

機関番号：34419

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590164

研究課題名（和文）グルタチオン抱合型胆汁酸の生成と代謝機構に関する研究

研究課題名（英文）Studies on biosynthesis and metabolism of the glutathione conjugated bile acids

研究代表者

三田村 邦子 (MITAMURA KUNIKO)

近畿大学・薬学部・准教授

研究者番号：70242526

研究成果の概要（和文）：胆汁酸の代謝活性中間体を経るグルタチオン（GSH）抱合体の生成と代謝機構の解明を目的として、胆汁酸が *in vitro*、*in vivo* で GSH 並びに *N*-アセチルシステイン（NAC）との抱合を受けることを明らかにするとともに、ラット及びヒト胆汁中に GSH 抱合型胆汁酸が排出されていることを実証し、胆汁酸の新規代謝経路として提示した。また、NAC 抱合型ウルソデオキシコール酸が肝機能改善薬のプロドラッグとなる可能性を示す基礎的知見を得た。

研究成果の概要（英文）：In order to elucidate the mechanism on the formation and metabolism of glutathione (GSH) conjugated bile acids via their reactive intermediates, we demonstrated that bile acid were tansacylated with GSH and *N*-acetylcysteine (NAC) by *in vitro* and *in vivo* studies. In addition, we clarified that the several kinds of glutathione conjugated bile acids were excreted into the bile of rats and patients with biliary diseases. We also showed the NAC conjugated ursodeoxycholic acid could be a prodrug for hepatobiliary fuction improvement drug.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：臨床分析化学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：胆汁酸、グルタチオン、*N*-アセチルシステイン、エレクトロスプレーイオン化、質量分析法、胆汁、プロドラッグ、硫酸抱合

1. 研究開始当初の背景

古くより、胆汁うっ滞や各種消化器癌におけるタンパク質の発現異常や胆汁酸の代謝活性中間体によるタンパク質付加体の生成など、異常タンパク質の出現が肝胆道疾患と深く関わるのが指摘されてきた。中でも、最も脂溶性の高いモノヒドロキシ胆汁酸のリトコール酸（LCA）と肝組織内のタンパク

質や核ヒストンとが結合した付加体は、肝細胞壊死や免疫反応に基づくアレルギー発症の要因とみなされてきた。しかしながら、結合タンパク質の種類や構造に関しては明らかにされてこなかった。最近、池川らは LCA の代謝活性中間体であるアシルアデニレート (acyl-AMP) や尿中排泄型のエステル型グルクロニドがペプチドやタンパク質と共有

結合付加体を形成することを示すとともに、胆汁うっ滞モデルラットの肝細胞内にLCA修飾Rab関連タンパク質が存在することを実証し、これが肝疾患と深く関わることを示唆している。こうした低分子生理活性物質とタンパク質との付加体形成に関しては、分子内にカルボキシル基を持つ酸性薬物では広く知られており、生体内代謝によって生じた反応性代謝物がタンパク質付加体を形成し、肝毒性やアレルギー疾患の一因になるものと考えられている。その一方では、グルタチオン (GSH) 抱合体への変換が生体防御機構として明示されるとともに、各種代謝酵素によるN-アセチルシステイン (NAC) 抱合体への変換による尿中排泄機構の存在も知られる。しかしながら、これまでの胆汁酸研究は、タンパク質付加体のみ目が向けられ、解毒の要となるGSH抱合に関しては何ら検討が加えられてこなかった。

この種の問題を解決すべく我々は、本抱合体を追跡する上で標品の確保が不可欠となることから、初めにヒト主要胆汁酸5種のGSH抱合体を化学合成した。引き続き、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) による測定条件を設定するとともに、本法によってコール酸 (CA) のアシルアデニレート (CA-AMP) と CoA チオエステル (CA-CoA) いずれもがグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) の作用を受けて GSH 並びに NAC 抱合体へと変換されることを明らかにした。しかし、GSH 抱合体と NAC 抱合体の体内動態を明らかにするには至っておらず、胆汁酸のタンパク質付加体のみならず代謝活性中間体を経る GSH 抱合体の生成と代謝機構を解明することが、胆汁酸の毒性発現と解毒メカニズムを明らかにし、各種肝胆道疾患の新規診断法と治療法を開発する上で重要視されている。

2. 研究の目的

本研究は、これまでの我々の研究成果と実績を基に、胆汁酸のGSH抱合体への変換が新規代謝排泄機構としてのみならず、胆汁酸とタンパク質付加体形成による毒性発現を抑止する生体防御機構であるというニューコンセプトに立ち、新規代謝物であるGSH抱合体及び関連代謝物の消長をLC/ESI-MS[®]システムによって探索し、胆汁酸の解毒と毒性の発現メカニズムを統合的に解析しようというものである。

一方、臨床の間ではウルソデオキシコール酸 (UDCA) が、適応範囲の広い経口の肝機能改善薬として賞用されている。しかし、肝胆道疾患の術後には、UDCA の経口投与が困難なことが少なからず、臨床医からは注射剤の開発が強く求められてきた。そこで、胆汁酸 NAC

抱合体が水溶性に富み、生体内では多量に存在するエステラーゼの作用を受けて遊離型の胆汁酸に変換されるプロドラッグとしての可能性に着眼点を置き、本抱合体の体内動態を解明して、新規プロドラッグを開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 先に合成したヒト主要胆汁酸 5 種の GSH 抱合体に加え、ラットに特有とされる胆汁酸の GSH 抱合体、NAC 抱合型胆汁酸及びこれらの代謝物と推測される 3 位硫酸抱合体を有機化学的に合成した。引き続き、ESI-MS/MS における特徴的イオンの生成並びに LC における分離条件に検討を加え、信頼度の高い高感度測定法を設定した。

(2) *In vivo*でのGSH抱合を立証するために、胆管瘻ラットに肝機能改善薬として知られるUDCAと肝毒性の知られるLCAを投与し、経時的に採取した胆汁を固相抽出による前処理後、LC/ESI-MS分析に付し、代謝物を追跡した。さらには、ラット並びに各種肝胆道疾患患者より採取し酢酸で酸性にした胆汁を固相抽出後、LC/ESI-MS分析に付し、ラット並びにヒト胆汁中内因性GSH抱合型胆汁酸を精査した。

(3) CA-CoAとCA-AMPをそれぞれGSTの存在/非存在下、NACとインキュベートし、生成するCA-NACを固相抽出後、LC/ESI-MS/MS分析に付した。さらに胆管結紮術を施した胆汁うっ滞モデルラットにLCAを経口投与後、NACを腹腔内投与し、24時間後の尿中に排泄されるLCA-NACをLC/ESI-MSにより追跡した。

(4) GSH並びにNAC抱合型胆汁酸をPAPS存在下ラット肝サイトゾール画分とインキュベートし、硫酸抱合体とともに遊離型胆汁酸とそれらの3位硫酸抱合体をLC/ESI-MSにより追跡した。

(5) CA-CoAと重水素標識CA-AMPの1:1混合物をGSH、NAC、タウリン並びにグリシンとそれぞれ反応させ、生成する非標識並びに重水素標識抱合体をLC/ESI-MSによって経時的に追跡し、各代謝活性中間体とアミノ基、チオールとの反応性を吟味した。

(6) ラットにプロドラッグとして提唱したNAC抱合型UDCA (UDCA-NAC) の重水素標識体を頸静脈投与後、経時的に採血し、得られた血清中の未変化体、重水素標識UDCA及びそのグリシン並びにタウリン抱合体を追跡した。また、アセトアミノフェン誘発性肝障害モデルラットにUDCA-NACを腹腔内投与後、血中AST及びALT活性を経時的に追跡した。

4. 研究成果

(1) ラット及びヒト胆汁中GSH抱合型胆汁酸の探索

先に我々はCA-AMPとCA-CoAが*in vitro*

でCA-GSHに変換されることを報告している。そこで、UDCAとLCAを投与したラット胆汁中におけるこれらの代謝物を精査したところ、これらがGSH抱合体として排出されていることを明らかにした。このことは、胆汁酸が肝内で代謝活性化された後GSH抱合体を受けることを示すものである。そこで、げっ歯類に特有の7種の胆汁酸のGSH抱合体標品を有機化学的に合成し、これと先に合成したヒト主要胆汁酸5種のGSH抱合体標品を指標として、生理的条件下のラット胆汁中GSH抱合体胆汁酸を開発したLC/ESI-MSにより精査した。その結果、 β -ムリコール酸、CA、デオキシコール酸、LCA及び12-オキソLCAのGSH抱合体が胆汁中に排泄されていることが分かった。さらに、本法をヒト胆汁に適用し、先天性胆道拡張症患児と非症候性小葉間胆管減少症患児胆汁ではケノデオキシコール酸あるいはLCAがGSH抱合体として胆汁中に排出されていることを世界に先駆けて実証した。これらの結果は、胆汁酸とタンパク質付加体形成による毒性発現を抑止する生体防御機構としての新規代謝経路の存在を示唆するものである。さらに胆汁酸の主要代謝物であるグリシンやタウリン抱合体のみならずGSH抱合体胆汁酸の質的・量的変動と疾患との関連が明らかになれば、新規診断法あるいは本代謝反応に基づいた新規治療法の開発が期待される。

(2)胆汁酸のNAC抱合体に関する研究

薬物では生体内で生じたGSH抱合体がグルタミルトランスペプチダーゼ、ジペプチダーゼの作用を受けてNAC抱合体へと代謝されて尿中に排泄されるとされている。このため、解毒薬あるいは抗酸化機能を期待したサプリメントとしても用いられるNACを投与すると、GSHと同様に胆汁酸の代謝活性中間体と反応してNAC抱合体を生成すると推測される。そこでCA-CoAとCA-AMPを基質とする*in vitro*NAC抱合体に検討を加えたところ、CA-AMP、CA-CoAいずれもが非酵素的のみならずGSTの作用を受けてCA-NACに変換され、特にCA-CoAがNACと反応しやすいことが分かった。さらにLCAとNACを投与した胆汁うっ滞モデルラットの尿中にはLCA-NACが排泄されており、胆汁酸が生体内でNAC抱合体を受けることを実証した。その一方では、NAC抱合体胆汁酸が生体中のカルボキシエステラーゼにより加水分解されて非抱合体胆汁酸を遊離することも分かった。本結果は、NAC抱合体の水溶性と合わせて考慮すると、UDCA-NACが注射剤としても使用可能なUDCAのプロドラッグとなる可能性を示すものである。

(3)GSH並びにNAC抱合体胆汁酸の硫酸抱合
(1)、(2)に示したように、胆汁酸が肝内で代

謝活性化後GSH並びにNACとの抱合体へ変換される代謝経路の存在が明らかとなった。これら抱合体胆汁酸はいずれも3位に遊離の水酸基を持っており、胆汁酸の代謝反応を考慮すると硫酸抱合を受けることが推測される。そこで、標品として不可欠な3位硫酸抱合体を化学合成し、LC-MSによる高感度測定法を構築するとともに、GSH並びにNAC抱合体胆汁酸を基質とする*in vitro*硫酸抱合に検討を加えた。その結果、いずれの基質もラット肝サイトゾールによって硫酸抱合を受け、しかもステロイド核上水酸基の少ないものほど硫酸抱合を受けやすいことが分かった。しかし、カルボキシエステラーゼの作用によりチオエステル結合が速やかに加水分解を受け、大部分は遊離型胆汁酸とその3位硫酸抱合体に変換されており、生体ではGSH/NAC硫酸二重抱合体としては排泄されないことが推測された。

(4)胆汁酸代謝活性中間体の反応性

CAの代謝活性中間体であるCA-AMPとCA-CoAはいずれもグリシンやタウリンのアミノ基と反応するばかりかGSHやNACのチオール基とのアシル転移反応により抱合体へと変換される。そこでCA-CoAと重水素標識CA-AMPの1:1混合物を基質としてグリシン、タウリン、GSH、NACとの反応性をイオンクラスター法により精査したところ、前者はGSHやNACとのチオール基、一方、後者はグリシンやタウリンのアミノ基との反応性に富むことを明らかにした。

これらの結果はGSH抱合体胆汁酸の代謝と生成機構を解明する上で有用な知見となる。

(5)UDCA-NACのプロドラッグとして開発研究

重水素標識UDCA-NACをラットに静脈内投与したところ、UDCA-NACが体内で速やかに加水分解を受けて消失し、UDCAを遊離してグリシン及びタウリン抱合体に変換されていた。さらに、アセトアミノフェン誘発性肝障害モデルラットにおける肝障害マーカー酵素の変動に検討を加え、UDCA-NACがマーカー酵素の上昇を有意に抑制することを明らかにした。今回得られた知見はUDCA-NACが肝機能改善薬として有用なことを示すものであり、UDCA-NACを注射剤として開発してゆく上での重要な礎になるものと思われる。

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14件)

1. 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
2. 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
 3. Higashi T, Shibayama Y, Ichikawa T, Ito K, Toyooka 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
 4. 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 α - and 5 β -series, *Chem. Pharm. Bull.*, **58**, 344-353 (2010). 査読有
 5. 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
 6. 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
 7. 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
 8. 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
 9. 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
 10. 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
 11. 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(trifluoromethyl)dioxirane, *Steroids*, **74**, 81-87 (2009). 査読有
 12. Ikegawa S, Yamamoto T, Miyashita T, Okihara R, Ishiwata S, Sakai T, Chong R-H., Maeda M, Hofmann AF, Mitamura K: Production and characterization of monoclonal antibody for capture of proteins tagged with lithocholic acid, *Anal. Sci.*, **24**, 1475-1480 (2008). 査読有
 13. Ikegawa S, Yamamoto T, Ito H, Ishiwata S, Sakai T, Mitamura K, Maeda M: Immunoprecipitation and MALDI-MS identification of lithocholic acid-tagged proteins in liver of bile duct-ligated rats, *J. Lipid Res.*, **49**, 2463-2473 (2008). 査読有
 14. 布田博敏, 三田村邦子, 池川繁男: コレステロール硫酸転位酵素とコレステロール代謝, *臨床化学*, **37**, 148-160 (2008). (査読有)
- [学会発表] (計 49 件)
1. 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).
 2. 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)
 3. 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)
 4. 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)
 5. 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)
 6. Iida T: Chemical synthesis of the (25 R)- and

- (25*S*)-epimers of 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 α -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)
7. Mitamura K: Simultaneous determination of tetrahydrocorticosteroid glucuronides by liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry. The 12th Asian-Pacific Congress of Clinical Biochemistry (シンポジウム) (2010. 10.3-7, Seoul, Korea)
 8. 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)
 9. 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会 (2010.9.9-10, 名古屋)
 10. 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)
 11. 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)
 12. Ikegawa S: Mass Spectrometric Techniques Applied to the Study of Conjugated Bile Acids, Steroids, and Oxysterols. Research Seminar at Virginia Commonwealth University, Medical College of Virginia Campus (招待講演). (2010.5.27, Richmond, USA)
 13. Mitamura K: Quantitative metabolic profiling of twelve tetrahydrocorticosteroid glucuronides 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)
 14. 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)
 15. 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)
 16. 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)
 17. 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)
 18. 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)
 19. 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キング. 第 19 回日本小児胆汁酸研究会 (2010.2.20, 東京)
 20. 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)
 21. 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)
 22. 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)
 23. 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)
 24. Ikegawa S: Identification of glutathione conjugates of bile acids in rat bile by LC/ESI-MS². 日本薬物動態学会第 24 回年会 (2009.11.27-29, 京都)
 25. 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-MSⁿ 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)
 26. 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)
 27. 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)
 28. 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)
 29. 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 回日本医用マスペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)
 30. 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回日本医用マスペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)
31. 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回日本医用マスペクトル学会年会 (2009.9.10-11, 大阪)
32. 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)
33. 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)
34. 三田村邦子: LC/MSによる臨床化学へのアプローチ. 日本薬学会第129年会(シンポジウム) (2009.3.26-28, 京都)
35. 三田村邦子: LC/MSによる硫酸抱合型オキシステロールの高感度定量法の開発. 日本薬学会第129年会 (2009.3.26-28, 京都)
36. 沖原梨香: A/B-trans 構造を有する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 における挙動. 日本薬学会第129年会 (2009.3.26-28, 京都)
37. 堺俊博: LC/ESI-MS/MS によるラット胆汁中グルタチオン抱合型胆汁酸の解析. フィジカル・ファーマフォーラム 2009 (2009.3.24-25, 大阪)
38. 堺俊博: ラット胆汁中アミノ酸並びにグルタチオン抱合型胆汁酸の解析. 第18回日本小児胆汁酸研究会 (2009.2.21, 東京)
39. 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基礎的検討. 第19回日本臨床化学会近畿支部総会 (2009.1.24, 大阪)
40. Ikegawa S: A new insight in the formation of *N*-acetylcysteine conjugates of bile acids. 日本薬物動態学会第23回年会 (2008.10.30-11.1, 熊本)
41. 三田村邦子: 胆汁酸の *N*-アセチルシステイン抱合に関する基礎的研究. 第30回胆汁酸研究会 (2008.10.18, 広島)
42. 柿山玄太: In situ 発生ジオキシランを用いるコレスタン側鎖 C-25 位の直接水酸化とオキシステロール類の単段階合成. 第30回胆汁酸研究会 (2008.10.18, 広島)
43. 三田村邦子: LC/MSによる胆汁酸のグルタチオン抱合に関する研究. 第33回日本医用マスペクトル学会年会 (奨励賞受賞講演) (2008.9.25-26, 東京)
44. 堺俊博: *N*-アセチルシステイン抱合型胆汁酸 3-サルフェートの負イオン検出エレクトロスプレーイオン化-タンデムマスペクトロメトリーにおける挙動. 第33回日本医用マスペクトル学会年会 (2008.9.25-26, 東京)
45. 三田村邦子: 液体クロマトグラフィー/質量分析法による内分泌代謝疾患の科学的診断へのアプローチ. 第48回日本臨床化学会年次学術集会 (学術賞受賞講演) (2008.8.29-31, 浜松)
46. 沖原梨香: LC/ESI-MSⁿによる尿中硫酸抱合型テトラヒドロコルチコステロイドの直接一斉分析. 第48回日本臨床化学会年次学術集会 (2008.8.29-31, 浜松)
47. 三田村邦子: LC/MSによる胆汁酸の体内動態解析に基づくプロドラッグの開発. 第21回バイオメディカル分析科学シンポジウム (2008.8.6-8, 札幌)
48. Mitamura K: Mechanistic studies on the formation of acyl glutathione conjugate of bile acid in rat liver and its biliary excretion. Falk Symposium 165. XX International Bile Acid Meeting, Bile Acid Biology and Therapeutic Actions (2008.6.13-14, Amsterdam, The Netherlands)
49. Ikegawa S: Analysis of lithocholic acid-tagged proteins in the rat liver by using immunoaffinity capture and MALDI-TOF. Falk Symposium 165. XX International Bile Acid Meeting, Bile Acid Biology and Therapeutic Actions (2008.6.13-14, Amsterdam, The Netherlands)

[図書] (計2件)

1. 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.
2. 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

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

(2) 研究分担者

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