

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 8 日現在

機関番号：35307

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08259

研究課題名(和文) 終末糖化産物の新規オンライン高感度分析法の開発と多面的な生体ストレス評価への応用

研究課題名(英文) Development of new on-line high sensitive analytical method for advanced glycation endproducts and its application to multifaceted biological stress assessment

研究代表者

片岡 洋行 (Kataoka, Hiroyuki)

就実大学・薬学部・教授

研究者番号：80127555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：インチューブ固相マイクロ抽出法を最適化し、LC-MS/MSとの連結により、複数の終末糖化産物(AGEs)を一斉にオンライン自動分析する方法を開発した。本法は選択的かつ高感度で、尿や毛髪中のpgレベルのAGEsを非侵襲的に分析できた。またLC-MS/MS法を用いて食品中AGEs含量を測定し、発酵及び熱加工食品に比較的高濃度のAGEsの存在を明らかにした。さらにアミノ酸または蛋白質と糖との糖化モデル反応系を構築して、AGEsの生成条件を解析し、各種食品成分の抗糖化作用を評価した。本研究の成果は、糖化ストレス要因の解明に繋がり、AGEsに起因する疾病の診断・予防に貢献することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AGEsの一斉分析による糖化ストレス解析法は、糖尿病をはじめ、様々な生活習慣病の早期診断への適応だけでなく、疾病の進行度合いの予測や、疾病治療薬開発における薬物治療効果のモニタリングなど様々な応用が期待でき、実用化に繋がる革新的分析技術開発として学術的に意義がある。また、本研究は糖化ストレスや酸化ストレスを予防する機能性食品の開発や生活習慣の改善などに繋がり、疾病の未然予防を社会に広く発信することで、国民の健康の保持増進や疾病の予防・診断に貢献することが期待される。このことは、超高齢化で健康志向が進む我が国において、高齢者の健康寿命の延長、アンチエイジングにおいても社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：An in-tube solid-phase microextraction method was optimized and coupled with LC-MS/MS to develop an automated on-line method for simultaneous analysis of multiple advanced glycation end products (AGEs). The method was selective and sensitive, and allowed non-invasive analysis of pg levels of AGEs in urine and hair. We also measured the AGEs content in foods using LC-MS/MS and found that fermented and heat-processed foods contain relatively high concentrations of AGEs. In addition, we constructed a model reaction system of glycation between amino acids or proteins and sugars, analyzed the conditions for AGEs formation, and evaluated the anti-glycation effects of various food components. The results of this study are expected to lead to the elucidation of glycation stress factors and to contribute to the diagnosis and prevention of AGEs-induced diseases.

研究分野：医歯薬学 薬学・物理系薬学(分析化学)

キーワード：終末糖化産物 オンライン自動分析 AGEs生成 LC-MS/MS分析 バイオマーカー ストレス評価 食品分析 抗糖化作用

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

急速な高齢化に伴い、がんや糖尿病、循環器系疾患、高脂血症などの生活習慣病の有病率が増加している。特に、糖尿病の有病率は、国民健康・栄養調査(2014年)によると、男性で15.5%、女性で9.8%であり、予備軍まで含め成人の約20%は何らかの糖代謝異常を抱えている。糖尿病では、酸化ストレスの亢進が耐糖能の悪化(糖化ストレス)や血管合併症の引き金になると言われており、血糖値が上がると血中のタンパク質と結合してメイラード反応が起こり、様々な終末糖化産物(AGEs)が生成し(Goldin et al. *Circulation* 114 (2006) 597 他)(図1)、酸化ストレスをも引き起こすと言われている。しかし、糖化ストレスと酸化ストレスとの関連性については十分に解明されていない。食品に含まれるAGEsの摂取や生体内AGEsの生成蓄積によって、糖尿病だけでなく、動脈硬化症、慢性腎不全、アルツハイマー病などの発症、重症化に繋がることから(Vistoli et al. *Free Radic. Res.* 47 (2013) 3 他)、これらの疾患を早期発見・予防するために食品や生体内AGEsの測定が重要な課題となっている。しかし、従来のAGEs免疫測定法は、交差反応で必ずしも特異的ではなく、AGEsを一斉分析できないため高価なキットを複数用いなければならない。また、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)法は高感度一斉分析可能であるが、面倒な前処理が必須で手間がかかる。一方、皮膚などのAGEsを蛍光測定する簡易装置も開発されているが、蛍光を持たないAGEsもあり、他の蛍光物質による妨害で正確な測定が困難なため、検出精度の高い選択的かつ高感度な一斉分析法の開発が求められている。

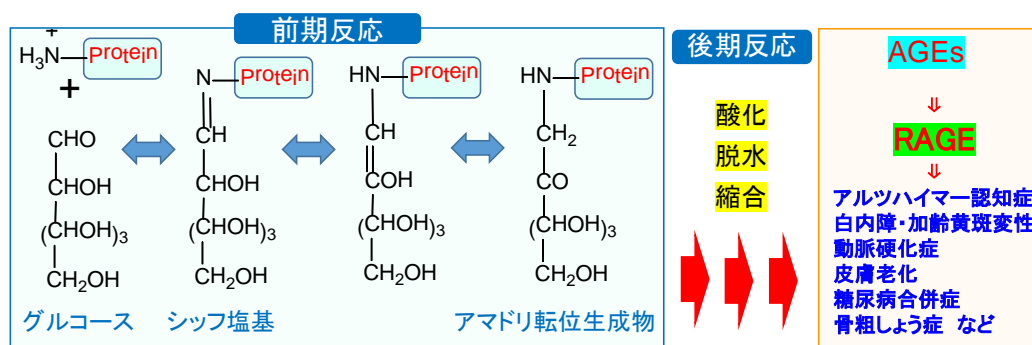


図1 メイラード反応によるAGEs生成と各種疾患の発症

2. 研究の目的

本研究では、試料の抽出濃縮を自動化したインチューブ固相マイクロ抽出(SPME)法(Kataoka: *Anal. Bioanal. Chem.*, 373 (2002) 31; Kataoka & Saito: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 54 (2011) 926 他)とLC-MS/MS法を用いて、複数のAGEsを同時に一斉分析する簡便迅速かつ高感度な新規分析法確立を目的とし、糖化ストレス予防を目指した以下の基礎的、応用的研究を行った。

- (1) インチューブSPME/LC-MS/MSによるAGEs分析法の開発と生体試料分析への応用
- (2) 食品中に生成するAGEsのLC-MS/MS法による含量測定とそれらの存在分布の解析
- (3) アミノ酸またはタンパク質と糖との糖化モデル反応によるAGEsの生成と抑制効果の解析
- (4) 糖化ストレスの引き金となる様々な生体ストレス要因との関連性に関する評価

3. 研究の方法

(1) 試薬及び試液

表1に示すAGEsを分析対象とし、純度の高い分析用標準物質を用いた。また内標準(IS)として、安定同位体標識化合物を用いた。各標準物質は、メタノールに溶解して1 mg/mLとして保存し、精製水で適当な濃度に希釈して使用した。また、糖化モデル反応に、Glucose (GLU)、Galactose (GAL)、Ribose (RIB)、Fructose (FRU)、Glyoxal (GOX)、Methylglyoxal (MGO)、Glucosamine (GLC)の糖類と、Lysine (Lys)、Arginine (Arg)、ウシ血清アルブミン(BSA)、ヘモグロビン(Hb)、コラーゲン溶液、グルテン、カゼイン、牛アキレス腱、鶏軟骨、鶏筋肉などのアミノ酸及びタンパク質を用いた。AGEs生成抑制試験には、ビタミンC、ポリフェノールなど抗酸化作用を有する各種食品成分を用いた。移動相溶媒にはLC-MS用を、その他の試薬類はすべて試薬特級品を用いた。

(2) 装置及び測定条件

LC-MS/MS分析装置はAgilent社のモデル1100シリーズLCとApplied Biosystems社のAPI-4000 MS/MSを連結したシステムを使用した。LC条件はInertSustain C18またはLC-CNを分離カラムとして、ギ酸/メタノール(85:15)を移動相に用いて流速0.2 mL/minで分析した。また、表1に示すMS/MS条件で、ESIポジティブモードでMRM検出、定量した。

表 1 分析対象とした AGEs と MS/MS 条件

AGEs	Mass transition	DP (V)	EP (V)	CE (V)
Carboxymethyl lysine-d4 (CML-d4)	209.3 → 134.4	60	14	20
Carboxymethyl lysine (CML)	205.2 → 130.2	60	14	20
Pyrraline (Pyr)	255.3 → 175.1	60	14	20
Pentosidin (Pent)	378.4 → 187.2	40	14	45
Carboxyethyl lysine (CEL)	219.2 → 130.1	60	14	20
Fructosyl-Lys (F-Lys)	291.0 → 84.3	40	14	30
Arg-pyrimidine (Arg-P)	255.3 → 140.3	50	14	20
Glyoxal hydroimidazolone (G-H1)	215.0 → 100.2	50	14	20
Methylglyoxal hydroimidazolone (MG-H1)	229.2 → 114.3	50	14	20

(3) インチューブ SPME 法

図 2 に示すように、長さ 60 cm のキャピラリーカラムをオートサンプラーのインジェクションループとインジェクションニードルの間に取り付け、Lord ポジションで計量ポンプにより試料溶液の吸入/吐出を繰り返し、キャピラリー内固定相に化合物を抽出濃縮した。その後バルブを Inject ポジションに切り替えて LC-MS/MS システムへ導入、データ解析した。

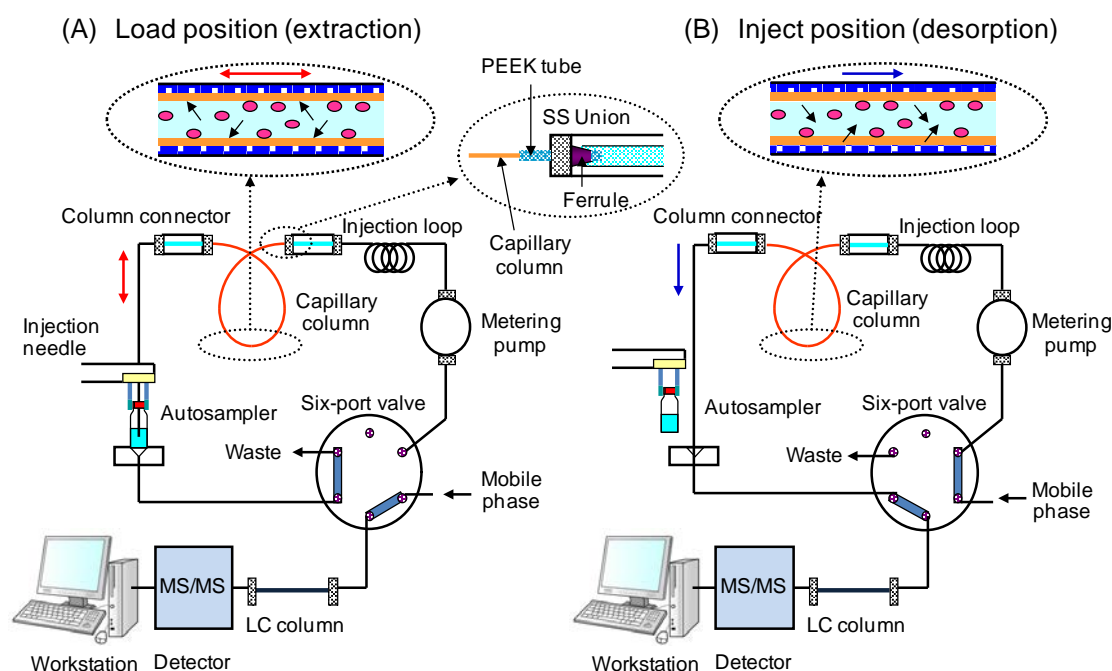


図 2 インチューブ SPME/LC-MS/MS システムの概要

(4) 生体試料及び食品試料の調製

インフォームドコンセントにより同意を得て、健康人ボランティアから尿、唾液、毛髪を得た。尿試料は不溶物がある場合はろ過して直接使い、唾液はサリソフトを用いて採取し、限外ろ過して高分子を除去して用いた。毛髪は、加熱加水分解して、遠心分離後上澄みを試料として用いた。

食品試料は市販のものを用い、加熱加工された試料や褐色のある試料を中心に液体試料 15 種類、固体試料 15 種類を選び計 30 種類を測定した。液体試料は蒸留水で 5~50 倍希釈し、限外ろ過 (3000K) して得られたろ液 0.25 mL に内標準 0.1 mL と水を加えて全量 0.5 mL とし、LC-MS/MS 分析に供した。固体試料は、粉碎混合均一化して約 2~5 mg を遠心管に取り、蒸留水 10 mL でホモジナイズ抽出し、遠心分離後上清をメスフラスコに移して全量 10 mL とした。得られた抽出液 0.25 mL に内標準 0.1 mL と水を加えて全量 0.5 mL とし、LC-MS/MS 分析試料とした。

(5) その他の関連分析法と評価解析

- ① ストレス関連ホルモン類の分析は、Cortisol、Testosterone、dehydroepiandrosterone など分析対象として、インチューブ SPME/LC-MS/MS 法 (Kataoka et al, *Anal. Bioanal. Chem.*, 405 (2013) 331) により唾液及び毛髪試料を分析した。また、生活習慣のアンケートと毛髪中 Nicotine や Cotinine 含量 (Kataoka et al, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 156 (2018) 272) から、慢性的な受動喫煙によるストレスとの関連性を評価した。
- ② 皮膚蛍光物質を測定する市販の簡易型 AGE Reader (Diagnoptics 製、本助成金で購入) を用いて、本研究で開発した AGEs 測定法と比較した。

4. 研究成果

(1) インチューブ SPME/LC-MS/MS による AGEs 分析法の開発と生体試料分析への応用

CML、Pyr、Pent を分析対象としてインチューブ SPME 条件（キャピラリーカラムの種類、吸入/吐出回数など）を最適化したところ、検討した GC キャピラリーの中で Carboxen 1006 PLOT が最もよく、試料 40 μ L を 200 μ L/min の速度で 25 回繰返し吸入/吐出する時、効率よく抽出できた。InertSustainSwiftC18 カラムを用いるとき、いずれの化合物も 4 分以内に一斉分析でき、ESI ポジティブモード MRM 検出により、0.1–5 ng/mL の範囲で作成した検量線はいずれも相関係数 0.997 以上と良好な直線性を示し、pg/mL レベルで高感度定量できた（表 2）。

本法を用いて、非喫煙及び喫煙者の尿及び毛髪試料分析に適用した結果、少量の試料で再現性よく定量でき、非喫煙者に比べ喫煙者の尿及び毛髪中に CML や Pyr が検出された。また本法は、本助成金で購入した AGE Reader を用いた分析法と良い相関性を示した ($R^2=0.8948$)。

表 2 分析法バリデーション

AGEs	Detection limit (pg/mL)	Linearity (n=18)		Precision, RSD (%)	
		Range (ng/mL)	Correlation coefficient	Intra-day	Inter-day
CML	9.32	0.1-5.0	0.9974	1.9	10.7
Pyr	0.953	0.1-5.0	0.9985	2.9	6.6
Pent	5.10	0.1-5.0	0.9996	3.1	4.3

(2) 食品中に生成する AGEs の LC-MS/MS 法による含量測定とそれらの食品分布の解析

食品試料中には比較的高濃度の AGEs が存在するため、インチューブ SPME 法を用いず、直接 LC-MS/MS 法により分析した結果、妨害ピークも少なく良好なクロマトグラムが得られ、ng レベルの AGEs を精度よく定量でき、食品からの回収率も 83% 以上であった。30 種類の食品試料の中で、発酵及び熱加工食品に比較的高濃度の AGEs が検出された（表 3）。特に、CML は醤油、オイスターソース、ポン酢、味噌、鰹節やアーモンドなどに高濃度検出され、Pyr は醤油、味噌、アーモンドなどの他、ビールや発泡酒にも比較的多く含まれていた。一方、Pent はいずれの食品からも全く検出できないか検出限界以下であった。

表 3 食品試料中の AGEs 含量

液体試料	Content/Mean \pm SD (ng/mL)			固体試料	Content/Mean \pm SD (ng/g)		
	CML	Pyr	Pent		CML	Pyr	Pent
麦茶	ND*	ND	ND	パン	41 \pm 1.0	74 \pm 1.0	ND
コーヒー	4 \pm 0.3	9 \pm 0.7	ND	コーヒー豆	ND	48 \pm 4.0	ND
ビール	73 \pm 3.7	805 \pm 33	ND	生アーモンド	619 \pm 6.0	ND	ND
淡黄ビール	37 \pm 0.8	144 \pm 5.4	ND	焼きアーモンド	306 \pm 5.0	539 \pm 5.0	ND
無添加ワイン	80 \pm 1.8	ND	ND	クコの実	153 \pm 1.0	124 \pm 3.0	ND
ワイン	116 \pm 2.8	ND	ND	白イチジク	129 \pm 4.0	25 \pm 2.0	ND
発泡酒	59 \pm 1.5	590 \pm 22	ND	味つけのり	173 \pm 10	102 \pm 1.0	ND
清酒	100 \pm 3.2	ND	ND	鰹節	689 \pm 10	42 \pm 2.0	ND
みりん	193 \pm 5.5	21 \pm 0.3	ND	きなこ	57 \pm 10	162 \pm 2.0	ND
米酢	188 \pm 2.9	26 \pm 0.5	ND	練しょうが	76 \pm 4.0	41 \pm 4.0	ND
ポン酢	745 \pm 25	182 \pm 20	ND	練わさび	49 \pm 2.0	16 \pm 1.0	ND
さしみ醤油	3606 \pm 193	2226 \pm 125	ND	練からし	ND	18 \pm 0.4	ND
醤油	4766 \pm 47	693 \pm 28	ND	ケチャップ	ND	ND	ND
ソース	16 \pm 1.6	ND	ND	味噌	444 \pm 11	1363 \pm 26	ND
オイスターソース	819 \pm 28	255 \pm 7	ND	豆板醤	396 \pm 22	651 \pm 44	ND

*ND: Not detected.

(3) アミノ酸またはタンパク質と糖との糖化モデル反応による AGEs の生成と抑制効果の解析

アミノ酸や蛋白質の還元糖によるメイラード反応で生成する AGEs を LC-MS/MS 分析することにより糖化モデル反応系を構築し、AGEs 生成機構及び各種食品成分の抗糖化作用を解析した。

アミノ酸と糖とのモデル反応において、Lys と GLU、GAL、RIB、FRU との反応により CML が高濃度に生成し、CEL や F-Lys なども確認された（図 3A）。また、Lys と GLC から Pyr が検出された。さらに、Arg と GLU、GAL、RIB、FRU との反応により Arg-P、G-H1 や MG-H1 が検出され、Arg と MGO から Arg-P が検出された（図 3B）。これらの AGEs は高温で生成しやすく、経時的に増加した。また、CML は pH が高いほど生成しやすく、Lys や Arg と GLU の濃度及び比率に依存することがわかった。一方、タンパク質と糖との反応では、BSA、Hb、コラーゲン、グルテン、カゼインなどのタンパク質と GLC との反応により Pent が比較的高濃度で検出されたほか、BSA と GLU、GAL、RIB、FRU との反応により CML や CEL が、BSA やカゼインと GLC との反応により Pyr が検出された（図 4）。また、牛アキレス腱などの実試料でも、GLU 未添加の場合に比べ GLU を添加すると、明らかに試料が褐変して糖化し AGEs 生成が認められた。

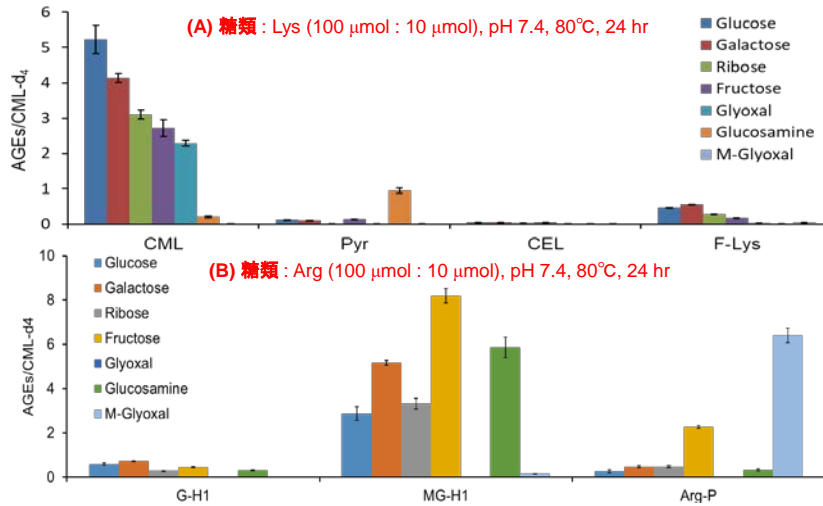


図3 糖類と Lys または Arg との反応による AGEs 生成

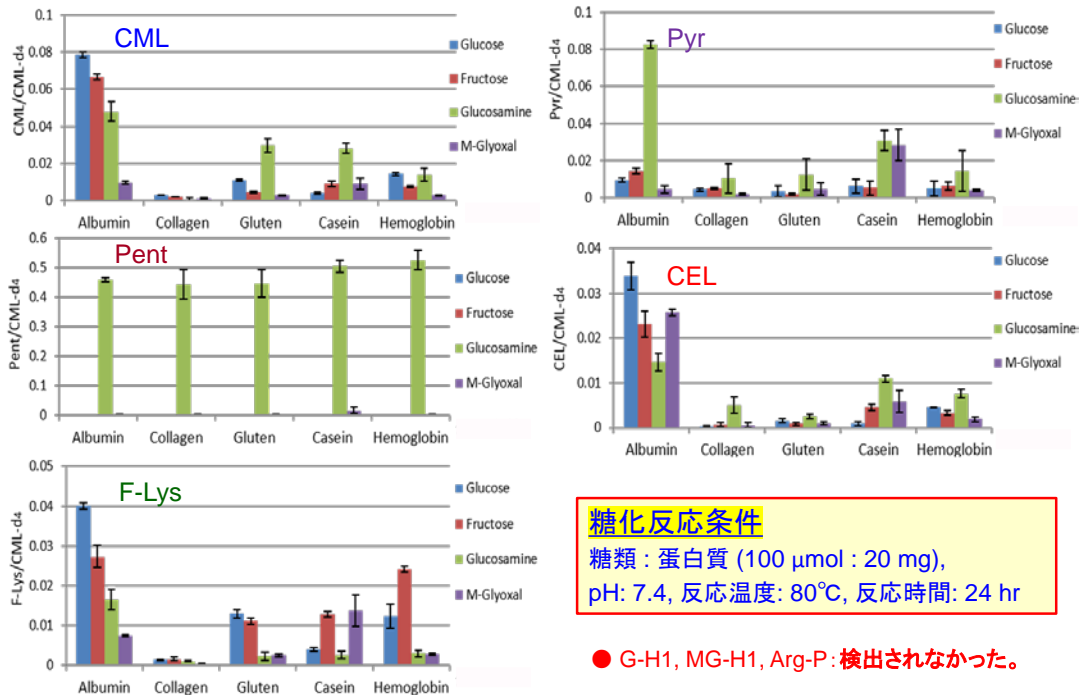


図4 糖類と蛋白質との反応による AGEs 生成

Lys と GLU (1 : 25) を 80°C で 24 時間反応して生成する AGEs をコントロールとし、各種食品成分添加による AGEs 生成割合を比較し抗糖化作用を評価した。Vitamin C 添加では低濃度で CML 生成を抑制し高濃度では促進するが、Pyr 生成は大幅に抑制された。その他、Curcumin や Catechin などにも生成抑制効果が認められた。また、Arg と GLU との反応による AGEs 生成は、Curcumin、Catechin、Quercetin の添加で G-H1、MG-H1 や Arg-P の生成が大幅に抑制された。

(4) 糖化ストレスの引き金となる様々な生体ストレス要因との関連性に関する評価

健康人ボランティアにおいて、唾液中ストレス関連ホルモン類の含量と AGE Reader を用いて測定した皮膚蛍光物質レベルとの間に、顕著な相関性は認められなかった。また、生活習慣アンケートで、非喫煙者の中で受動喫煙の自覚がない人においても毛髪中にタバコ煙曝露マーカーである Nicotine や Cotinine が検出されたが、これらの Nicotine は酸化ストレスや糖化ストレスの要因として知られており、AGEs 生成との関連を今後解析する予定である。

【結語】

本研究で開発した分析法を用いれば、煩雑な試料前処理を必要とせず、AGEs を選択的かつ高感度に分析でき、構築した糖化モデル反応系は AGEs 生成・抑制作用を効果的に評価できる。また AGEs は非酵素的に生体内や食品中に生成するが、体内に蓄積した AGEs の約 30% は食事由来と言われており、加熱調理の温度制御や抗酸化性食品の添加などで糖化を抑えられれば AGEs 摂取量削減に繋がる。これらの成果は、糖化ストレス要因の解明や、AGEs に起因する疾病の診断・予防、健康の保持増進に貢献することが期待され、本研究の学術的・社会的意義は大きい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Akihiro Saito, Mariko Hamano, Hiroyuki Kataoka	4. 巻 41
2. 論文標題 Simultaneous analysis of multiple urinary biomarkers for the evaluation of oxidative stress by automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with negative/positive ion-switching mode liquid chromatography-tandem mass spectrometry.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Separation Science	6. 最初と最後の頁 2743 ~ 2749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jssc.201800175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takehito Inukai, Sanae Kaji, Hiroyuki Kataoka	4. 巻 156
2. 論文標題 Analysis of nicotine and cotinine in hair by on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as biomarkers of exposure to tobacco smoke.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 272 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2018.04.032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Atsushi Ishizaki, Akiko Uemura and Hiroyuki Kataoka	4. 巻 9
2. 論文標題 Sensitive method to determine melatonin in saliva by automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with stable isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 3134 ~ 3140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7AY00622E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka	4. 巻
2. 論文標題 PHARMACEUTICAL ANALYSIS/Sample Preparation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 1~25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-409547-2.14358-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kataoka Hiroyuki	4. 巻 1636
2. 論文標題 In-tube solid-phase microextraction: Current trends and future perspectives	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 461787 ~ 461787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2020.461787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizaki Atsushi, Kataoka Hiroyuki	4. 巻 26
2. 論文標題 Online In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled to Liquid Chromatography?Tandem Mass Spectrometry for the Determination of Tobacco-Specific Nitrosamines in Hair Samples	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2056 ~ 2056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26072056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kataoka H.	4. 巻
2. 論文標題 Recent Advances in Online Column-Switching Sample Preparation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering	6. 最初と最後の頁 1~31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/B978-0-12-409547-2.14547-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計38件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷野雄一、片岡洋行
2. 発表標題 食品中に生成する終末糖化産物（AGEs）のインチューブSPME / LC - MS/MS分析
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 百相真希、石崎厚、片岡洋行
2. 発表標題 受動喫煙バイオマーカーとしての毛髪中ニコチン及びコチニンのインチューブSPME / LC - MS/MS分析
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 多田純平、片岡洋行
2. 発表標題 LC - MS/MS法による終末糖化産物AGEs生成の解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 人見崇史、片岡洋行
2. 発表標題 インチューブSPME / LC - MS/MSによるステロイドホルモン類のオンライン自動分析法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片岡洋行、加地早苗、犬飼勇仁、百相真希、石崎厚
2. 発表標題 In-tube SPME/LC-MS/MS法による受動喫煙バイオマーカーの高感度分析法の開発と生体曝露評価
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 百相真希、加地早苗、石崎厚、片岡洋行
2. 発表標題 毛髪中ニコチン及びコチニンをバイオマーカーとした燃焼式及び加熱式タバコによる受動喫煙の影響評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津崎晶子、北川菜絵、片岡洋行
2. 発表標題 毛髪中ストレス関連ホルモン類をバイオマーカーとした慢性ストレス評価法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷野雄一、片岡洋行
2. 発表標題 インチューブSPME / LC-MS/MSによる食品中AGEsの高感度分析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 百相真希、石崎厚、片岡洋行
2. 発表標題 受動喫煙バイオマーカーとしての毛髪中ニコチン及びコチニンのインチューブSPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷野雄一、片岡洋行
2. 発表標題 インチューブSPME / LC-MS/MSによる食品中AGEsの高感度分析
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 犬飼勇仁、加地早苗、片岡洋行
2. 発表標題 毛髪中ニコチン及びコチニンのオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 第 28 回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 毎床比呂冬、宗岡哲也、片岡洋行
2. 発表標題 糖化ストレスバイオマーカーとしてのAGEsのオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金光祐美、井上勉、片岡洋行
2. 発表標題 受動喫煙バイオマーカーとしての毛髪中ヘテロサイクリックアミン類のオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加地早苗、犬飼勇仁、片岡洋行
2. 発表標題 受動喫煙バイオマーカーとしての毛髪中ニコチン及びコチニンのオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石崎厚、片岡洋行
2. 発表標題 受動喫煙バイオマーカーとしてのタバコ特異的ニトロソアミン類のオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS分析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野祥之、多田純平、片岡洋行
2. 発表標題 糖化モデル系の構築と食品成分によるAGEs生成抑制効果の解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 難波拓也、谷野雄一、片岡洋行
2. 発表標題 LC - MS/MSによる食品中終末糖化産物AGEsの高感度分析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田純平、河野祥之、片岡洋行
2. 発表標題 アミノ酸及びタンパク質の糖化モデル反応によるAGEs生成のLC - MS/MS分析
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡洋行、東ひとみ、百相真希
2. 発表標題 受動喫煙による毛髪中ニコチン及びコチニンレベルとその曝露源の解析
3. 学会等名 第29回環境化学討論会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka (Pharmaceutical Analysis/Sample Preparation, Vol. 8, 231-255.)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Elsevier (DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14358-6)	5. 総ページ数 5,109
3. 書名 Encyclopedia of Analytical Science 3 rd Edn, (Edited by P. Worsfold, A.Townshend, C. Poole, M. Miro;)	

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka, Atsushi Ishizaki, Keita Saito (Online automated micro sample preparation for high-performance liquid chromatography.)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 InTech (DOI: 10.5772/intechopen.89079) Open Access	5. 総ページ数 -
3. 書名 Chromatography-Separation, Identification and Purification Analysis, (Edited by N. Awwad)	

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka (Chapter 1 Sample Preparation for Liquid Chromatography)	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 813
3. 書名 Liquid Chromatography Volume 2 Applications (Edited by S. Fanali, P.R. Haddad, C.F. Poole, M.-L. Riekkola)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

researchmap https://researchmap.jp/read2020-HKshujitsu ResearchGate https://www.researchgate.net/profile/Hiroyuki-Kataoka Scopus https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7202767326 Google Scholar https://scholar.google.com/citations?user=YqkZlla4AAAAJ&hl=ja ORCID iD https://orcid.org/0000-0003-2315-6051 就実大学ホームページ https://www.shujitsu.ac.jp/yakugaku_site/faculty-introduction/basis/#basis01

6. 研究組織			
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)		備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------