

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 5 月 24 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21550091

研究課題名（和文） 先天性胆汁酸代謝異常症における疾患マーカーの特定，同定と病態解析

研究課題名（英文） Identification and specific makers of abnormal bile acids excreted in inborn errors of bile acid biosynthesis

研究代表者

飯田 隆 (IIDA TAKASHI)

日本大学・文理学部・教授

研究者番号：60060125

研究成果の概要（和文）： 生体内でコレステロールから胆汁酸は 16 段階の中間体からなる複雑な生合成経路で変換される。多くの先天性胆汁酸代謝異常症では、生合成中間体やそれらの代謝産物が顕著な量で血中に蓄積、あるいは一部が尿中に排泄される。本研究課題では、**先天性胆汁酸代謝異常症**の一つである Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症 (Δ^4 -3-oxo-steroid-5 β -reductase deficiency) を対象として、本疾患患者尿試料中に含まれる非抱合型と抱合型の飽和胆汁酸及び Δ^4 -3-オキソ、 $\Delta^{4,6}$ -3-オキソ不飽和胆汁酸（合計 39 種類）について高感度で高選択的な至適分離・分析条件の確立並びに本疾患に特異的マーカー分子の特定をエレクトロスプレーイオン化(ESI)を組み合わせた **LC/ESI-MS/MS** 法を確立、開発した。本法によれば、尿試料を何ら煩雑な前処理操作を加わることなく直接 LC/ESI-MS/MS 装置に注入し、負イオン検出法(NID)と選択反応検出法(SRM)によって簡便かつ精度よく定量化することに成功した。因みに、3 人の Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症患者の尿中には、健常人のそれには殆んど存在しない Δ^4 -3-オキソ、 $\Delta^{4,6}$ -3-オキソ異常胆汁酸の非抱合体と抱合体が極めて顕著な量（主成分）として存在していることが明らかになった。これら 3-オキソ不飽和胆汁酸は本疾患の診断マーカーとして期待されるばかりか、今後本法が簡易で精度の高いスクリーニング法あるいは確定診断法へと繋げられることが大いに期待される。

研究成果の概要（英文）： The synthesis of bile salts from cholesterol is a complex biochemical pathway involving at least 16 enzymes. Most **inborn errors of bile acid biosynthesis** result in excessive formation of intermediates and/or their metabolites that accumulate in blood and are excreted in part in urine. Early detection is important as oral therapy with bile acids results in improvement. In the past, these intermediates in bile acid biosynthesis have been detected in neonatal blood or urine by screening with FAB-MS followed by detailed characterization using GC-MS. Both methods have proved difficult to automate, and currently most laboratories screen candidate samples using LC-MS/MS. Here, we describe a new, simple and sensitive analytical method for the identification and characterization of 39 conjugated and unconjugated bile acids, including Δ^4 -3-oxo- and $\Delta^{4,6}$ -3-oxo-bile acids (markers for **Δ^4 -3-oxo-steroid 5 β -reductase deficiency**), using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (**LC/ESI-MS/MS**). In this procedure, a concentrated, desalted urinary sample (diluted with ethanol) is injected directly into the LC-ESI-MS/MS, operated with ESI and in the negative ion mode; quantification is obtained by selected reaction monitoring (SRM). To evaluate the performance of our new method, we compared it to a validated method using GC-MS, in the analysis of urine from two patients with genetically confirmed Δ^4 -3-oxo-steroid-5 β -reductase deficiency as well as a third patient with an elevated concentration of abnormal conjugated and unconjugated Δ^4 -3-oxo-bile acids. The Δ^4 -3-oxo-bile acids concentration recovered in three patients with 5 β -reductase deficiency were 48.8, 58.9, and 49.4 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Creatinine, respectively by LC/ESI-MS/MS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析科学

キーワード：生体分子、異常胆汁酸代謝産物、LC/ESI-MS/MS、先天性胆汁酸代謝異常症、 Δ^4 -3-オキソ-ステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症

1. 研究開始当初の背景

新生児、乳幼児の原因不明な胆汁うっ滞症の中には、先天性胆汁酸代謝異常症が大きな要因であることが知られており、本邦においても報告される症例数が著増している。現在までに**先天性胆汁酸異常症**とされている疾病には、Zellweger's 症候群、脳髄黄色腫症 (CTX)、Alagille 症候群、Wilson 病、先天性胆道閉塞 (あるいは拡張) 症、 **Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症** (Δ^4 -3-oxo-steroid-5 β -reductasedeficiency)、3 β -hydroxysteroid Δ^7 -reductase 欠損症、25-hydroxylation pathway 異常症、Dubin-Johnson 症候群、進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 (PFIC ; Byler 病)、Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLOS)、Niemann-Pick type C (NP-C) など多数の症例が報告されている。先天性代謝異常症の診断は現在、肝機能検査がもっぱら用いられているものの、新生児という特異な時期であるため、相互鑑別、確定診断が極めて難しいという課題をもつ。しかも、予後が非常に悪く、早期に肝移植等の適切な治療が行なわれないと、多く場合は死に至る重篤な疾患である。

これら肝疾患の成因はコレステロールから胆汁酸の生合成の各段階における酵素の先天性欠損や失活、あるいは胆汁酸トランスポーター遺伝子異常に起因する等と言われているものの、その殆どが明確に解明されていない。このうち、Zellweger's 症候群については C₂₇、C₂₉ 高級胆汁酸が、CTX では C₂₃ 短鎖胆汁酸が、それぞれ特異的かつ顕著に尿

中に出現することから、臨床化学的診断法として有効利用されているものの、その他の先天性胆汁酸代謝異常症については、未だ解明されていない。

2. 研究の目的

本課題では一連の先天性胆汁酸代謝異常症患者の尿中に排泄される Δ^4 -3-オキソ型不飽和胆汁酸抱合体及び関連胆汁酸二次代謝産物を取り上げ、先ず、有機合成化学的手法を駆使し、推定構造として最も有力な候補化合物を化学合成し、合成標品を用いて患者尿中の未知化合物の構造決定を行なう。さらに、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) 法による高感度で信頼度の高い直接一斉分析法の確立し、疾病と Δ^4 -3-オキソ不飽和胆汁酸の構造相関を明らかにして的確なマーカー化合物を確定・同定することで、胆汁酸代謝異常症、特に Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症の臨床化学的診断法を構築することを目的とした。

先天性胆汁酸代謝異常症の診断法としては、尿中の“非抱合型”胆汁酸代謝異常成分を疾病マーカーとし、それをガスクロマトグラフィー質量スペクトル (GC-MS) で測定する化学的手法が臨床の場で一部有効活用されつつある。しかし、操作の煩雑さや熱不安定分子への適用の困難さに加え、脱抱合に伴って生体の生情報 (抱合の種類、部位、数、立体配置等) を喪失するといった重大な欠点も併せもち、これらの克服が重要な課題となっている。すなわち、的確な異常胆汁酸代謝

産物を探索、特定し、それを診断マーカーとして直接分析する新たな化学的診断法の構築が強く望まれている。本研究でターゲットとするのは、非抱合型と抱合型の Δ^4 -3-オキソ不飽和胆汁酸異常代謝成分であり、これらを液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレー/タンダム質量分析法(LC/ESI-MS/MS)で直接分析して診断指標とし、病態解析を行なおうとするものである。LC/ESI-MS/MS法では、抱合体を何ら水解、ソルボリシス、誘導体化等の前処理操作に付すことなく直接分析が可能である。このため、抱合に関する正確な情報が直接得られること、水解等に伴う回収率などの問題を考慮しなくても済むこと、種々ステロイド抱合体相互の量的関係を同時に知ることができる、などプロフィール分析に多大の威力を発揮できることが期待される。さらに、LC/ESI-MS/MS法では、煩雑な前処理操作を必要としないため、GC-MS法で数日間要していた前処理操作も殆ど不要となり、分析時間が大幅に短縮でき、一日分析検体数も飛躍的に向上することも見込まれる。

しかし、LC/ESI-MS/MS法といえどもステロイド多重抱合体(グリシン、タウリン、スルフェート等)の微細構造、すなわち抱合体種の数、位置とその立体配置に関する的確な情報を得ることは難しく、合成標品との対比が不可欠となる。従って本研究では、まず、先天性胆汁酸代謝症患者の体液中に特異的に出現すると予想される種々の Δ^4 -3-オキソ胆汁酸の多重抱合体標品について先駆的有機合成手法を用いて化学合成し、得られた合成標品との直接対比による化学構造の決定を行う。次いで、LC/ESI-MS/MS法を用いるステロイド多重抱合体の高感度・高選択的なプロフィール分析法を開発すると共に、疾患に特異的に排泄される異常胆汁酸代謝産物の構造相関を明らかにする。

本研究計画が達成されれば、先天性胆汁酸代謝異常症の確定臨床診断が可能となるばかりか、診断の精度・確度、及び分析時間が飛躍的に向上し、疾病の早期発見、治療に資すること大なるものと期待される。

3. 研究の方法

本研究課題は平成21~23ヵ年計画に基づき、まず、研究初年度に一連の疾病マーカー候補化合物の化学合成を達成した。続く平成22年度には合成標品と疾患尿中成分との直接対比による化学構造の決定を行なった。さらに合成標品を用いてLC/ESI-MS/MS法による Δ^4 -3-オキソ胆汁酸抱合体の信頼度

の高い高感度・高選択的な直接一斉プロフィール分析法を構築した。計画最終年の平成23年度には、前年度までに得られたデータを基に分析実検体数を増やし、各疾患の的確な診断マーカーを特定して、先天性胆汁酸代謝異常症の化学的診断法と病態解析の確立へ繋げた。

まず、適当な胆汁酸原料を用いてターゲットとする不飽和胆汁酸の化学合成を行なう。次いで、遊離型の不飽和胆汁酸のヒドロキシル基あるいは側鎖末端カルボキシル基を介してアミノ酸、硫酸、糖(D-グルクロン酸、D-グルコース、D-N-アセチルグルコサミン)分子が多重抱合した高極性、難揮発性、水溶性化合物の抱合型不飽和胆汁酸誘導体を化学合成した。

平成22年度には、疾病マーカー候補化合物の合成を進めると共に、合成の終了した化合物から順次LC-MS/MSによる至適分離分析条件と高感度・高選択的測定法の検討を行なった。次いで、一連の合成標品を用いて不飽和胆汁酸多重抱合体のLC-MS/MS法による信頼度の高い直接一斉プロフィール分析法を検討した結果、イオン化法としては、標的不飽和胆汁酸多重抱合体の分子量と極性からエレクトロスプレーイオン化(ESI)法が最も有効であることが判明した。また、各成分の定量分析には、選択性向上を目的とした選択反応検出法(selected reaction monitoring)が最適であった。

上記の予備的データを踏まえ、平成23年度にはステロイド核上、 Δ^4 -、 Δ^5 -、 Δ^6 -結合及び側鎖末端N-アセチルグルコサミン(グリシン、タウリン抱合体)がイオン化与える影響について精査し、至適移動相を選択した。さらに、衝突誘起解離(CID)スペクトル測定条件が、これら抱合体種、官能基種がフラグメンテーション・パターンに及ぼす影響についても明らかにした。次いで、生体内 Δ^4 -3-オキソ不飽和胆汁酸多重抱合体の体内動態を把握するため、生体試料(尿、血清、胆汁など)からの至適な固相抽出条件、同時再現性、添加回収率、希釈直線性、共存物質の影響などを精査した。さらに、分析検体数を増やして疾病と Δ^4 -3-オキソ不飽和胆汁酸代謝異常成分との相関を明らかにし、各疾患に適切な診断指標化合物を特定した。以上のような一連のプロセスを経て、最終的な疾患の生体試料についてのプロフィール分析法を確立し、 Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症を強く示唆する確定化学診断法の開発を目指し、病態解析を行なった。

4. 研究成果

胆汁酸は、肝においてコレステロールより合成され、腸管において脂質の吸収促進などの役割を担う。胆汁酸の生合成や動態は種々の核内受容体により制御されているため、通常胆汁酸は、血中や尿中にはごくわずかにしか存在しない。しかしながら、各種代謝性疾患や胆汁鬱滞を伴う新生児疾患では、胆汁酸の生合成に関連する酵素の活性が低下するため、中間体が蓄積すると共に抱合型異常胆汁酸が尿中に多量に排泄されることが報告されている。このような背景から、尿中に増加する抱合型異常胆汁酸代謝産物のみを包括的に解析することができれば、当該疾患の早期診断に役立つ可能性があるものと考えた。

本研究では、生体内 Δ^4 -3-オキソ不飽和胆汁酸多重抱合体の体内動態を精査する目的で、標品合成と健常者、疾患者の尿中異常代謝異常成分を LC/ESI-MS/MS を駆使して精査した。その結果、特に Δ^4 -3-オキソステロイド-5 β -レダクターゼ欠損症の患者尿に特異的に出現するマーカー物質を数種特定することに成功した。本研究成果の纏めは、”Chem. Phys. Lipids”誌（印刷中）に報告した。

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 28 件）

- ① A.Muto, T.Iida, A.F.Hofmann, H.Nittono, Detection of Δ^4 -3-oxo-steroid 5 β -reductase deficiency by LC-ESI-MS/MS measurement of urinary bile acids, J. Chromatogr. B, 査読有、2012（印刷中）。
- ② H.Tamegai, S.Ogawa, H.Konishi, A.Takagi, T.Matsuzaki, T.Iida, Comparative Cytotoxic Activities of the Propanamide and Spiro- γ -lactone Derivatives of Δ^{14} -17 α - and 17 β -Estradiol Stereoisomers Against Human Cell Lines, Proc. Instit. Nat. Sci. Nihon Univ., 査読有、No.47、2012、497-501
- ③ M.Furukawa, N.Oikawa, T.Imohata, M.Makino, S.Ogawa, T.Iida, Y.Fujimoto, S.Kitanaka, Monoterpene Glucosides from *Ziziphora clinopodioides* (Labiatae), Chem. Pharm. Bull., 査読有、Vol.60、No.3、2012、397-401
- ④ K.Mitamura, N.Hori, S.Mino, T.Iida, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, Synthesis of 3-Sulfates of S-Acyl Glutathione Conjugated Bile Acids and their Biotransformation by a Rat Liver Cytosolic Fraction, Chem. Phys. Lipids, 査読有、Vol.165、No.1、2012、261-269
- ⑤ K.Mitamura, N.Hori, T.Iida, M.Suzuki, T.Shimizu, H.Nittono, K.Takaori, H.Takikawa, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, Identification of S-Acyl Glutathione Conjugates of Bile Acids in Human Bile by means of LC/ESI-MS、Steroids、査読有、Vol.76、No.12、2011、1609-1614
- ⑥ M.Furukawa, H.Suzuki, M.Makino, S.Ogawa, T.Iida, Y.Fujimoto, Studies on the Constituents of *Lagochilus leiocanthus* (Labiatae), Chem. Pharm. Bull., 査読有、Vol.59、No.12、2011、1535-1540
- ⑦ S.Ikegawa, K.Nagase, T.Mabuchi, R.Okihara, M.Hasegawa, T.Minematsu, T.Iida, K.Mitamura, Synthesis of 3- and 21-Monosulfates of [2,2,3 β ,4,4-²H₅]-Tetrahydrocorticosteroids in the 5 β -Series as Internal Standards for Mass Spectrometry, Steroids, 査読有、Vol.76、2011、1232-1240
- ⑧ L.R.Hagey, T.Iida, S.Ogawa, Y.Adachi, M.Une, K.Mushiake, M.Maekawa, M.Shimada, N.Mano, and A.F.Hofmann, Biliary Bile Acids in Birds of the Cotingidae Family: Taurine-Conjugated (24R,25R)-3 α ,7 α ,25-Trihydroxy-5 β -cholestan-27-oic Acid and Two epimers (25R and 25S) of 3 α ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholestan-27-oic Acid, Steroids, 査読有、Vol.76、2011、1126-1135
- ⑨ S.Ogawa, K.Mitamura, S.Ikegawa, M.D.Krasowski, L.R.Hagey, A.F.Hofmann, T.Iida, Chemical Synthesis of the (25R)- and (25S)-Epimers of 3 α ,7 α ,12 α -Trihydroxy-5 α -cholestan-27-oic Acid as well as Their Corresponding Glycine and Taurine Conjugates, Chem. Phys. Lipids, 査読有、Vol.164、2011、368-377
- ⑩ 池川繁男、堀直宏、三田村邦子、飯田隆、鈴木光幸、清水俊明、入戸野博、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、査読有、Vol.27、No.1、2011、23-27
- ⑪ 入戸野博、武藤晃奈、武井一、清水俊明、木村昭彦、窪田満、虹川大樹、依藤亨、清水泰岳、有馬透、村井毅、黒澤隆夫、藤間貞彦、飯田隆、PFIC 1型および2型における肝機能検査値と尿中胆汁酸分析、日本小児栄養消化器肝臓学会誌、査読有、vol.25、No.1、2011、6-12
- ⑫ K.Mitamura, E.Aoyama, T.Sakai, T.Iida, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, Characterization of Non-Enzymatic Acylation of Amino or Thiol Groups of Binucleophiles by the Acyl-Adenylate or Acyl-CoA Thioester of Cholic Acid, Anal. Bioanal. Chem., 査読有、Vol.400、2011、2253-2259
- ⑬ K.Mitamura, T.Sakai, R.Nakai,

- T.Wakamiya, T.Iida, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, 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 Ionization-Mass Spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, 査読有、Vol.400、2011、2061-2072
- ⑭ T.Iida, S.Ogawa, H.Tamegai, Y.Adachi, H.Saito, S.Ikegawa, H.Konishi, A.Takagi, T.Matsuzaki, Chemical Synthesis of the 17-Propanamide Derivatives of Stereoisomeric Δ^{14} -17 α - and 17 β -Estradiols: Potential 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Inhibitors, *Chem. Phys. Lipids*, 査読有、Vol.164、No.2、2011、106-112
- ⑮ K.Mitamura, N.Hori, T.Iida, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, Identification of Bile Acid S-Acyl Glutathione Conjugates in Rat Bile by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization-Linear Ion Trap Mass Spectrometry, *Steroids*, 査読有、Vol.76、No.1、2011、68-77
- ⑯ S.Takano, H.Tamegai, T.Itoh, S.Ogawa, H.Fujimori, S.Ogawa, T.Iida, Y.Wakatsuki, ROMP Polymer-Based Antimicrobial Films Repeatedly Chargeable with Silver Ions, *Reactive & Functional Polymers*, 査読有、Vol.71、2011、195-203
- ⑰ V.Megaraj, T.Iida, P.Jungsuwadee, A.F.Hofmann, M.Vore, Hepatobiliary Disposition of 3 α ,6 α ,7 α ,12 α -Tetrahydroxy-cholanoyl Taurine: A Substrate for Multiple Canalicular Transporters, *Drug Metab. & Dispos.*, 査読有、Vol.38、No.10、2010、1723-1730
- ⑱ S.Ogawa, Y.Adachi, G.Kakiyama, M.Shimada, N.Mano, J.Goto, T.Iida, Chemical Synthesis of (22*E*)-3 α ,6 α ,7 α ,12 α -Tetrahydroxy-5 β -chol-22-en-24-oic Acid and its *N*-Acylamidated Conjugates with Glycine or Taurine: Precursors of the [22,23-³H] Labelled Tracers, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有、Vol.58、No.8、2010、1103-1106
- ⑲ H.Horai, M.Arita, S.Kanaya, Y.Nihei, T.Ikeda, K.Suwa, Y.Ojima, K.Tanaka, S.Tanaka, K.Aoshima, Y.Oda, Y.Kakazu, M.Kusano, T.Tohge, F.Matsuda, Y.Sawada, H.Nakanishi, K.Ikeda, N.Akimoto, T.Maoka, H.Takahashi, T.Ara, H.Suzuki, D.Shibata, S.Neumann, T.Iida, K.Tanaka, K.Funatsu, F.Matsuura, T.Soga, R.Taguchi, K.Saito, T.Nishioka, MassBank: A Public Repository for Sharing Mass Spectral Data for Life Sciences, *J. Mass Spectrom.*, 査読有、Vol.45、2010、703-714
- ⑳ S.Ogawa, S.Takano, H.Fujimori, T.Itoh, S.Kaita, T.Iida, Y.Wakatsuki, Ring-Opening Metathesis Polymerization of Steroid-Conjugated Norbornenes and Gradual Release of Estrone from a Polymer Film, *Reactive & Functional Polymers*, 査読有、Vol.70、2010、563-571
- ㉑ L.R.Hagey, T.Iida, H.Tamegai, S.Ogawa, M.Une, K.Asahina, K.Mushiake, T.Goto, N.Mano, J.Goto, M.D.Krasowski, A.F.Hofmann, Major Biliary Bile Acids of the Medaka (*Oryzias latipes*): 24*R*- and 24*S*-Epimers of 3 α ,7 α ,12 α -Trihydroxy-5 β -cholestanic Acid, *Zool. Sci.*, 査読有、Vol.27、No.7、2010、565-573
- ㉒ R.Okihara, K.Mitamura, M.Hasegawa, M.Mori, A.Muto, G.Kakiyama, S.Ogawa, T.Iida, M.Shimada, N.Mano, S.Ikegawa, Potential Corticoid Metabolites: Chemical Synthesis of 3- and 21-Monosulfates and their Double-Conjugates of Tetrahydrocorticosteroids in the 5 α - and 5 β -Series, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有、Vol.58、No.3、2010、344-353
- ㉓ S.Ogawa, Y.Wakatsuki, M.Makino, Y.Fujimoto, K.Yasukawa, T.Kikuchi, M.Ukiya, T.Akihisa, T.Iida, Oxyfunctionalization of Unactivated C-H Bonds in Triterpenoids with *tert*-Butylhydroperoxide Catalyzed by Meso-5,10,15,20-tetramesitylporphyrinate Osmium(II) Carbonyl Complex, *Chem. Phys. Lipids*, 査読有、Vol.163、2010、165-171
- ㉔ S.Ikegawa, M.Hasegawa, R.Okihara, C.Shimizu, H.Chiba, T.Iida, K.Mitamura, Simultaneous Determination of Twelve Tetrahydrocorticosteroid Glucuronides in Human Urine by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization-Linear Ion Trap Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, 査読有、Vol.81、No.24、2009、10124-10135
- ㉕ K.Yasukawa, T.Iida, Y.Fujimoto, Relative Inhibitory Activity of Bile Acids Against 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate-Induced Inflammation, and Chenodeoxycholic Acid Inhibition of Tumour Promotion in Mouse Skin Two-Stage Carcinogenesis, *J. Pharm. Pharmacol.*, 査読有、Vol.61、2009、1051-1056
- ㉖ G.Kakiyama, A.Muto, M.Shimada, N.Mano, J.Goto, A.F.Hofmann, T.Iida, Chemical Synthesis of 3 β -Sulfoxy-7 β -hydroxy-24-nor-5-cholenic Acid: an Internal Standard for Mass Spectrometric Analysis of the Abnormal Δ^5 -Bile Acids in Niemann-Pick Disease, *Steroids*, 査読有、Vol.74、2009、766-772

⑳ L.R.Hagey, G.Kakiyama, A.Muto, T.Iida, K.Mushiake, T.Goto, N.Mano, J.Goto, G.A.Oliveira, A.F.Hofmann, A New, Major C₂₇ Biliary Bile Acid in the Red-Winged Tinamou (*Rhynchotus rufescens*: (24R)-1 β ,3 α ,7 α -Trihydroxy-5 β -cholestan-27-oic Acid, J. Lipid Res., 査読有、Vol.50、2009、651-657

㉑ S.Ogawa, G.Kakiyama, A.Muto, A.Hosoda, K.Mitamura, S.Ikegawa, A.F.Hofmann, T.Iida, A Facile Synthesis of C-24 and C-25 Oxysterols by *in situ* Generated Ethyl(trifluoromethyl)dioxirane, Steroids, 査読有、Vol.74、No.1、2009、81-87

【学会発表】(計 14 件)

① 池川繁男, 中島理陽, 小川祥二郎, 飯田隆, 三田村邦子, 同位体希釈 LC/ESI-MS に用いる多重重水素標識 allo-tetrahydrocorticosteroid 3- 及び 21-monosulfate の合成、日本薬学会 第 132 年会、2012 年 3 月 28-31 日、北海道大学

② 小川祥二郎, 飯田隆, 三田村邦子, 池川繁男, 宇根瑞穂, L.R.Hagey, A.F.Hofmann, 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 α ,7 α ,12 α ,24-tetrahydroxy-5 β -cholestan-27-oic acid, 日本薬学会 第 132 年会、2012 年 3 月 28-31 日、北海道大学

③ 武井一, 入戸野博, 飯田隆, 他 10 名, Δ^4 -3-Oxo-steroid 5 β -reductase 欠損症の新生児スクリーニングの検討、第 33 回胆汁酸研究会、2011 年 11 月 19 日、大阪ガーデンパレス

④ 宮崎照雄, 本多彰, 池上正, 飯田隆, 松崎靖司, 脂肪肝予防・治療薬としての FXR リガンドの可能性について、第 33 回胆汁酸研究会、2011 年 11 月 19 日、大阪ガーデンパレス

⑤ 小川祥二郎, 飯田隆, 加藤也実, 宇根瑞穂, L.R.Hagey, A.F.Hofmann, トカゲ垂目から新規胆汁酸の単離・構造決定: Tauro-(24R,25S)-3 α ,7 α ,12 α ,24-tetrahydroxy-5 β -cholestan-27-oic acid, 第 33 回胆汁酸研究会、2011 年 11 月 19 日、大阪ガーデンパレス

⑥ 前川 正充, 入戸野 博, 飯田隆, 他 8 名, タンデム質量分析法を利用した抱合型胆汁酸メタボローム解析法の検討、第 24 回バイオメディカル分析科学シンポジウム、2011 年 8 月 31 日-9 月 2 日、大山西イタルホテル A 会場

⑦ M.Maekawa, M.Mori, H.Suzuki, T.Iida, M.Shimada, N.Mano, LC/ESI-MS/MS method for focusing metabolome of bile acid conjugates, 59th Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, 2011 年 6 月

5-9 日、USA

⑧ K.Mitamura, E.Aoyama, T.Sakai, T.Iida, A.F.Hofmann, S.Ikegawa, 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 Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, 2011 年 6 月 5-9 日、USA

⑨ S.Ikegawa, T.Sakai, R.Nakai, T.Wakamiya, T.Iida, A.F.Hofmann, K.Mitamura, Liquid chromatography-mass spectrometric characterization of sulfation of *N*-acetylcysteine conjugated bile acids by a rat liver cytosolic fraction, 59th Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, 2011 年 6 月 5-9 日、USA

⑩ 小川祥二郎, 足立祐樹, 眞野成康, 後藤順一, 宇根瑞穂, L.R.Hagey, A.F.Hofmann, 飯田隆, ハゲガオカザリドリ (*Perissocephalus tricolor*) とハゲノドスズドリ (*Procnias nudicollis*) の胆汁成分に関する研究、日本薬学会 第 131 年会、2011 年 3 月 28-31 日、グランシップ、ツインメッセ静岡

⑪ 入戸野博, 飯田隆, 他 8 名, 胆道閉鎖症における肝機能検査値と尿中胆汁酸分画の日齢変化、第 20 回小児胆汁酸研究会、2011 年 2 月 12 日、山の上ホテル (東京)

⑫ 武藤晃奈, 武井一, 咩野篤, 入戸野博, 佐藤洋明, 村井毅, 黒澤隆夫, 藤間貞彦, 飯田隆, 新生児の胆嚢および腸管内胎便中の胆汁酸分析、第 20 回小児胆汁酸研究会、2011 年 2 月 12 日、山の上ホテル (東京)

⑬ 無井一, 武藤晃奈, 入戸野博, 咩野篤, 清水俊明, 飯田隆, 村井毅, 黒澤隆夫, 藤間貞彦, タンデムマスによる先天性胆汁酸代謝異常症スクリーニングの試み、第 20 回小児胆汁酸研究会、2011 年 2 月 12 日、山の上ホテル (東京)

⑭ 足立祐樹, 小川祥二郎, 飯田隆, 宇根瑞穂, 眞野成康, 後藤順一, L.R.Hagey, A.F.Hofmann, ハゲガオカザリドリ (*Perissocephalus tricolor*) とハゲノドスズドリ (*Procnias nudicollis*) の胆汁成分に関する研究、第 20 回小児胆汁酸研究会、2011 年 2 月 12 日、山の上ホテル (東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯田 隆 (IIDA TAKASHI)

日本大学・文理学部・教授

研究者番号: 60060125

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし