化質量分析法を基盤とするテトラヒドロコルチコステロイド、胆汁酸、オキシステロールなどのグルクロン酸、硫酸、グルタチオン、N-アセチルシステインなどの抱合体の高感度測定法を開発し、本法が内分泌・代謝疾患の病因・病態解析に有用なことを示した。

研究成果の概要（英文）：

Highly sensitive and specific soft ionization mass spectrometry for the determination of tetrahydrocorticosteroids, bile acids, and oxysterols, which are conjugated with glucuronic and sulfuric acids, glutathione, and N-acetylcysteine, have been developed. The developed methods were useful for diagnosis of endocrinological and metabolic diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：臨床化学

## 1. 研究開始当初の背景

近年における生命科学研究では、ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクスなどの進歩発展とともに、生体内における代謝物の詳細な変動を解析するメタボロミクスが、タンパク質の機能の解析のみならず、病因・病態の解明、さらには生理作用因子を明らかにする上で重要な課題となっている。一方今日、LC/MS、LC/核磁気共鳴法（NMR）などハイファナーテッド・テクニックと呼ばれる複合システムが実用化され、極微試料を用

いるDNA、タンパク質、糖鎖など生体高分子の高次構造の解析のみならず、低分子生理活性物質の体内動態の解析にその応用研究が展開されつつある。

## 2. 研究の目的

本研究は、微量で顕著な生理作用を発現するステロイドホルモン、脂質の吸収のみならず細胞内情報伝達物質の一つとして重要な役割を担っている胆汁酸、さらには、最近、動脈硬化症との関連から注目が寄せられている硫酸抱合型オキシステロールにフォーカ

スドし、血液、尿、唾液などの体液のみならず組織・細胞内で質的・量的に変動するこれら低分子生理活性物質の液体クロマトグラフィー (LC) /エレクトロスプレーイオン化 (ESI) -質量分析法 (MS) による迅速な同定、定量を可能とするメタボローム解析法を構築し、遺伝的要因や生活習慣などの複数の要因が複雑に関係した疾患の診断、予防そして治療法の開発に資することを目的とする。

## 2. 研究の方法

本研究目的を達成するには、テトラヒドロコルチコステロイド、胆汁酸、並びにオキシステロールの各種抱合体を標品として確保することが必須であり、精度、感度、正確度に優れるプロフィール分析法の確立がその前提となる。本研究では、初めにこれら抱合体標品を有機化学的手法を駆使して合成するとともに、ESI-MS/MSにおいて生成する特徴的イオンを明らかにする。さらに、得られた知見を基にLCにおけるクロマトグラフの挙動を精査し、これを基に血液、尿、胆汁や組織・細胞など生体試料中濃度の信頼度の高いLC/ESI-MS/MSによる高感度定量法を開発するとともに、本法によって各種病態時における代謝物の質的・量的変動を解析し、内分泌・代謝疾患の科学診断に資する。

## 4. 研究成果

(1) LC/MS による内分泌疾患の科学診断法の開発

①尿中テトラヒドロコルチコステロイド・グルクロニドを標的とする内分泌疾患の科学診断法の開発

負イオン検出LC/ESI-MS/MSとOasis<sup>®</sup> HLBカートリッジを用いる尿試料の簡便な前処理法とを組み合わせたテトラヒドロコルチコステロイド・グルクロニド 12 種の高感度直接一斉分析法を開発し、本法がクッシング症候群の病態解析に有用なことを実証した。

②尿中テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェートを標的とする内分泌疾患の科学診断法の開発

初めに、コルチゾール及び 11-デオキシコルチゾールを出発原料に用いて、ステロイド格 A 環の立体選択的還元、3 位及び 21 位水酸基の選択的保護とクロロスルホン酸-ピリジン錯体による水酸基の硫酸化反応を駆使して、5 $\beta$ -A/B-シス構造を有するテトラヒドロコルチゾール (THF)、テトラヒドロコルチゾン (THE)、テトラヒドロ-11-デオキシコルチゾール (THS) とこれらの 5 $\alpha$ 立体異性体 (allo-THF、allo-THE、allo-THS) の 3-並びに 21-サルフェートと 3,21-ジサルフェート標品計 18 種を合成した。

引き続き、LC/MS による信頼度の高い尿中硫酸抱合型テトラヒドロコルチコステロイドの高感度直接一斉分析法を開発する上に必須となる内標準物質として、ステロイド核上、A 環あるいは C 環に 4 ~ 5 個の重水素を保持した多重重水素標識テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェート 14 種をコルチゾール及び 11-デオキシコルチゾールを出発原料に用いて合成した。

さらに、合成したサルフェート標品 18 種の負イオン検出 ESI-MS/MS において生成する構造上の特徴的イオンを明らかにするとともに、効率的なイオンの生成条件を設定し、LC におけるクロマトグラフ的挙動を明らかにした。引き続き、イオン交換と逆相ミックスモードの固相抽出カートリッジ用いる尿試料の簡便な前処理法と多重重水素標識テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェートを内標準物質として用いる安定同位体希釈 LC/ESI-MS/MS 分析法とを組み合わせたヒト尿中テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェートの高感度定量法を開発し、本法が内分泌・代謝疾患の科学診断に有用なことを立証した。

(2) グルタチオン抱合型胆汁酸の動態解析  
①胆汁酸の代謝活性中間体と bionucleophile との反応性の解析

胆汁酸のアミノ酸抱合における代謝活性中間体であるアシルアデニレートと CoA チオエステルのアミノ基並びにチオール基に対する反応性を、重水素標識体と非標識体の 1:1 混合物を基質に用いて LC/ESI-MS/MS によって CoA チオエステルがグルタチオン抱合の優先的な基質であることを明らかにした。

②ヒト胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の同定

初めに、ラット胆汁中に排泄されるグルタチオン抱合型胆汁酸を同定した。引き続き、これらの知見を基に、各種肝胆道疾患患者の胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸を LC/ESI-MS/MS によって精査し、先天性胆道拡張症と非症候性小葉間胆管減少症患児の胆汁中にケノデオキシコール酸とリトコール酸がグルタチオン抱合体として排泄されることを明らかにし、ヒトにおける胆汁酸の新規代謝排泄経路の存在を世界に先駆けて明らかにした。

③ラット肝サイトゾール画分におけるグルタチオン抱合型胆汁酸の硫酸抱合

初めに、ヒト主要胆汁酸 3-サルフェート 5 種のグルタチオン抱合体を標品として合成し、これらの LC/ESI-MS/MS による高感度測

定法を構築した。引き続き、本法によってグルタチオン抱合型胆汁酸がラット肝サイトゾール画分において硫酸抱合を受けるものの、素早く加水分解を受けて遊離型胆汁酸 3-サルフェートに変換されることを明らかにした。

(3) *N*-アセチルシステイン抱合型胆汁酸の体内動態と肝機能改善作用

①ラット肝サイトゾール画分における *N*-アセチルシステイン抱合型胆汁酸の硫酸抱合

初めに、ヒト主要胆汁酸 3-サルフェート 5種の *N*-アセチルシステイン抱合体を標品として合成し、これらの LC/ESI-MS/MS による高感度測定法を構築した。引き続き、本法によって *N*-アセチルシステイン抱合型胆汁酸がラット肝サイトゾール画分において硫酸抱合を受けるものの、素早く加水分解を受けて遊離型胆汁酸 3-サルフェートに変換されることを明らかにした。

② *N*-アセチルシステイン抱合型ウルソデオキシコール酸の体内動態と肝機能改善作用

肝胆消化機能の改善が期待される *N*-アセチルシステイン抱合型ウルソデオキシコール酸 (UDCA-NAC) の体内動態と薬理効果に関する基礎的知見を得る目的で、[2,2,4,4- $d_4$ ]-UDCA-NAC 投与ラットの代謝物をも含めた血中薬物濃度を LC/ESI-MS/MS によって解析し [2,2,4,4- $d_4$ ]-UDCA-NAC が投与後速やかに加水分解を受けて遊離型に変換されてアミノ酸抱合体として血中に出現することを明らかにした。また、アセトアミノフェン誘発肝障害ラットの血中 ALT および AST が、[2,2,4,4- $d_4$ ]-UDCA-NAC 非投与群と比較して有意に低下することを明らかにし、UDCA-NAC が薬物性肝障害を改善するプロドラッグであることを示した。

(3) 唾液中胆汁酸を指標とする非侵襲肝胆道疾患検査法の開発

遊離型ならびにグリシン抱合型胆汁酸が保有するカルボキシル基を利用して 2-hydrazinopyridine 誘導体に導く検出指向誘導体化法と正イオン検出 LC/ESI-MS/MS による組み合わせた唾液中胆汁酸の感度、特異性に優れる定量法を構築し、本法が無侵襲肝胆道疾患検査法として有用なことを明らかにした。

(4) LC/ESI-MS による硫酸抱合型オキシステロールの高感度測定法の構築

初めに、ethyl(trifluoromethyl)dioxirane を用いるコレステロールの遠隔酸素化反応を駆使して 24-並びに 25-オキシコレステロールを合成し、これらと別途合成した数種のオキシステロールの 3-サルフェート標品を調製し

た。引き続き、これらサルフェートの安定同位体希釈 LC/ESI-MS/MS による高感度測定法を構築し、本法が脂質代謝異常症の病態解析に有用なことを示した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 21 件)

1. Mitamura K, Hori N, Mino S, Iida T, Hofmann AF, Ikegawa S: Synthesis of the 3-sulfates of *S*-acyl glutathione conjugated bile acids and their biotransformation by a rat liver cytosolic fraction, *Chem. Phys. Lipids*, **165**, 261-269 (2012). 査読有
2. Mitamura K, Hori N, Iida T, Suzuki M, Shimizu T, Nittono H, Takaori K, Takikawa H, Honmann AF, Ikegawa S, Identification of *S*-acyl glutathione conjugates of bile acids in human bile by means of LC/ESI-MS, *Steroids*, **76**, 1609-1614 (2011). 査読有
3. Ikegawa S, Nagae K, Mabuchi T, Okihara R, Hasegawa M, Minematsu T, Iida T, Mitamura K: Synthesis of 3- and 21-monosulfates of [2,2,3 $\beta$ ,4,4- $^2H_5$ ]-tetra-hydrocorticosteroids in the 5 $\beta$ -series as internal standards for mass spectrometry. *Steroids*, **76**, 1232-1240 (2011). 査読有
4. Ogawa S, Okada H. Mitamura K, Ikegawa S, Krasowski MD, Hagey LR, Hofmann AF, Iida T: Chemical synthesis of the (25*R*)- and (25*S*)-epimers of 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -trihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-27-oic acid as well as their corresponding glycine and taurine conjugates: key intermediates of *allo*-bile acid biosynthesis from cholesterol, *Chem. Phys. Lipids*, **164**, 368-377 (2011). 査読有
5. 池川繁男, 堀直宏, 三田村邦子, 飯田隆, 鈴木光幸, 清水俊明, 入野博博, 高折恭一: 液体クロマトグラフィー/質量分析法によるヒト胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の同定, 胆膵の病態生理, **27**, 47-49 (2011). 査読有
6. Mitamura K, Aoyama E, Sakai T, Iida T, Hofmann AF, Ikegawa S: Characterization of non-enzymatic acylation of amino or thiol groups of bionucleophiles by the acyl-adenylate or acyl-CoA thioester of cholic acid, *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**, 2253-2259 (2011). 査読有
7. Mitamura K, Sakai T, Nakai R, Wakamiya T, Iida T, Hofmann AF, Ikegawa S: Synthesis of the 3-sulfates of *N*-acetylcysteine conjugated bile acids (BA-NACs) and their transient formation from BA-NACs and subsequent hydrolysis by a rat liver cytosolic fraction as shown by liquid chromatography/electrospray

- ion-ization-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**, 2061-2072 (2011). 査読有
8. Higashi T, Ichikawa T, Shimizu C, Nagai S, Inagaki S, Min JZ, Chiba H, Ikegawa S, Toyo'oka T: Stable isotope-dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of thyroxine in saliva, *J. Chromatogr. B*, **879**, 1013-1017 (2011). 査読有
  9. Iida T, Ogawa S, Tamegai H, Adachi Y, Saito H, Ikegawa S, Konishi H, Takagi A, Matsuzaki T: Chemical synthesis of the 17-propanamide derivatives of stereoisomeric  $\Delta^{14}$ -17 $\alpha$ - and 17 $\beta$ -estradiols: potential 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors, *Chem. Phys. Lipids*, **164**, 106-112 (2011). 査読有
  10. Mitamura K, Hori N, Iida T, Hofmann AF, Ikegawa S: Identification of bile acid S-acyl glutathione conjugates in rat bile by liquid chromatography/electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry, *Steroids*, **76**, 68-77 (2011). 査読有
  11. Mitamura K, Ikegawa S: Simultaneous determination of tetrahydrocorticosteroid glucuronide by liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry, *Korean J. Lab. Med.* **30** (Suppl. 2), S270 (2010). 査読無
  12. Higashi T, Shibayama Y, Ichikawa T, Ito K, Toyo'oka T, Shimada K: Mitamura K, Ikegawa S, Chiba H: Salivary cheno- deoxycholic acid and its glycine- conjugate: Their determination method using LC-MS/MS and variation of their concentrations with increased saliva flow rate, *Steroids*, **75**, 338-345 (2010). 査読有
  13. Hosogi J, Tanaka H, Fujita K, Kuwabara T, Ikegawa S, Kobayashi N, Mano N, Goto J: LC-MS/MS coupled with immunoaffinity extraction for determination of estrone, 17 $\beta$ -estradiol and estrone 3-sulfate in human plasma, *J. Chromatogr. B*, **878**, 222-227 (2010). 査読有
  14. Okihara R, Mitamura K, Hasegawa M, Mori M, Muto A, Kakiyama G, Iida T, Shimada M, Mano N, Ikegawa S: Potential corticoid metabolites: chemical synthesis of 3- and 21-mono- and 3,21-disulfate conjugates of tetrahydrocorticosteroids in the 5 $\alpha$ - and 5 $\beta$ -series, *Chem. Pharm. Bull.*, **58**, 344-353 (2010). 査読有
  15. Ikegawa S, Hasegawa M, Okihara R, Shimizu C, Chiba H, Iida T, Mitamura K: Simultaneous determination of twelve tetrahydrocorticosteroid glucuronide in human urine by liquid chromatography/ electrospray ionization linear ion trap mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **81**, 10124- 10135 (2009). 査読有
  16. 三田村邦子, 堺俊博, 池川繁男, 若宮建昭: 胆汁酸のグルタチオン抱合体とLC/MS、*JUSCO Report*, **51**, 7-13 (2009). 査読無
  17. 三田村邦子, 長谷川真紀, 沖原梨香, 池川繁男: LC/ESI-MSによる内分泌・代謝疾患の科学診断へのアプローチ, *臨床化学*, **38**, 291-298 (2009). 査読有
  18. Mitamura K, Watanabe S, Sakai T, Okihara R, Sogabe M, Wakamiya T, Hofmann AF, Ikegawa S: Chemical synthesis of N- acetylcysteine conjugates of bile acids and in vivo formation in cholestatic rats as shown by liquid chromatography/electrospray ionization -linear ion trap mass spectrometry, *J. Chromatogr. B.*, **877**, 2630-2638 (2009). 査読有
  19. Ikegawa S, Ito H, Ohshima M, Maeda M, Hofmann AF, Mitamura K: Chemical Synthesis of bile acid acyl-adenylates and formation by rat liver microsomal fraction, *Steroids*, **74**, 751-757 (2009). 査読有
  20. Mitamura K, Watanabe S, Mitsumoto Y, Sakai T, Sogabe M, Wakamiya T, Ikegawa S: Formation and biliary excretion of glutathione conjugates of bile acids in the rat as shown by liquid chromatography/electrospray ionization -linear ion trap mass spectrometry, *Anal. Biochem.*, **384**, 224-230 (2009). 査読有
  21. Ogawa S, Kakiyama G, Muto A, Hosoda A, Mitamura K, Ikegawa S: Hofmann AF, Iida T: A facile Synthesis of C-24 and C-25 oxysterols by in situ generated ethyl(tri-fluoromethyl)dioxirane, *Steroids*, **74**, 81-87 (2009). 査読有
- [学会発表] (計 46 件)
1. 池川繁男: 同位体希釈LC/ESI-MSに用いる多重重水素標識A/B-トランスallo-tetrahydrocorticosteroid 3- 及び 21-monosulfateの合成. 日本薬学会第132年会 (2012.3.28-31, 札幌)
  2. 小川祥二郎: オオトカゲ胆嚢胆汁成分から新規胆汁酸の単離・同定: Tauro-(24R,25S)-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ ,24-tetrahydroxy-5 $\beta$ -cholestan-27-oic acid. 日本薬学会第132年会 (2012.3.28-31, 札幌)
  3. 三田村邦子: テトラヒドロコルチコステロイドのグルクロン酸抱合に関する検討. 日本薬学会第132年会 (2012.3.28-31, 札幌)
  4. 池川繁男: グルタミン抱合型胆汁酸の高感度測定法開発に関する基礎的検討, 第21回日本小児胆汁酸研究会 (2012.2.18, 東京)
  5. 池川繁男: Allo-tetrahydro-11-deoxycortisol 3- 及び21-monosulfateの同位体希釈LC/ESI-MSに用いる多重重水素標識体の合成, 第61回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2011.10.22, 神戸)
  6. 池川繁男: ラット胆汁中グルタチオン抱合型フェニル酪酸のLC/ESI-MS/MSによる同

- 定. 第 36 回日本医用マスペクトル学会年  
会 (2011.9.15-16, 大阪)
7. 三田村邦子: LC/MSによるグルタチオン抱  
合型胆汁酸の動態解析. 第 60 回日本分析化  
学会 (2011.9.14-16, 名古屋)
8. 池川繁男: ソフトイオン化質量分析法によ  
るグルタチオン抱合型胆汁酸の生成と動態  
解析. 第 51 回日本臨床化学会年次学術集  
会 (2011.8.26-28, 札幌) (シンポジウム)
9. 三田村邦子: グルタチオン抱合型胆汁酸の  
胆汁排泄. 第 51 回日本臨床化学会年次学術  
集会 (2011.8.26-28, 札幌)
10. 三田村邦子: *N*-アセチルシステイン抱合  
型ウルソデオキシコール酸の体内動態と肝  
機能完全作用に関する基礎的検討. 第 20 回  
西日本臨床胆汁酸研究会 (2011.7.23, 大阪)
11. 三田村邦子: グルタチオン抱合型胆汁酸  
3-サルフェートの合成とラット肝サイトゾ  
ール画分における生成. 第 28 回日本胆膵病  
態生理研究会 (2011.6.18, 福岡)
12. Kuniko Mitamura: Liquid chromatography/  
mass spectrometric characterization of non-  
enzymatic acylation of amino or thiol groups of  
bionucleophiles by the cholyl-adenylate or  
cholyl-CoA thioester. 59th ASMS Conference  
on Mass Spectrometry and Allied Topics  
(Denver, CO, USA)
13. Shigeo Ikegawa: Liquid chromatography-  
mass spectrometric characterization of sulfation  
of *N*-acetylcysteine conjugated bile acids by a  
rat liver cytosolic fraction, 59th ASMS  
Conference on Mass Spectrometry and Allied  
Topics (Denver, CO, USA)
14. 池川繁男: LC/ESI-MS/MSによるヒト胆汁  
中グルタチオン抱合型胆汁酸の同定. 日本薬  
学会第 131 年会 (2011.3.29-30, 静岡)
15. 三田村邦子: グルタチオン抱合型胆汁酸  
3-サルフェートの合成とラット肝サイトゾ  
ール画分における生成. 日本薬学会第 131 年  
会 (2011.3.29-30, 静岡)
16. 三田村邦子: LC/ESI-MS/MSによるヒト胆  
汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の同定. 第 21  
回日本臨床化学会近畿支部総会 (2011.2.5, 大  
阪)
17. 池川繁男: グルタチオン抱合型胆汁酸の  
ラット肝サイトゾール画分における硫酸抱  
合の解析. 第 32 回胆汁酸研究会 (2010.11.9,  
仙台)
18. Ikegawa S: Analysis of glutathione  
conjugates of bile acids in rat bile by  
LC/ESI-MS/MS. XXI International Bile Acid  
Meeting. Bile Acid as Metabolic Integrators and  
Therapeutics, (2010.10.7-8, Freiburg, Germany)
19. Iida T: Chemical synthesis of the (25*R*)- and  
(25*S*)-epimers of 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -trihydroxy-
- 5 $\alpha$ -cholestan-27-oic acid and their glycine and  
taurine conjugates. XXI International Bile Acid  
Meeting. Bile Acid as Metabolic Integrators and  
Therapeutics, (2010.10.7-8, Freiburg, Germany)
20. Mitamura K: Simultaneous determination of  
tetrahydrocorticosteroid glucuronides by liquid  
chromatography/electrospray ioniza-  
tion-mass spectrometry. The 12th Asian-  
Pacific Congress of Clinical Biochemistry (シン  
ポジウム) (2010.10.3-7, Seoul, Korea)
21. 坂野理絵: ヒト血中硫酸抱合型オキシス  
テロールの同位体希釈 LC/ESI-MS による直  
接一斉分析法の開発. 第 50 回日本臨床化学  
会年次学術集会 (2010.9.23-25, 甲府)
22. 三田村邦子: イオンクラスター法による  
胆汁酸代謝活性中間体のチオール基並びに  
アミノ基との反応性の解析. 第 35 回日本医  
用マスペクトル学会年次学術集会 (2010.9.9-10,  
名古屋)
23. 池川繁男: 内分泌・代謝疾患のLC/MSに  
よるメタボロミクスに用いる多重重水素標  
識A/B-シス-テトラヒドロコルチコステロイ  
ド・サルフェートの合成. 第 23 回バイオメ  
ディカル分析科学シンポジウム (2010.7.21-23,  
松島)
24. 池川繁男: 胆汁酸のグルタチオン抱合  
体と胆汁排泄. 第 27 回日本胆膵病態・生理研  
究会 (2010.6.26, 弘前)
25. Ikegawa S: Mass Spectrometric Techniques  
Applied to the Study of Conjugated Bile Acids,  
Steroids, and Oxysterols. Research Seminar at  
Virginia Commonwealth Uni-  
versity, Medical  
College of Virginia Campus (招待講演) .  
(2010.5.27, Richmond, USA)
26. Mitamura K: Quantitative metabolic profiling  
of twelve tetrahydrocorticosteroid glucur-  
onides in urine by isotope dilution LC-ESI-  
linear ion trap MS/MS. 58th ASMS Conference on  
Mass Spectrometry (2010.5.23-27, Salt Lake  
City, USA)
27. Hori N: Identification of novel metabolites of  
bile acids: *S*-acyl glutathione conjugates in  
rat bile by LC/ESI-linear ion trap MS/MS. 58th  
ASMS Conference on Mass Spectrometry  
(2010.5.23-27, Salt Lake City, USA)
28. 堀直宏: ラット胆汁中グルタチオン抱  
合型胆汁酸の合成と LC/MS による同定. 日本  
薬学会第 130 年会 (2010.3.28-30, 岡山)
29. 堺俊博: LC/ESI-MS/MS によるラット胆  
汁中重水素標識 *N*-アセチルシステイン抱  
合型胆汁酸の同定. 日本薬学会第 130 年  
会 (2010.3.28-30, 岡山)
30. 三田村邦子: LC/ESI-MS/MSによるヒト尿  
中テトラヒドロ-並びにヘキサヒドロコルチ  
コステロイド・グルクロニド直接一斉分析法  
の開発. 日本薬学会第 130 年会 (2010.3.28-30,

岡山)

31. 池川繁男 : LC/ESI-MS/MSによるN-アセチルシステイン抱合型ウルソデオキシコール酸の体内動態に関する基礎的検討. 日本薬学会第130年会 (2010.3.28-30, 岡山)
32. 池川繁男 : 重水素標識N-アセチルシステインによる胆汁酸代謝活性中間体のトラッピング. 第19回日本小児胆汁酸研究会 (2010.2.20, 東京)
33. 三田村邦子 : 肝・胆・消化機能改善作用を指向したプロドラッグ開発の基礎的検討: 重水素標識N-アセチルシステイン抱合型ウルソデオキシコール酸の体内動態の追跡. 第19回日本小児胆汁酸研究会 (2010.2.20, 東京)
34. 池川繁男 : 肝・胆・消化機能改善薬として期待されるN-アセチルシステイン抱合型ウルソデオキシコール酸の体内動態に関する基礎的研究. 第20回日本臨床化学会近畿支部総会 (2009.12.26, 大阪)
35. 池川繁男 : 質量分析 (LC/MS) と臨床化学. 第27回日本臨床化学会関東支部例会 (依頼講演) (2009.12.5, 東京)
36. 堀直宏 : ラット胆汁中グルタチオン抱合体の合成とこれらの LC/MS による同定. 第31回胆汁酸研究会 (2009.11.7, 東京)
37. Ikegawa S: Identification of glutathione conjugates of bile acids in rat bile by LC/ESI-MS<sup>2</sup>. 日本薬物動態学会第24回年会 (2009.11.27-29, 京都)
38. 三田村邦子 : 多重重水素標識テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェートの合成とESI-MS<sup>n</sup>における挙動. 第59回日本薬学会近畿支部大会 (2009.10.24, 大阪)
39. 坂野理絵 : LC/MS による硫酸抱合型オキシステロール直接一斉分析法の開発. 第59回日本薬学会近畿支部大会 (2009.10.24, 大阪)
40. 池川繁男 : LC/ESI-MS/MSによるN-アセチルシステイン抱合型胆汁酸 3-サルフェートのトレースアナリシス. 日本分析化学会第58年会 (2009.9.24-26, 札幌)
41. 三田村邦子 : 同位体希釈LC/ESI-MS/MSによる尿中テトラヒドロコルチコステロイド・サルフェート定量法の開発. 第49回日本臨床化学会年会 (2009.9.18-20, 長崎)
42. 東達也 : 唾液中胆汁酸: LC-ESI-MS/MS定量法と唾液分泌量亢進に伴う濃度変動. 第34回日本医用マススペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)
43. 堺俊博 : LC/ESI-MS/MS による N-アセチルシステイン抱合型胆汁酸のラット肝サイトゾール画分における硫酸抱合の解析. 第34

回日本医用マススペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)

44. 堀直宏 : ラット胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の同定. 第34回日本医用マススペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)
45. 三田村邦子 : LC/ESI-MS/MSによるラット並びにヒト胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の解析. 第19回西日本臨床胆汁酸研究会 (2009.7.25, 大阪)
46. 池川繁男 : 胆汁酸のグルタチオン抱合と胆汁排泄. 第22回バイオメディカル分析科学シンポジウム (2009.7.15-17, 岐阜)

〔図書〕 (計3件)

1. 池川繁男, 三田村邦子, 丸善出版, 試料分析講座 脂質分析, 2012, pp. 135-148.
2. 池川繁男, 三田村邦子, 南江堂, 薬学生のための臨床化学, 2010, p. 41-46.
3. 池川繁男, 三田村邦子, じほう, 薬学分析科学の最前線, 2009, pp. 130-131.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

池川 繁男 (IKEGAWA SHIGEO)  
近畿大学・薬学部・教授  
研究者番号: 90111301

##### (2) 研究分担者

三田村 邦子 (MITAMURA KUNIKO)  
近畿大学・薬学部・准教授  
研究者番号: 70242526