

平成 30 年 5 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08610

研究課題名(和文) 質量分析計(LC-MS/MS)を用いた定量測定 of 臨床検査応用と基盤技術の構築

研究課題名(英文) Development of the quantitative measurement methods by LC-MS/MS for clinical laboratory applications.

研究代表者

佐藤 守 (Sato, Mamoru)

千葉大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：20401002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で3つの同時測定法(25(OH)D3・3-epi-25(OH)D3・25(OH)D2・24,25(OH)2D3のビタミンDの4代謝物、1,25(OH)2D2・1,25(OH)2D3の2つの活性化型ビタミンD、Estrone・Estradiolのエストロゲン2項目)の開発とバリデーションをすることができた。各方法ともに臨床検査で必須となる各プレアナリティカルファクターの影響を受けずルーチン感度を達成できた。またスループットについても自動化が容易に可能な前処理方法を選択することで1時間以内に測定結果が得られる状況にあり、臨床検査室で十分に使用出来る方法が確立することができた。

研究成果の概要(英文)：We have developed and validated three simultaneous measurement methods by LC-MS/MS. Target analytes are four vitamin D metabolites [25(OH)D3, 3-epi-25(OH)D3, 25(OH)D2 and 24,25(OH)2D3], two active forms of vitamin D and two estrogen (Estrone and Estradiol). Our developed methods can meet the majority of clinical needs like sensitivity, accuracy, reproducibility and throughput. Additionally, we determined the effects of various preanalytical factors such as interferences, long sample sitting prior to serum separation, repeated freeze-thaw cycles on these determinations. Various preanalytical factors had no significant effects on these determinations. These methods will aid further understanding of low-abundance analytes, as well as the accurate determination of each target analytes.

研究分野：臨床検査医学

キーワード：LC-MS/MS Vitamin D Estrogen 同時定量 臨床検査

1. 研究開始当初の背景

**臨床的背景**

近年ホルモン様作用が注目されているビタミン D は多様な作用を持ち、その不足は乳幼児の骨疾患だけでなく、成人の免疫性疾患、悪性腫瘍などのリスクとも関連することが注目され、特に欧米では関連サプリメントが多用されている。また、ビタミン D 代謝物は分子構造によってその生物学的活性が大きく異なる。25(OH)D (貯蔵体)、1,25(OH)<sub>2</sub>D (活性体)、24,25(OH)<sub>2</sub>D (不活性体)であり、さらに動物性の D<sub>3</sub>、植物性の D<sub>2</sub>がある。したがって、代謝物を含めたビタミン D の正確な定量が必須である。

エストロゲンレセプター/プロゲステロン受容体陽性[HR(+)]の乳癌に対する手術後内分泌療法として術後 10 年行うことが望ましい事が明らかとなってきた。閉経後 HR(+)-乳癌患者に対しては体内のエストロゲンを低下させる目的でアロマターゼ阻害剤 (AI 剤) の内服が標準的治療であるが、AI 剤を 10 年間内服するメリットがあるのは、

内服により血中エストロゲン濃度が低下し、その低下が抗腫瘍効果を発揮する患者と考えられている。しかしながら、実際には AI 剤によるエストロゲン濃度の低下は測定感度が不足し確認できていない。また、現行のエストロゲン測定はエストラジオールのみで確立されており、低いながらも同様の活性を有するエストロン・エストリオールを含めた 3 項目での評価が求められている。

従来の免疫学的測定法では、微細な分子構造の差異を弁別する事は難しい。分子量の微細な違いを測り分けることは質量分析技術の最も得意とするところであり、その実現のために本研究が必要と考える。

**技術的背景**

近年質量分析計の進化は著しく、薬物動態・環境・プロテオミクス・メタボロミクスと様々な分野で利用されている。医療分野においても新生児マススクリーニングで利用されている。特に細菌同定での利用はこの 5 年で急速に進んでおり、当大学病院細菌検査室でも日常検査に使用している。ステロイドホルモン等の低分子代謝物での利用は欧米では急速に進んでいるが本邦では遅れを取っている。1998 年に 1 台も保有していなかった Mayo Clinic では 2010 年には 60 台以上保有し、年間 200 万件の測定が行われている。このシフトの理由は、免疫学的測定法では多種の微細分子構造変化を個別に捉える抗体の作出は難しく、低分子代謝物測定に限界があること。LC-MS は従来の HPLC や GC-MS よりもワークフローが単純でハイスループットであること。コストがこれまでの方法よりも安価であることが挙げられている。[Clin Biochem Rev 32:5-31, 2011] 前述の細菌同定では MALDI-TOF MS を使用するが、臨床検査での使用に必要な医療機器認定が取得できている。LC-MS (三連四重極タイ

プ)についても医療機器認定を取得する動きが各社でされており、まさに今が本研究を行うのに最適な時期だと考える。

2. 研究の目的

臨床検査においてステロイドホルモン等の低分子代謝物の測定は抗体を用いた免疫学的測定法で行われてきた。しかしながら、この方法では結合タンパク質との解離方法の違いや、使用する抗体によって類似構造体の認識能が異なることから、各施設間で測定値が異なるという問題が起こっている。低分子代謝物は微細な構造変化でその生理活性が大きく異なることから、正確な測り分けが求められる。

そこで本研究では、この分野でイオン化効率の悪さから最も測定が難しいとされているビタミン D・エストロゲンを対象として、LC-MS/MS を使用した定量測定法を臨床検査に応用することを第一の目的として行う。また、臨床検査において求められる非常に高精度・再現性・堅牢性を兼ね備えた測定法を確立するとともに、測定キットの開発を行っていく。

3. 研究の方法

本研究ではビタミン D・エストロゲンを対象として LC-MS/MS を用いた定量測定法を臨床検査に応用することを目的として行う。

第一に臨床検査で求められる高い再現性・安定性・スループット・簡便性を兼ね備えた測定方法を確立し、研究期間を通して日々行われる臨床検査に耐えうる精度管理体制も確立していく。この過程で構築された測定方法・使用する試薬・前処理方法を盛り込んだ測定キットの開発も行っていく。

LC-MS/MS を用いた定量測定法の各パラメーター標準品を使い最適化を行っていく。

分析対象物質の純品を入手

質量分析計の各種パラメーターの最適化

HPLC における各種パラメーターの最適化

分析対象物質の抽出法の最適化

測定系の検証

臨床検査としての精度管理・運用管理

検査値の利用に向けて

4. 研究成果

表 1 ビタミン D 代謝物測定の正確度  
測定系の正確度について表 1 に示すよう

Compound	Standard	Expected conc. (ng/mL)	Average (ng/mL)	SD.	CV. (%)	Accuracy (%)	Range (%)
25(OH)D <sub>3</sub>	Level 1	28.8 ± 1.1	28.9	0.57	2.0	100.3	96.7 - 102.4
	Level 2	18.1 ± 0.4	17.7	0.28	1.6	97.8	99.7 - 104.2
	Level 3	19.8 ± 0.4	19.5	0.16	0.8	98.5	100.4 - 102.8
	Level 4	29.4 ± 0.9	29.0	0.37	1.3	98.6	99.8 - 103.2
3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	Level 1	1.81 ± 0.10	1.86	0.04	2.2	102.8	94.5 - 100.5
	Level 2	1.28 ± 0.09	1.29	0.02	1.8	100.8	97.3 - 102.4
	Level 3	1.17 ± 0.14	1.13	0.03	2.8	96.6	98.1 - 107.3
	Level 4	26.0 ± 2.2	28.2	0.24	0.9	108.5	91.0 - 93.2
25(OH)D <sub>2</sub>	Level 1	0.54 ± 0.06	0.51	0.01	2.3	94.4	100.9 - 108.5
	Level 2	0.81 ± 0.06	0.82	0.02	3.0	101.2	94.8 - 103.7
	Level 3	13.3 ± 0.3	13.6	0.16	1.2	102.3	96.0 - 99.5
	Level 4	0.55 ± 0.10	0.54	0.02	3.7	98.2	97.0 - 107.8
24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	Level 1	2.66 ± 0.10	2.63	0.03	1.2	98.9	99.6 - 102.5
	Level 2	1.41 ± 0.05	1.41	0.03	2.1	100.2	96.3 - 102.6
	Level 3	1.62 ± 0.06	1.60	0.04	2.4	99.0	96.5 - 103.9
	Level 4	2.64 ± 0.09	2.62	0.03	1.0	99.4	99.6 - 103.0

に全ての測定対象物について NIST が設定し

ている測定範囲内であった。測定精度を表 1 に示す。25(OH)D<sub>3</sub> 濃度が低値・平均値付近の血清共に CV が 10% 未満であった。

測定項目 25(OH)D<sub>3</sub>, 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の LLOQ は 0.091, 0.020, 0.013, 0.024 ng/mL であった。

各測定値 ( 25(OH)D<sub>3</sub>, 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ) への影響は遊離型ビリルビン ( 211 mg/dL ) で 1.6%, 3.0%, 3.0%, 0.6%, 抱合型ビリルビン ( 211 mg/dL ) で 0.8%, 3.5%, 1.6%, 0.4%, 乳ピ ( 14900 FTU ) で 0.1%, 1.4%, 1.5%, 1.3%, 溶血ヘモグロビン ( 5100 mg/dL ) で 1.2%, 5.0%, 2.1%, 3.4% であった。

表 2 ビタミン D 代謝物測定精度

	Compound	Concentration (ng/mL)	Inter-day CV. (%)	Intra-day CV. (%)
Low level	25(OH)D <sub>3</sub>	7.16 ± 0.16	2.2	0.9
	3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	0.25 ± 0.01	3.4	3.0
	25(OH)D <sub>2</sub>	0.30 ± 0.01	4.4	4.4
	24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0.26 ± 0.02	9.2	3.8
Medium level	25(OH)D <sub>3</sub>	18.3 ± 0.40	2.2	1.9
	3-epi-25(OH)D <sub>3</sub>	0.66 ± 0.03	4.5	3.1
	25(OH)D <sub>2</sub>	0.27 ± 0.01	5.1	3.5
	24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1.36 ± 0.05	3.3	1.6

7 名の健常人検体を 1 ~ 5 回の凍結融解を行い測定した結果、25(OH)D<sub>3</sub>, 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 測定値への影響は最大で 3.1%, 4.0%, 6.4%, 3.4% であった。また、保存期間について以前測定した 100 検体を再度測定 ( 1 年後 ) した結果、測定値の変動は見られなかった。

血清採血管 3 種、血漿採血管 3 種を用いて 7 名の健常人から採血し測定を行った結果、25(OH)D<sub>3</sub>, 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 測定値の %CV は最大で 3.0%, 7.7%, 5.3%, 3.2% であった。

構築したビタミン D 代謝物の同時測定系は正確度・精度・測定感度共に良好であった。また、妨害物質による測定値への影響や採血管の差異による影響も見られなかった。検体の凍結融解や保存による影響もないことから、ルーチン測定に十分な測定系が構築できたと考えている。

血中ビタミン D メタボライトを同一人で測定した結果、25(OH)D<sub>3</sub>, 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub>, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> では 7 ~ 9 月に高く

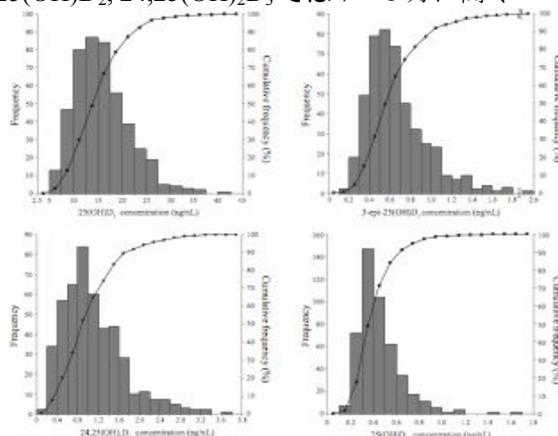


図 1 血中ビタミン D 代謝物の濃度分布なる傾向が認められた。しかし、その上昇率

は個人による差が大きい。1 ~ 3 月に年間で最も濃度が低くなり、個人の濃度変化も小さかった。25(OH)D<sub>2</sub> は通年で大きな濃度変化は見られなかった。

健常人 465 検体の測定した結果、全てのメタボライトで男性の値が高かった。各メタボライトの血中濃度分布を図 1 に示す。各項目の平均・最小・最大値は 25(OH)D<sub>3</sub> が 15.9, 5.38, 41.1 ng/mL、3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> が 0.67, 0.17, 2.46 ng/mL、25(OH)D<sub>2</sub> が 0.45, 0.16, 1.63 ng/mL、24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> が 1.10, 0.15, 3.63 ng/mL であった。

25(OH)D<sub>3</sub> に対する各メタボライトの相関を図 2 に示す。3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> と 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に対する相関は  $r=0.871$ ,  $0.875$  と高い。25(OH)D<sub>2</sub> とは  $r=0.073$  と相関はない。

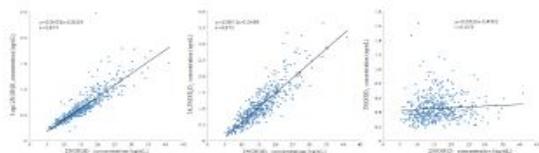


図 2 ビタミン D 代謝物間の濃度相関考察

25(OH)D<sub>3</sub> が 20 ng/mL 以下になると副甲状腺ホルモンが上昇することから 20 ng/mL が非充足の指標とされることが多いが今回の検討により約 8 割が 20 ng/mL 以下であった。また日射量に相関する季節変動が確認されたが、個人の生活習慣による紫外線曝露時間の違いによる影響が大きいと考えられる。

## 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 26 件 )

1. Tsuchida S, Murata S, Miyabe A, Satoh M, Takiwaki M, Matsushita K, Nomura F. An improved in-house lysis-filtration protocol for bacterial identification from positive blood culture bottles with high identification rates by MALDI-TOF MS. J Microbiol Methods. 2018. pii: S0167-7012(18)30168-4. doi: 10.1016/j.mimet.2018.03.014.
2. Takeuchi N, Segawa S, Ishiwada N, Ohkusu M, Tsuchida S, Satoh M, Matsushita K, Nomura F. Capsular serotyping of Haemophilus influenzae by using matrix-associated laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Infect Chemother. 2018. pii: S1341-321X(18)30062-X. doi: 10.1016/j.jiac.2018.02.007.
3. Ihara H, Kiuchi S, Ishige T, Nishimura M, Matsushita K, Satoh M, Nomura F, Yamashita M, Kitajima I, Tsugawa N, Okano T, Hirota K, Miura M, Totani M, Hashizume N; Nutrition Division, Japan Society of Clinical Chemistry. Surveillance evaluation of the standardization of assay values for serum total

- 25-hydroxyvitamin D concentration in Japan. *Ann Clin Biochem.* 2018. 4563218765570. doi: 10.1177/0004563218765570.
4. Tsuchida S, Satoh M, Umemura H, Sogawa K, Takiwaki M, Ishige T, Miyabayashi Y, Iwasawa Y, Kobayashi S, Beppu M, Nishimura M, Kodera Y, Matsushita K, Nomura F. Assessment by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of the Effects of Preanalytical Variables on Serum Peptidome Profiles Following Long-Term Sample Storage. *Proteomics Clin Appl.* 2018. doi: 10.1002/prca.201700047.
  5. Kimura A, Kitamura K, Ailiken G, Satoh M, Minamoto T, Tanaka N, Nomura F, Matsushita K. FIR haplodeficiency promotes splicing to pyruvate kinase M2 in mice thymic lymphoma tissues revealed by six-plex tandem mass tag quantitative proteomic analysis. *Oncotarget.* 2017. 8(40):67955-67965. doi: 10.18632/oncotarget.19061.
  6. Ishige T, Satoh M, Ogawa S, Nishimura M, Matsushita K, Higashi T, Nomura F. Improved sensitivity of serum/plasma 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D quantification by DAPTAD derivatization. *Clin Chim Acta.* 2017. 473:173-179. doi: 10.1016/j.cca.2017.08.033.
  7. Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, Nomura F. Ubiquitination in Periodontal Disease: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. 18(7). pii: E1476. doi: 10.3390/ijms18071476.
  8. Ashizawa K, Murata S, Terada T, Ito D, Bunya M, Watanabe K, Teruuchi Y, Tsuchida S, Satoh M, Nishimura M, Matsushita K, Sugama Y, Nomura F. Applications of copolymer for rapid identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microbiol Methods.* 2017. 139:54-60. doi: 10.1016/j.mimet.2017.04.013.
  9. T Miyakoshi, M Satoh, F Nomura, T Hashimoto, T Aizawa. A Case of Hypocalcaemia Due to Vitamin D Deficiency in 'Hikikomori' Syndrome. *European Journal of Case Reports in Internal Medicine* 2. [http://dx.doi.org/10.12890/2017\\_000634](http://dx.doi.org/10.12890/2017_000634)
  10. Mizuno S, Sasai H, Kume A, Takahashi D, Satoh M, Kado S, Sakane F. Dioleoyl-phosphatidic acid selectively binds to  $\alpha$ -synuclein and strongly induces its aggregation. *FEBS Lett.* 2017. 591(5):784-791. doi: 10.1002/1873-3468.12592.
  11. Satoh M, Takano S, Sogawa K, Noda K, Yoshitomi H, Ishibashi M, Mogushi K, Takizawa H, Otsuka M, Shimizu H, Miyazaki M, Nomura F. Immune-complex level of cofilin-1 in sera is associated with cancer progression and poor prognosis in pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 2017. 108(4):795-803. doi: 10.1111/cas.13181.
  12. Ogawa S, Kittaka H, Nakata A, Komatsu K, Sugiura T, Satoh M, Nomura F, Higashi T. Enhancing analysis throughput, sensitivity and specificity in LC/ESI-MS/MS assay of plasma 25-hydroxyvitamin D3 by derivatization with triplex 4-(4-dimethylaminophenyl)-1,2,4-triazoline-3,5-dione (DAPTAD) isotopologues. *J Pharm Biomed Anal.* 2017. 136:126-133. doi: 10.1016/j.jpba.2016.11.030.
  13. Hashida T, Nakada TA, Satoh M, Tomita K, Kawaguchi R, Nomura F, Oda S. Proteome analysis of hemofilter adsorbates to identify novel substances of sepsis: a pilot study. *J Artif Organs.* 2017. 20(2):132-137. doi: 10.1007/s10047-016-0936-3.
  14. Sueyoshi S, Sawai S, Satoh M, Seimiya M, Sogawa K, Fukumura A, Tsutsumi M, Nomura F. Fractionation of gamma-glutamyltransferase in patients with nonalcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *World J Hepatol.* 2016. 8(36):1610-1616. doi: 10.4254/wjh.v8.i36.1610.
  15. Kikuchi W, Nishimura M, Kuga T, Tsuchida S, Saito T, Satoh M, Noda K, Kodera Y, Tomonaga T, Nomura F. Fibrinogen alpha C chain 5.9 kDa fragment (FIC5.9), a biomarker for various pathological conditions, is produced in post-blood collection by fibrinolysis and coagulation factors. *Clin Proteomics.* 2016. 13:27. DOI: 10.1186/s12014-016-9129-6
  16. Kobayashi S, Hoshino T, Hiwasa T, Satoh M, Rahmutulla B, Tsuchida S, Komukai Y, Tanaka T, Matsubara H, Shimada H, Nomura F, Matsushita K. Anti-FIRs (PUF60) auto-antibodies are detected in the sera of early-stage colon cancer patients. *Oncotarget.* 2016. 7(50):82493-82503. doi: 10.18632/oncotarget.12696.
  17. Arai MA, Taguchi S, Komatsuzaki K, Uchiyama K, Masuda A, Sampei M, Satoh M, Kado S, Ishibashi M. Valosin-containing Protein is a Target of 5'-l Fuligocandin B and Enhances TRAIL Resistance in Cancer Cells. *ChemistryOpen.* 2016. 5(6):574-579. doi: 10.1002/open.201600081.
  18. Sogawa K, Takano S, Iida F, Satoh M, Tsuchida S, Kawashima Y, Yoshitomi H, Sanda A, Kodera Y, Takizawa H, Mikata R, Ohtsuka M, Shimizu H, Miyazaki M, Yokosuka O, Nomura F. Identification of a novel serum biomarker for pancreatic cancer, C4b-binding protein  $\alpha$ -chain (C4BPA) by quantitative proteomic analysis using tandem mass tags. *Br J Cancer.* 2016. 115(8):949-956. doi: 10.1038/bjc.2016.295.

19. Higashi T, Yokota M, Goto A, Komatsu K, Sugiura T, Ogawa S, Satoh M, Nomura F. A Method for Simultaneous Determination of 25-Hydroxyvitamin D3 and Its 3-Sulfate in Newborn Plasma by LC/ESI-MS/MS after Derivatization with a Proton-Affinitive Cookson-Type Reagent. Mass Spectrom (Tokyo). 2016;5(Spec Iss):S0051. doi: 10.5702/massspectrometry.S0051.
20. Satoh M, Ishige T, Ogawa S, Nishimura M, Matsushita K, Higashi T, Nomura F. Development and validation of the simultaneous measurement of four vitamin D metabolites in serum by LC-MS/MS for clinical laboratory applications. Anal Bioanal Chem. 2016. 408(27):7617-7627. DOI: 10.1007/s00216-016-9821-4
21. Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, Wakabayashi M, Ishige T, Beppu M, Nishimura M, Matsushita K, Nomura F. Detection of Ubiquitinated Dermcidin in Gingival Crevicular Fluid in Periodontal Disease. Int J Pept Res Ther (2016) 22: 249. doi:10.1007/s10989-015-9504-6
22. Abulaiti G, Sawai S, Satoh M, Yamada M, Yaguchi M, Sogawa K, Beppu M, Kazami T, Kado S, Matsushita K, Tsukamoto A, Inomata T, Arai K, Koderia Y, Kuwabara S, Nomura F. Proteome Analysis of the Cerebellum Tissue in Chronically Alcohol-Fed Rats. J Alcohol Drug Depend. 2016. 4:249. doi:10.4172/2329-6488.1000249
23. Ishige T, Nishimura M, Satoh M, Fujimoto M, Fukuyo M, Semba T, Kado S, Tsuchida S, Sawai S, Matsushita K, Togawa A, Matsubara H, Kaneda A, Nomura F. Combined Secretomics and Transcriptomics Revealed Cancer-Derived GDF15 is Involved in Diffuse-Type Gastric Cancer Progression and Fibroblast Activation. Sci Rep. 2016. 6:21681. doi: 10.1038/srep21681.
24. Beppu M, Sawai S, Satoh M, Mori M, Kazami T, Misawa S, Shibuya K, Ishibashi M, Sogawa K, Kado S, Koderia Y, Nomura F, Kuwabara S. Autoantibodies against vinculin in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. J Neuroimmunol. 2015. 287:9-15. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.07.012.
25. Sogawa K, Iida F, Kawshima Y, Yamada M, Satoh M, Sanda A, Takizawa H, Maruyama K, Wada Y, Nomura F. Evaluation of serum carbohydrate-deficient transferrin by HPLC and MALDI-TOF MS. Clin Chim Acta. 2015. 448:8-12. doi: 10.1016/j.cca.2015.06.005.
26. Maeda H, Sogawa K, Sakaguchi K, Abe S, Sagizaka W, Mochizuki S, Horie W, Watanabe T, Shibata Y, Satoh M, Sanda A, Nomura F, Suzuki J. Urinary albumin and transferrin as early diagnostic markers of chronic kidney disease. J Vet Med Sci. 2015. 77(8):937-43. doi: 10.1292/jvms.14-0427.
- [学会発表](計18件)  
 高橋康司、瀧脇正貴、佐藤 守、土田祥央、田中知明、野村文夫、習慣飲酒マーカー候補ヘモグロビンアセトアルデヒアダクト(HbAch)の質量分析法による測定に向けた基礎検討、アルコール医学生物学研究会、2018年1月26日(横浜)  
佐藤 守、臨床検査室導入に向けた質量分析の役割と問題点: ビタミンD測定を中心に、第64回日本臨床検査医学会学術集会、2017年11月19日(京都)  
佐藤 守、石毛崇之、小川祥二郎、戸村 円、山出史也、西村 基、松下一之、下条直樹、東 達也、野村文夫、第42回日本医用マススペクトル学会年会、2017年9月15日(東京)  
 土田祥央、宮部安規子、村田正太、齊藤知子、瀨川俊介、佐海知子、上原麻美、中村恵海、渡邊正治、曾川一幸、瀧脇正貴、西村 基、佐藤 守、松下一之、野村文夫、37mmクオリティモニターを用いたMALDI-TOF MSによる血液培養ボトルからの迅速細菌同定の検討、第42回日本医用マススペクトル学会年会、2017年9月14日(東京)  
佐藤 守、LC-MSを用いた定量解析、日本医用マススペクトル学会 第2回東部会、2017年7月1日(神奈川)  
佐藤 守、臨床検査室導入に向けた質量分析の役割と問題点~ビタミンD測定を中心に~、日本質量分析学会第65回総合質量分析討論会、2017年5月17日(つくば)  
佐藤 守、質量分析技術の臨床検査室導入へ向けた取り組み~臨床化学におけるビタミンD・ステロイドホルモン測定を中心に~、第4回日本医用マススペクトル学会医用質量分析認定士講習会ランチョンセミナー(SRL)、2016年9月17日(愛知)  
 宮林佑衣、佐藤 守、瀧脇正貴、西村 基、松下一之、野村文夫、LC-MS/MSを用いたエストロゲン測定と臨床検査応用、第41回日本医用マススペクトル学会、2016年9月15日(愛知)  
Mamoru Satoh、Scientific Program (Educational Lecturers)「The role of mass spectrometry in clinical laboratory: focusing on vitamin D, The 32nd World Congress of Biomedical Laboratory Science - IFBLS 2016、2016年9月2日(神戸)  
Satoh M, Ishige T, Ogawa S, Nishimura M, Matsushita K, Higashi T, Nomura F. Development and validation of simultaneous measurement of four vitamin D metabolites in serum by LC-MS/MS for clinical laboratory. The Official 68th AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo. 20160731~20160804 (Philadelphia, USA)  
佐藤 守、質量分析の基礎と臨床検査への

応用、千葉臨床検査技師会研修会、2016年7月2日(千葉)

佐藤 守、質量分析技術の基礎、日本医用マススペクトル学会 第1回東部会、2016年6月25日(千葉)

Mamoru Satoh、The role of mass spectrometry in clinical laboratory: focusing on vitamin D testing、WASPaLM (World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine)、2015年11月20日(Cancun, Mexico)

佐藤 守、石毛崇之、小川祥二郎、西村 基、松下一之、東 達也、野村文夫、LC/MS/MSの臨床検査応用-ビタミン D 代謝物測定を基盤に、第40回日本医用マススペクトル学会年会、2015年9月18日(静岡)

宮林佑衣、佐藤 守、滝脇正貴、西村 基、松下一之、野村文夫、LC-MS/MSによる血清エストロゲンおよびプロゲステロンの同時定量、第40回日本医用マススペクトル学会年会、2015年9月18日(静岡)

土田祥央、佐藤 守、梅村啓史、曾川一幸、滝脇正貴、別府美奈子、西村 基、小寺義男、松下一之、野村文夫、Effects of preanalytical variables on serum peptidome profiling for long-term storage using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry、第40回日本医用マススペクトル学会年会、2015年9月18日(静岡)

佐藤 守、LC/MS/MSの臨床検査応用への取り組み、第40回日本医用マススペクトル学会年会 モーニングセミナー(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社)、第40回日本医用マススペクトル学会年会、2015年9月17日(静岡)

佐藤 守、LC/MS/MSの臨床検査応用への取り組み、サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 研究開発者交流のための機器分析ユースフォーラム 2015、2015年7月29日(大阪)

#### 〔図書〕(計1件)

中山智祥 編、学研メディカル秀潤社、いまどきの遺伝子・プロテオミクス技術と自動分析機器、2018、ISBN-13: 978-4059167778

#### 〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称:s-cis-ジエンを有する化合物の誘導体化法、誘導体化試薬キット、および分析法

発明者:東 達也、小川 祥二郎、野村 文夫、

佐藤 守、滝脇 正貴

権利者:同上

種類:特許

番号:特許願 2016-190684

出願年月日:2016年9月29日

国内外の別:国内

名称:ビタミンDの定量方法、質量分析装置およびビタミンD定量用試薬キット

発明者:東 達也、小川 祥二郎、野村 文夫、

佐藤 守、滝脇 正貴

権利者:同上

種類:特許

番号:特許願 2016-224171

出願年月日:2016年9月29日

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ

[http://www.ho.chiba-u.ac.jp/Clinical\\_MS/index.html](http://www.ho.chiba-u.ac.jp/Clinical_MS/index.html)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

佐藤 守(SATOH Mamoru)

千葉大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号:20401002

##### (2)研究分担者

野村 文夫(NOMURA, Fumio)

千葉大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号:80164739

東 達也(Higashi, Tatsuya)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号:90272963

小川 祥二郎(Ogawa, Shoujiro)

東京理科大学・薬学部薬学科・講師

研究者番号:30546271

西村 基(Nishimura, Motoi)

千葉大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:80400969

##### (3)連携研究者

石毛 崇之(Ishige, Takayuki)

千葉大学・医学部附属病院・臨床検査技師

研究者番号:30757315

三階 貴史(Sangai, Takafumi)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号:00375685