

D. 考察

本研究では、1, 2-ジクロロプロパンをモデル化合物として、胆管がん発症機構の解明と関連バイオマーカーの探索に関する検討を行った。1, 2-ジクロロプロパンへの大量曝露とヒトにおける胆管がん発症とを結びつける分子機構として、有力な発がん性候補物質であるグルタチオン抱合ジクロロプロパンおよびその胆汁排泄に関わる分子: ABCC2を見出すことができた。さらに、1, 2-ジクロロプロパン投与時に変動する血中成分を複数見出すことに成功した。

1. 1, 2-ジクロロプロパンの変異原性

マウスに対する1, 2-ジクロロプロパンの強制経口投与が、肝細胞腺腫ならびに肝細胞がん発生率の有意な増加を招いたことが報告されている。(National Toxicology Program Technical Report Series No.263, 1986)。また、1, 2-ジクロロプロパンへの吸引曝露がラットにおける鼻腔がんリスクの増加および鼻腔内上皮の過形成をもたらしたことも近年見出された (Inha

l Toxicol. 2010)。以上の報告は、体内に取り込まれた1, 2-ジクロロプロパンが発がん原因となることを示している。

1, 2-ジクロロプロパンが変異原性をもたらす機構については、グルタチオン抱合ジクロロプロパン代謝物のうち、特に塩素原子を含む構造体がエピスルホニウムイオン状態となり核酸と結合することでDNA損傷をもたらす可能性が考えられる。そのため、我々は塩素原子を含む中間代謝物である化合物No.12が有力な発がん性候補物質であると考え、本研究においても特に着目した。実際、1, 2-ジクロロプロパンの構造類自体である1, 2-ジブロモエタンや1, 2-ジクロロエタン、1, 2-ジブロモ-3-クロロプロパンに関する代謝経路の研究から、これらのハロゲン化炭化水素がグルタチオン抱合を受け、一連の代謝過程で変異原性を示す中間代謝物が生じることが報告されている (Chem. Res. Toxicol. 2008)。この中間代謝物はいずれもエピスルホニウムイオン型であり、グアニン付加体を形成する。

本研究におけるPXBマウスを用いた検討から、化合物No.12がヒトにおいても生成し、胆汁排泄されることが強く示唆された。これまでの検討で、発がん性を直接確認できたわけではものの、網羅的代謝物解析によって見出された当該物質が極めて有力な発がん性候補物質であることは間違いない。今後は、当該物質が有する変異原性の評価、病変部位への蓄積の是非を臨床検体もしくは被験物質投与動物にて検証することが重要となるであろう。

2. 1, 2-ジクロロプロパン代謝経路の推定

本研究にて得られた結果から推定される1, 2-ジクロロプロパンの代謝経路を添付試料1-3にまとめた。過去に実施された1, 2-ジブromoプロパン投与ラットの尿中成分分析の結果、2-hydroxypropylglutathione, 2-oxopropylglutathione, *N*-acetyl-*S*-(2-hydroxypropyl)-*L*-cysteineが、被験物質に由来する代謝物として同定されている (*Xenobiotica*, 2005)。1, 2-ジブromoプロパンは1, 2-ジクロロプロパンの塩素原子が臭素

原子に置換されたハロゲン化炭化水素である。そのため、両社の完全な脱ハロゲン化代謝物構造には共通性があると考えられた。実際、*N*-acetyl-*S*-(2-hydroxypropyl)-*L*-cysteineは、1, 2-ジクロロプロパン投与ラットの尿中代謝成分として同定されている (*Xenobiotica*, 1980)。そこで、各物質の精密質量および論文に公開されているMS/MSフラグメントパターンと本研究で得られた分析結果とを比較したところ、化合物No.8が2-hydroxypropylglutathione、化合物No.7が2-oxopropylglutathione、化合物No.10が*N*-acetyl-*S*-(2-hydroxypropyl)-*L*-cysteineに対応する可能性がきわめて高いと判断された。

次に、我々は*N*-acetyl-*S*-(2-hydroxypropyl)-*L*-cysteineがメルカプツール酸であることに着目し、その生成に至る中間体が存在すると考えた。一般的に、酵素依存的な代謝として、グルタチオン抱合された代謝物はグルタミン酸残基がとれたシステイニルグリシン抱合物となり、さらにグリシン残基がとれたシステイン抱合物を経て、アセチル化されることでアセチルシステイン抱合物（メルカプツール酸）とな

ることが知られている。このことを踏まえ構造解析を行った結果、化合物No.6がシステニルグリシン抱合物に、化合物No.1がシステイン抱合物にそれぞれ対応すると推定された。

また、化合物No.4のMS/MS分析結果は、この物質がS-O結合を有することを示していた。化合物No.4が生じる反応については不明な点が多いものの、グルタチオン骨格を有する代謝物が存在すると考え、No.4を与える物質として化合物No.9およびNo.2の推定構造を決定した。異なる代謝経路が予想されたことは、出発物質である1, 2-ジクロロプロパンに複数の反応作用点があることを示唆している。酸化状態などによって生成物が異なるのかもしれない。

化合物No.12は、本研究で見出された1, 2-ジクロロプロパン代謝物の中で、唯一塩素原子を有する物質であった。1, 2-ジクロロプロパンの構造から、塩素原子を含む代謝物が存在する可能性が議論されていたものの、その実体は同定されていなかった。我々は、胆汁成分の網羅的メタボローム解析を行うことで、そのような物質を今回初

めて見出すことに成功した。なお、過去に行われた1, 2-ジクロロプロパンの体内動態に関する検討は、尿中に含まれる特定の予想代謝物を標的とした分析であったため (*Xenobiotica*, 1980; *Toxicology*, 1991)、塩素付加体を同定することができなかったと考えられる。化合物No.12における塩素原子の結合位置をMS/MS情報だけに基き決定することは困難であった。そこで、化合物No.12に含まれる塩素原子が、親化合物に2つ含まれる塩素原子のどちらに由来するかを検討することを目的として、2-ブromo-1-クロロプロパンを用いた検討を行った。1, 2-ジクロロプロパンが*in vitro*にてGSHと反応することを利用して、2-ブromo-1-クロロプロパンも同様に反応させ、生成物を分析した。その結果、化合物No.12の塩素原子が臭素原子に置換した組成式に対応する化合物No.12'が得られた (添付資料14)。不飽和度も同じであったことから、化合物No.12における塩素原子は、1, 2-ジクロロプロパンの2位の炭素に結合する塩素に由来するものと推定した。

本研究における*in vivo*検討にて見出された1, 2-ジクロロプロパン代謝物のうち、完全なグルタチオン骨格を有すると推定された化合物のほとんどは*in vitro*反応系においても得られた。細胞内グルタチオン濃度は1~10 mM程度であり、血中グルタチオン濃度はその1/100程度であるといわれている。6 mMグルタチオン存在下で1, 2-ジクロロプロパンのグルタチオン抱合が進行したことを踏まえると、少なくとも細胞内において、この反応が自発的な非酵素反応として進行しうると考えられる。このことは、これらの代謝物の生成において、グルタチオン転移酵素 (GST) が必ずしも必要ではないことを示している。このことが正しいのであれば、血中から胆管上皮細胞に移行した1, 2-ジクロロプロパンが特定のGSTによる代謝を受けて発がん原因となるのではなく、胆汁中に濃縮された発がん性代謝物が胆管上皮細胞に作用することで胆管がんの原因となると考えられる。ヒトをはじめとする哺乳類に多数存在するGST分子種が、1, 2-ジクロロプロパンのグルタチオン抱合にどのような影響を与えるか

については明確な知見が得られていないため、今後の検討が期待される。

3. グルタチオン抱合ジクロロプロパンは肝臓で生成し、胆汁排泄される

グルタチオン骨格を有する各1, 2-ジクロロプロパン代謝物の血中レベルと胆汁中レベルを比較した結果、胆汁中レベルが極めて高いことが明らかとなった(添付資料15)。ABCC2機能を欠損しているEHBRにおいて各代謝物の胆汁中レベルが低下すること、少なくとも化合物No.12およびNo.7がABCC2によって直接輸送されることを合わせて考えると、各グルタチオン抱合ジクロロプロパン代謝物が肝臓で生じた後に、胆汁排泄されていることは間違いないだろう。

2-ジクロロプロパンが体内に蓄積することで、マウスでは肝臓がん、ヒトでは胆管がんのリスクが増大する原因としては、発がん性候補物質の生成ならびに胆汁排泄量に関する種差が考えられる。Bergerらによると、ヒト、マウス、ラットの肝臓中グルタチオンレベルは、それぞれ 28.3 ± 0.5 , $56.9 \pm$

0.8, 42.6 ± 1.6 nmol/mg proteinであり、げっ歯類の方がヒトよりも肝臓中グルタチオンレベルが高いことが報告されている (*Cancer Res*, 1994)。このことは、大量の1, 2-ジクロロプロパンに曝露した際、げっ歯類において、ヒトよりも多くのグルタチオン抱合体が生じる可能性を示唆している。一方、ABCC2の代表的なグルタチオン抱合体型基質である2,4-dinitrophenyl-S-glutathione (DNP-SG) を用いた検討の結果、ABCC2の輸送活性について種差が存在することが知られている (*J Pharmacol Exp Ther*, 1999)。このことは、発がん性候補物質を含む各グルタチオン抱合体ジクロロプロパン代謝物の胆汁排泄量に、ABCC2の機能や存在量に応じた種差が存在する可能性を示している。以上の点を包括的に理解し、発がん性候補物質の胆汁移行量を定量的に議論することが、種差を克服し、ヒトにおける胆管がん発がんリスクを評価する上で重要となるだろう。

4. 反応性代謝物の胆汁排泄が胆管がんリスクに与える可能性

本研究は、ほとんど解明されていない胆管がん発がん機序に関して、胆汁を介した発がん性物質への曝露が重要であるという新たな着眼点を提案するものである。この考えが正しければ、胆汁排泄される生体外異物およびその代謝物だけでなく、食生活や職住環境に応じた胆汁成分の変動が、胆管がんリスクに影響を与えることは想像に難くない。肝臓から胆汁排泄される物質は、胆汁中に濃縮される傾向があるため、肝臓内では曝露に対する許容範囲の濃度でしか存在しないとしても、胆汁中ではより高濃度となり毒性を示す可能性が考えられる。加えて、ヒトには胆嚢が存在するため、胆汁が蓄積されることで、結果として胆管上皮細胞が長期間の曝露にさらされることもあるかもしれない。

胆管がんは難治性のがんであるため、その予防や治療法の確立に向けた国民的関心は高い。今後の研究の進展によって、より詳細な分子機構や胆管上皮細胞における創薬標的分子、関連バイオマーカーなどが見出されることが期待される。

E. 結論

本研究では、国民的関心を集めた職業性胆管がん問題の原因物質として強く疑われたハロゲン化炭化水素（1, 2-ジクロロプロパン）をモデル化合物に据え、胆管がん発症機構の解明と関連バイオマーカーの探索検討を行った。「肝臓での代謝、胆管側膜輸送体を介した胆汁排泄が当該発がん機構において重要である」との仮説の下、各種分泌液の網羅的成分分析ならびに遺伝子改変動物やヒト化肝臓マウスを用いた実験を行った。

その結果、胆汁排泄される発がん性候補物質の主要な動態規定因子として胆管側膜輸送体である ABCC2 を見出すことに成功した（添付資料 16）。また、発がん性候補物質として着目してきたグルタチオン抱合体が、1, 2-ジクロロプロパンに曝露した健常人においても胆汁排泄される可能性を強く見出すことができた。これらの知見をもとに、数理的薬物動態解析を応用することで、ヒトでの発がん性候補物質の胆汁排泄量を予測、発がんリスクが外挿可能になると期待している。こ

のように、試験化合物の体内動態に着目した胆管がんリスク評価基盤の構築につながる結果を得ることができた。加えて、被験物質投与時に変動する血中成分（バイオマーカー候補物質）を複数同定することにも成功した。その中には、グルタチオン抱合ジクロロプロパン代謝物以外にも、今回の検討で新たに見出された物質が含まれている。このような物質については、平成 27 年度以降の研究において、引き続き検討を重ねていく予定である。

なお、本研究にて構築した一連の評価系は様々な化合物に応用することが可能である。曝露リスクが高くも安全性が未確認である工業用化学物質を対象としたリスク評価を行うことで、有害性評価の観点から化学物質による職業性疾病の予防に貢献できるものと期待される。

以上の知見は、ハロゲン化炭化水素への大量曝露と職業性胆管がんの発症とを結びつける新たな知見として重要である。本研究が発展することで、一般的な胆管がん発症機序や新たな創薬標的分子、関連バイオマーカーの同定につながることを期待される。

F. 健康危険情報

該当ありません。

G. 研究発表

以下には 2014 年度に出版された論文のリスト、および 2014 年度に行った学会発表のリストを示す。

<論文発表>

【欧文】

1. **Takada T***#, Yamanashi Y*, Konishi K*, Yamamoto T, **Toyoda Y**, Masuo Y, Yamamoto H, Suzuki H#. (*: Equally contributed) NPC1L1 is a key regulator of intestinal vitamin K absorption and a modulator of warfarin therapy. *Science Transl Med.* 2015 Feb 18;7(275):275ra23.
(*Science Translational Medicine* は、2009 年 10 月に創刊された米国科学誌 *Science* の医学系姉妹誌です。)(本論文は東京大学よりプレスリリースされ、日本経済新聞などで取り上げられました。)
2. Ito N, Ito K, Ikebuchi Y, **Toyoda Y**, **Takada T**, Hisaka A, Oka A, Suzuki H. Prediction of drug transfer into milk considering breast cancer resistance protein (BCRP)-mediated

- transport. *Pharm Res.* 2015 Feb 19. [Epub ahead of print]
3. Matsuo H, Yamamoto K, Nakaoka H, Nakayama A, Sakiyama M, Chiba T, Takahashi A, Nakamura T, Nakashima H, Takada Y, Danjoh I, Shimizu S, Abe J, Kawamura Y, Terashige S, Ogata H, Tatsukawa S, Yin G, Okada R, Morita E, Naito M, Tokumasu A, Onoue H, Iwaya K, Ito T, **Takada T**, Inoue K, Kato Y, Nakamura Y, Sakurai Y, Suzuki H, Kanai Y, Hosoya T, Hamajima N, Inoue I, Kubo M, Ichida K, Ooyama H, Shimizu T, Shinomiya N. Genome-wide association study of clinically defined gout identifies multiple risk loci and its association with clinical subtypes. *Ann Rheum Dis.* 2015 Feb 2. [Epub ahead of print]
 4. Chiba T, Matsuo H, Kawamura Y, Nagamori S, Nishiyama T, Wei L, Nakayama A, Nakamura T, Sakiyama M, **Takada T**, Taketani Y, Suma S, Naito M, Oda T, Kumagai H, Moriyama Y, Ichida K, Shimizu T, Kanai Y, Shinomiya N. NPT1/SLC17A1 Is a Renal Urate Exporter in Humans and Its Common Gain-of-function Variant Decreases the Risk of Renal Underexcretion Gout. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Jan;67(1):281-7.
 5. Satake K, **Toyoda Y**, Nakagawa H. Drugs affecting epigenetic modifications of ABC transporters for drug resistance. in; Thomas Efferth (Ed.) *Resistance to Targeted ABC Transporters in Cancer.* Springer Inc. 273-297, 2015.
 6. Sakiyama M, Matsuo H, Takada Y, Nakamura T, Nakayama A, **Takada T**, Kitajiri SI, Wakai K, Suzuki H, Shinomiya N. Ethnic Differences in ATP-binding Cassette Transporter, Sub-Family G, Member 2 (ABCG2/BCRP): Genotype Combinations and Estimated Functions. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014 Dec 25;29(6):490-2.
 7. Ito N, Ito K, Ikebuchi Y, Kito T,

- Miyata H, **Toyoda Y**, **Takada T**, Hisaka A, Honma M, Oka A, Kusuhara H, Suzuki H. Organic Cation Transporter/Solute Carrier Family 22a is Involved in Drug Transfer into Milk in Mice. *J Pharm Sci*. 2014 Oct;103(10):3342-8.
8. **Takada T**#, Ichida K, Matsuo H, Nakayama A, Murakami K, Yamanashi Y, Kasuga H, Shinomiya N, Suzuki H. ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2014;33(4-6):275-81.
9. Matsuo H, **Takada T**, Nakayama A, Shimizu T, Sakiyama M, Shimizu S, Chiba T, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Sakurai Y, Hosoya T, Shinomiya N, Ichida K. ABCG2 dysfunction increases the risk of renal overload hyperuricemia. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2014;33(4-6):266-74.
10. Nakayama A, Matsuo H, Nakaoka H, Nakamura T, Nakashima H, Takada Y, Oikawa Y, **Takada T**, Sakiyama M, Shimizu S, Kawamura Y, Chiba T, Abe J, Wakai K, Kawai S, Okada R, Tamura T, Shichijo Y, Akashi A, Suzuki H, Hosoya T, Sakurai Y, Ichida K, Shinomiya N. Common dysfunctional variants of ABCG2 have stronger impact on hyperuricemia progression than typical environmental risk factors. *Sci Rep*. 2014 Jun 9;4:5227. (Scientific Reports は、2011 年 6 月に創刊された、英国ネイチャー・パブリッシング・グループが発行する学際的電子ジャーナルです。) (本論文は防衛医大よりプレスリリースされ、日本経済新聞などで取り上げられました。)
11. Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Nakashima H, Nakayama A, Chiba T, Naito M, **Takada T**, Suzuki H, Hamajima N, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. A Common Variant of Organic Anion Transporter 4 (OAT4/SLC22A11) Gene Is Associated with Renal Underexcretion Type Gout. *Drug*

Metab Pharmacokinet. 2014 Apr
25;29(2):208-10.

【総説・著書等】

12. 豊田 優. 職業性胆管癌の原因解明と予防を目指して. **第135年会講演ハイライト** (日本薬学会) 2015年3月6日 p.36. (本ハイライトは日本薬学会のアクティビティを社会に発信するために、学会開催前に注目の演題を選出し、報道機関向け広報資料として作成されるものです。日本薬学会第135年会の医療薬科学分野において、発表演題が選出されました(107件中2件)。)
13. 松尾洋孝、高田龍平. トランスポーターおよびその薬物との関連について述べよ **カラーイラストで学ぶ 集中講義 薬理学 改訂2版** (メジカルビュー社) 2015年2月20日 pp.16-7.
14. 高田龍平、山梨義英、鈴木洋史. コレステロールトランスポーター NPC1L1 と脂溶性ビタミン輸送. **臨床薬理** (三原医学社) 2015年1月31日 46(1), pp.39-41.
15. 高田龍平. ビタミン K 輸送膜蛋白質. **ビタミンKと疾患 -基礎の理解と臨床への応用-** (医薬ジャーナル社) 2014年11月20日 pp.137-42.
16. 瀧 慎太郎, 豊田 優. はじめに. 飯島 玲生, 瀧 慎太郎, 豊田 優, 藤原 慶 編. 稲垣 賢二 監修. 『**これだけ! 生化学**』(株式会社秀和システム) 2014年12月3日 p.3.
17. 香川 璃奈, 豊田 優. 第5章 エネルギー代謝. 飯島 玲生, 瀧 慎太郎, 豊田 優, 藤原 慶 編. 稲垣 賢二 監修. 『**これだけ! 生化学**』(株式会社秀和システム)2014年12月3日 pp.123-44.
18. 一条 美和子, 宇田川 侑子, 定家 和佳子, 豊田 優. 第2章 遺伝子工学. 片桐 友二 編 . 石浦 章一 監修. 『**高校生からのバイオ科学の最前線**』 (株式会社日本評論社)2014年8月22日 pp.48-84.

<学会発表>

【国際学会発表】

19. Blanka Stiburkova, Jakub Závada, Michal Tomčík, Hiroshi Miyata, Yu Toyoda, Tappei Takada, Hiroshi Suzuki Novel dysfunctional variant in ABCG2 is a cause of primary hyperuricemia and gout: biochemical, molecular genetic and functional analysis. *35th European Workshop for Rheumatology Research*, Budapest, Hungary 2015年3月5日～7日 ポスター発表.

20. Tappei Takada, Yoshihide Yamanashi, Yu Toyoda, Hiroshi Miyata, Yusuke Tanaka, Hiroshi Suzuki, Dysfunction of BCRP/ABCG2 increases serum uric acid level by decreased intestinal urate excretion, *19th North American ISSX meeting/29th JSSX meeting*, San Francisco, CA, USA 2014年10月19日～23日 ポスター発表.

21. Akiyoshi Nakayama, Hirotaka Matsuo, Kimiyoshi Ichida, Tappei

Takada, Hiroshi Nakashima, Takahiro Nakamura, Yuzo Takada, Seiko Shimizu, Masayuki Sakiyama, Nobuyuki Hamajima, Yutaka Sakurai, Toru Shimizu, Nariyoshi Shinomiya, A major risk of early-onset gout: ABCG2 dysfunction in a Japanese male population, *The 20th IEA World Congress of Epidemiology*, Anchorage, AK, USA 2014年8月17日～21日 ポスター発表.

22. Tappei Takada, Kimiyoshi Ichida, Hirotaka Matsuo, Akiyoshi Nakayama, Hiroshi Suzuki. Dysfunction of a urate exporter ABCG2 increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion, *5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress (FIP PSWC 2014)*, Melbourne, Australia 2014年4月13日～16日 ポスター発表.

【国内学会発表】

23. 小川真奈、山梨義英、高田龍平、阿部啓子、小林彰子. フラボノイドがコレステロール腸管吸収トラ

- ンスポーター発現に与える影響, Effect of flavonoids on the expression of intestinal cholesterol transporters, *日本農芸化学会 2015 年度大会* 岡山 2015 年 3 月 26 日~29 日 一般演題.
24. 豊田優、高田龍平、鈴木洋史. 有機溶剤成分に起因する胆管癌リスクの検討, *日本薬学会第 135 年会* 神戸 2015 年 3 月 25 日~28 日 ポスター発表 (ハイライト演題に選出)
25. 北林大侑、牧野利明、高沢克子、高田龍平、鈴木洋史、松尾洋孝、四ノ宮成祥. ゴシユコ含有成分 evodiamine の尿酸排出トランスポーター ABCG2 への作用, *日本薬学会第 135 年会* 神戸 2015 年 3 月 25 日~28 日 ポスター発表.
26. 佐竹一紘、塚本めぐみ、三宅美月、豊田優、石川智久、中川大. ヒト ABCB1 の基質認識機構に重要なアミノ酸残基の推定, *日本薬学会第 135 年会* 神戸 2015 年 3 月 25 日~28 日 ポスター発表.
27. 高田龍平. トランスポーターによる生活習慣病関連物質輸送と薬物治療, *トランスレーショナルリサーチセミナー* 所沢 2015 年 2 月 26 日 (招待講演)
28. 大山恵子、諸見里仁、大山博司、松尾洋孝、崎山真幸、高田龍平、市田公美、藤森新. ABCG2 トランスポーターの機能低下は末期腎不全のリスク因子, *第 48 回日本痛風・核酸代謝学会総会* 東京 2015 年 2 月 19 日~20 日 口頭発表.
29. 松尾洋孝、中山昌喜、崎山真幸、千葉俊周、高田雄三、清水聖子、高田龍平、横尾隆、細谷龍男、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥. ABCG2 機能低下は尿酸の腎排泄及び腎外排泄の低下により高尿酸血症を引き起こす, *第 48 回日本痛風・核酸代謝学会総会* 東京 2015 年 2 月 19 日~20 日 口頭発表.
30. 中山昌喜、松尾洋孝、高田雄三、高田龍平、崎山真幸、清水聖子、千葉俊周、細谷龍男、市田公美、四ノ宮成祥. 高尿酸血症の発症

- における生活習慣と ABCG2 遺伝子の影響力の比較, **第 48 回日本痛風・核酸代謝学会総会** 東京 2015 年 2 月 19 日~20 日 口頭発表.
31. 千葉俊周、松尾洋孝、河村優輔、中山昌喜、崎山真幸、高田龍平、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥. 腎尿酸排泄輸送体遺伝子 NPT1SLC17A1 の機能獲得型変異は痛風発症に保護的に働く, **第 48 回日本痛風・核酸代謝学会総会** 東京 2015 年 2 月 19 日~20 日 口頭発表.
32. 高田龍平. 脂溶性ビタミン吸収と薬物, **第 18 回日本病態栄養学会年次学術集会** 京都 2015 年 1 月 10 日~11 日 (招待講演)
33. 高田龍平、山梨義英、鈴木洋史. 脂溶性ビタミン吸収とコレステロールトランスポーター NPC1L1, **第 26 回ビタミン E 研究会** 東京 2015 年 1 月 9 日~10 日 口頭発表.
34. 高田龍平、山梨義英、鈴木洋史. コレステロールトランスポーター NPC1L1 と脂溶性ビタミン吸収, **第 35 回日本臨床薬理学会学術総会** 松山 2014 年 12 月 4 日~6 日 シンポジウム講演.
35. 高田龍平. トランスポーターによる生活習慣病関連物質の動態制御, **大学-医療連携講演会** 神戸 2014 年 12 月 1 日 (招待講演)
36. 豊田優、高田龍平、鈴木洋史. Biliary excretion of glutathione-conjugates of 1,2-dichloropropane: potential influence on the cholangiocarcinoma risk (胆汁排泄に着目したジクロロプロパンによる胆管がんリスクの検証), **第 8 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム** 熊本 2014 年 11 月 15 日~16 日 ポスター発表.
37. 高田龍平、山梨義英、小西健太郎、山本武人、豊田優、増尾友佑、山本英明、鈴木洋史. コレステロールトランスポーター NPC1L1 による脂溶性ビタミン輸送 (Transport of fat-soluble vitamins mediated by a cholesterol transporter NPC1L1), **第 87 回日本生化学会大会** 京都

- 2014年10月15日～18日 シンポジウム講演.
38. 豊田優、宮田大資、高田龍平、中川大、田川陽一、五味常明、石川智久、鈴木洋史. ヒト ABCC11 発現マウスを用いたメタボローム解析 (Untargeted metabolomics profiling in ABCC11 Tg mice and WT mice) **第87回日本生化学会大会** 京都 2014年10月15日～18日 ポスター発表.
39. 中山昌喜、松尾洋孝、中岡博史、中村好宏、高田雄三、及川雄二、高田龍平、崎山真幸、清水聖子、千葉俊周、若井建志、市田公美、四ノ宮成祥. 高尿酸血症の発症には生活習慣より遺伝子が強く影響する, **第87回日本生化学会大会** 京都 2014年10月15日～18日 ポスター発表
40. 伊藤直樹、伊藤晃成、鬼頭朋子、高田龍平、岡明、楠原洋之、鈴木洋史. 有機カチオントランスポーターOct1/Slc22a1 を介したビタミンB1の乳汁移行, **第41回日本小児臨床薬理学会** 大阪 2014年10月3日～4日 口演.
41. 鈴木美央、湯川玲奈、柳原良次、奈良克彦、高田龍平、中島克佳、鈴木洋史. 脂肪乳剤に含まれるビタミンKがワルファリンの抗凝血作用に影響を与えたと考えられる一症例, **第24回日本医療薬学会年会** 名古屋 2014年9月27日～28日 ポスター発表.
42. 高田龍平. 尿酸排出トランスポーターABCG2と高尿酸血症・痛風, **第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会** 東京 2014年7月10日～11日 シンポジウム講演.
43. 高田龍平、鈴木洋史. 高尿酸血症・痛風と ABCG2/BCRP 遺伝子多型, **医療薬学フォーラム 2014 / 第22回クリニカルファーマシーシンポジウム** 東京 2014年6月28日～29日 シンポジウム講演.
44. 伊藤晃成、伊藤直樹、池淵祐樹、豊田優、高田龍平、樋坂章博、岡明、鈴木洋史. BCRPによる輸送を考慮した薬物乳汁移行予測精度の改善, **医療薬学フォーラム 2014**

- ／第 22 回クリニカルファーマシーシンポジウム 東京 2014 年 6 月 28 日～29 日 ポスター発表.
45. 守矢恒司、玉井美保、豊田優、田川陽一. 概日リズムを考慮したアセトアミノフェン誘導肝障害 *in vivo* モデルにおける急性期タンパク質による保護作用. 第 21 回肝細胞研究会, P-19, 東京 (2014.06.27-28) ポスター発表
46. 守矢恒司、玉井美保、豊田優、田川陽一. アセトアミノフェン誘導肝障害の *in vivo* および *in vitro* モデルによる解析, 第 79 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 札幌 2014 年 6 月 19 日～20 日 ポスター発表.
47. 中山昌喜、松尾洋孝、崎山真幸、千葉俊周、清水聖子、中島宏、高田雄三、高田龍平、若井建志、川合紗世、銀光、中川弘子、櫻井裕、鈴木洋史、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥. 尿酸排泄輸送体 ABCG2 の機能低下は腎排泄低下型と腎負荷型高尿酸血症の両方を引き起こす, 第 9 回トランスポーター研究会年会 名古屋 2014 年 6 月 14 日～15 日 ポスター発表【受賞】.
48. 豊田優、宮田大資、高田龍平、中川大、田川陽一、五味常明、石川智久、鈴木洋史. ヒト ABCG11 発現マウスを用いた基質探索の試み, 第 9 回トランスポーター研究会年会 名古屋 2014 年 6 月 14 日～15 日 ポスター発表.
49. 高田龍平. 脂溶性ビタミンのトランスポーター, 日本ビタミン学会第 66 回大会 姫路 2014 年 6 月 13 日～14 日 シンポジウム講演.
50. 大山恵子、諸見里仁、大山博司、松尾洋孝、崎山真幸、高田龍平、市田公美、藤森新. 透析患者における ABCG2 トランスポーター機能の検討, 第 59 回日本透析医学会学術集会・総会 神戸 2014 年 6 月 12 日～15 日 ポスター発表.
51. 唐木文霞、大金賢司、山梨義英、高田龍平、閼閼孝介、鈴木洋史、橋本祐一. コレステロールトランスポーター NPC1L1 に対する新

規クラスの阻害剤の創製
(Discovery of Novel Class of
Inhibitors of the Cholesterol
Transporter NPC1L1), 日本ケミ
カルバイオロジー学会 第 9 回年
会 大阪 2014 年 6 月 11 日~13
日 口頭発表.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当ありません。

添付資料 M-1

LC-MS/MS測定条件

●HPLC (DIONEX Ultimate3000RS)

カラム : Thermo Synchronis AQ 2.1x100mm 5u
移動相A : 0.1% ギ酸水溶液
移動相B : #1 アセトニトリル
 #2 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液
流速 : 300 μ l/min
注入量 : 2 μ l
カラム温度 : 40°C

min	init	5	10	30.0	30.1
%A	100	100	10	10	100
%B	0	0	90	90	0

グラジエント条件: 30.1-40分
まで平衡化
移動相Bの条件によらず
同じ条件を用いた

●MS(Q exactive)イオン化条件

スプレー電圧(KV) : 3.0/2.5
コロナ放電電流(μ A) : -
ベーパーライザ温度 : 400
キャピラリー温度 : 250
窒素ガス流量(arb) : 50/20
S-lens-level : 50
(ESI-Positive/Negative)

●MS検出条件

Full MS

設定分解能 フルスキャン : 70,000@m/z 200
AGC target : 1e6
Maximum Injection time (ms) : 250
Scan range : m/z 100- m/z 800

MS2(データディペンデントスキャンを使用)

設定分解能 MS2 : 17,500@m/z200
Loop count : 5
AGC target : 1e5
HCD/Stepped collision : 30/50
Under fill ratio : 5
Apex trigger : 3-10

添付資料 M-2

SIEVE2.1による差異解析パラメーター

0. Global settings

Algorithm	COMPONENT
Description	
ExperimentTarget	METABOLOMICS
ExperimentType	NOMALIZED_TREND
MaxThreads	8
MZStart	80
MZStop	800
Name	According to Exp.
PCAPProcess	BYPASS_MORE_THAN_8K
Rawfiles	(Collection)
ReferenceFile	According to Exp.
RTStart	0.01
RTStop	30
ScanFilter	FTMS + p ESI Full lock ms [80.00-800.00]

1. Alignment Parameters

AlignmentBypass	True
AlignmentMinIntensity	1000
CorrelationBunWidth	1
MaxRTShift	0.2
TileSize	300

2. Basic Component Parameters

BackgroundSN	3
BGSNSuppress	True
BPMinimumConut	According to Exp.
BPMinimumScans	5
MZStep	10
PealAlgorithm	ICIS
RTPeakIsolation	0.2
TargetMinimumCount	10000
TargetMZList	(Collection)

3. Frame Parameters

Conditions	:
ControlGroup	According to Exp.
FrameSeedFile	
FramsFromMS2Scans	False
Injection	LC
KMClusters	0
MaximunFrames	10000
MZwidthPPM	10
PeakIntegration	ICIS
PerfectPair	
RTWidth	2.5
Threshold	According to Exp.
Trendpoints	According to Exp.

4. Advance Component Parameters

AdductDatabaseNEG	C:ref
AdductDatabasePOS	C:ref
BackgroundRW	0.15
BGSNEvaluation	TopSignal
ExclusionList	C:ref
Groups	(Collection)
H	0.2
IsotopeDatabase	C:ref
Maxmin	10
MinimunScans	2
SkirtBPInty	10000
SkirtMZWidth	0.7
Smoothing	NONE
Y	0.05

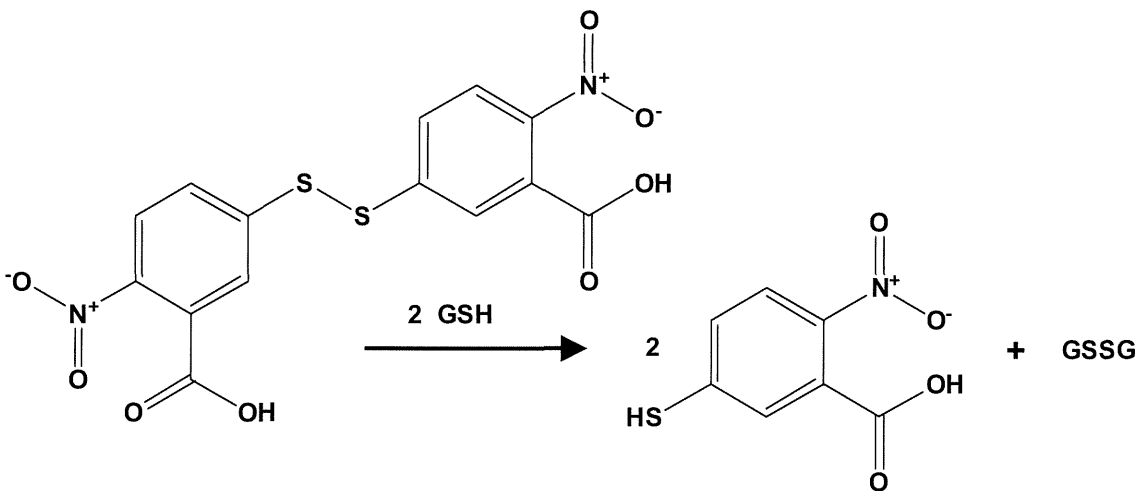
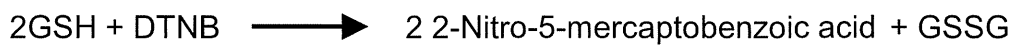
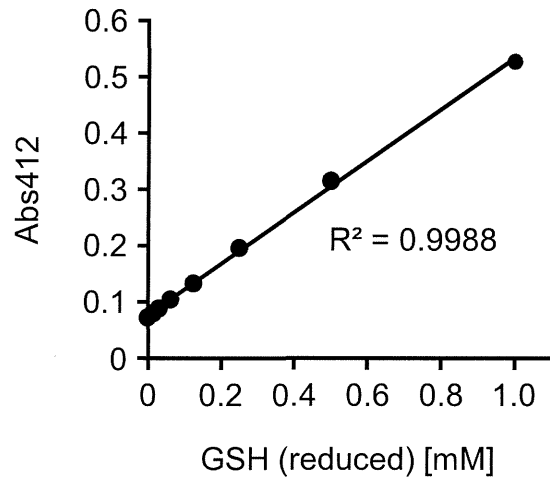
5. Global Identification Parameters

AssumedCharge	1
MaximumIDs	10000
MinFormulaScore	1
SearchSource	DBLOOKUP

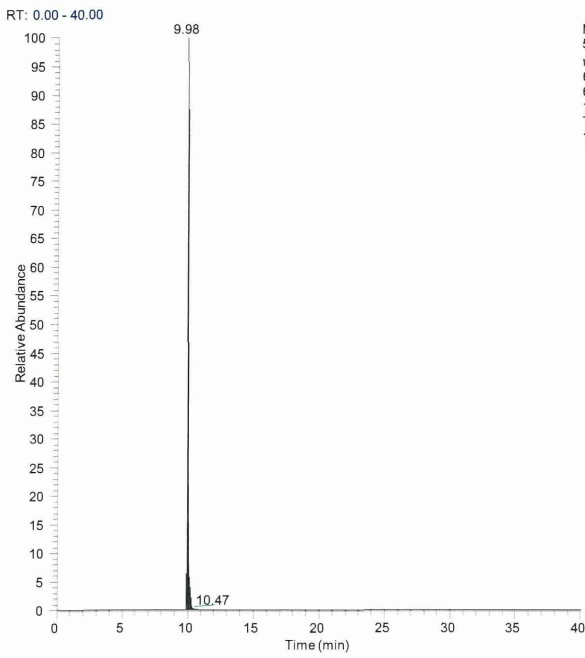
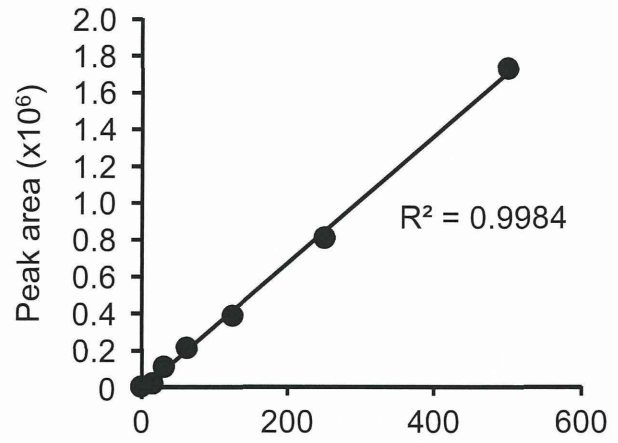
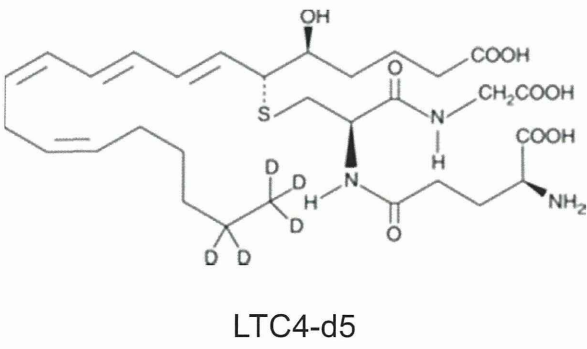
6. Accurate Mass Identification Parameters

Adduct	+nH:
ChemSpiderDBs	According to Exp.
DBLibraryFile	C:ref
DBLookupMethod	COMPMW
MZTolerance	10

添付資料 M-3



添付資料 M-4



NL:
5.09E6
m/z=
631.3405-
631.3431 MS
150128_STDL
TC4_Meta24_
15

