

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06990

研究課題名（和文）検体・項目多重化によるステロイドホルモンのハイスループットLC/MS検査法の開発

研究課題名（英文）Development of enhanced throughput LC/MS assays of steroid hormones based on sample and analyte-multiplexing

研究代表者

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

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ステロイドホルモンのLC/MS検査におけるスループットの大幅向上を全体目標に設定し、原発性アルドステロン症、加齢男性性腺機能低下症候群、骨粗鬆症を対象疾患として、それらの診断及び治療マーカーとなるステロイドホルモンに対し、複数のMSタグを用いる「検体・項目多重化（SAM）技術」を提案・開発した。本技術の導入により、従来法と比べてLC/MS運転時間が最大で60%も短縮され、しかも2項目の測定結果が同時に得られることから、大幅なハイスループット化が達成された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、ステロイドホルモンのLC/MS検査の実用化を阻んでいる「スループットの低さ」が、適切にデザインされたMSタグを利用する「検体・項目多重化（SAM）技術」によって克服できることが示された。すなわち、本成果は各病院・検査機関が現有するLC/MS装置でも検査のハイスループット化が可能であることを証明しており、ステロイドホルモン検査には正診度及び医療経済性に優れるLC/MSを第一手法とすべきことを強く提言するものである。

研究成果の概要（英文）：The novel methods employing multiple MS tags, named as “SAM (Sample and Analyte-Multiplexing)”, were proposed and developed to enhance the throughput of the LC/MS-based tests for some steroid hormones, which are currently used as the diagnostic and therapeutic markers for primary aldosteronism, late-onset hypogonadism syndrome and osteoporosis. By the SAM methods, the total LC/MS run times were reduced by up to 60%, compared with those in the previous methods. Furthermore, the newly developed methods enabled the simultaneous measurements of two steroid hormones which are hitherto measured by the two separate methods; this capability further enhanced the assay throughput.

研究分野：分析科学

キーワード：検体・項目多重化 ハイスループット ステロイドホルモン LC/MS 臨床検査 誘導体化 MSタグ

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。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ステロイドホルモン及び関連化合物の現在の臨床検査手法の主流はイムノアッセイであるが、本法は抗体の交差反応などに起因する測定値の変動、異常、延いては再検査や誤診の問題を抱えている。これを特異性に勝るLC/MSに置き換えられれば、検査の信頼性が高まり、被検者のメリットは大きい。さらに、LC/MSは検査コスト削減にも貢献できることから、イムノアッセイからLC/MSへの移行は不可避と言える。しかし、現場はLC/MSのスループットの低さを問題視し、この移行が進まない。

現時点でのLC/MS検査のハイスループット化方策は、超高速LCの利用のみである。これと相乗的に働くMS側の新技術を生み出せば、LC/MS検査の大幅なハイスループット化が期待できる。我々はここ数年間、複数のESI-MS/MS用誘導体化試薬 (MSタグ) を利用する多検体一括測定法に取り組み、一定の成果を挙げてきた。すなわち、 $n$ 個の検体を $n$ 種のMSタグで別々に標識した後、一つにまとめてLC/ESI-MS/MSに付すと、1検体分の測定時間で $n$ 検体の検査値が得られるというものである。しかし、本研究開始時点ではイムノアッセイと同じく、1測定系で1化合物しか対応できていなかった。LC/MSの強みの一つに「同一測定系で複数の化合物の同時測定が可能」が挙げられるが、物理化学的性質や検体中濃度が大きく異なる場合、2化合物でさえ達成は難しく、実際には別々の測定系で対応せざるを得ないのが現状であった。そこで本研究では、検査需要の高いステロイドホルモンを対象とし、複数検体に加えて、現在は別々に測定されている2化合物 (2つの独立した測定系が必要である検査項目) も同時に測定できる検体・項目多重化 (Sample and Analyte-Multiplexing) LC/MS = SAM-LC/MS検査手法の開発を課題とした。

### 2. 研究の目的

検査需要が高く、かつ誘導体化による高感度化が有効である以下の(1)~(3)を対象項目 (疾患とその診断・治療マーカーステロイド) として、SAM技術を基盤とした実用性の高いLC/MS検査法の開発を目的とした。

- (1) 超選択的副腎静脈採血 (ssAVS) とSAMを組み合わせた原発性アルドステロン症 (PA) のLC/MS検査法
- (2) 加齢男性性腺機能低下症候群 (LOH症候群) のSAM-LC/MS/MS検査法
- (3) 女性の骨粗鬆症 (OP) のSAM-LC/MS検査法

LC/MS検査の最大の弱点・臨床実用を阻む原因を「スループットが現場で許容されるレベルにないこと」とであると分析し、この点を独自のMSタグを用いるSAM技術を開発すれば克服できると考えた。すなわち、「1. 研究開始当初の背景」で述べた通り、検査需要の高いステロイドホルモンを対象とし、複数検体に加えて、現在は2つの独立した測定系が必要であり、別々に測定されている2化合物を同時に測定できるSAM-LC/MS検査手法の開発を最終目標とした。これが達成されれば、LC/MS検査において複数検体 ( $n$ )  $\times$  2化合物 =  $2n$ 倍の大幅スループット向上が実現する。なお、SAMに用いるMSタグは検査現場を考慮し、検体と混ぜて15分程度放置するだけで機能するものを設計・開発する。3年の研究期間内で、上記の項目のそれぞれのSAM技術の開発を出発点とし、LC/MS検査法を確立すること、そして単に方法論の開発にとどまらず、検査現場への普及を最大限に考慮し、実試料を用いた実用性の評価までを期間内の達成目標とした。

### 3. 研究の方法

「2. 研究の目的」に記した(1)~(3)の検査項目に対してSAM-LC/MS検査手法を、MSタグの合成 → LC/MSへの導入 → 実用性 (ハイスループット化の成否、精度など) の評価、の流れで開発した。ハイスループット化の達成度は、少なくとも数十の実試料分析を行い、合計の所要時間から評価した。以下に各項目に関して述べる。

#### (1) ssAVSとSAMを組み合わせたPAのLC/MS検査法

PAでは、多くは左右片方の副腎からアルドステロン (ALD) が過剰に分泌され、それが原因で高血圧をきたす。検査では左右副腎のそれぞれ3か所の静脈支脈から部位選択的に採血するssAVSとこれに続くALD濃度測定、その結果に基づくALD過剰分泌副腎の同定を行い、病変副腎あるは病変部位を摘除する。摘除ができない場合は薬物療法が選択される。ALDの測定は現在、イムノアッセイにより行われているが、感度、信頼性、さらにはスループットに優れる新規LC/MS検査法の開発が急務である。ALDやssAVSの成否の判断マーカーであるコルチゾールなどのケトステロイドの誘導体化にはGirard試薬が有用である。そこで荷電構造の異なるGirard試薬3種とそれらのアイソトポログ (重水素標識体) の計6種の試薬を用意し、それらをLC/ESI-MS/MSによるssAVS血清分析に導入した。なお、共同研究者の西本博士は我が国のssAVS技術の第一人者であり、その成否のためのコルチゾールの測定が不要と判断されたことから、本研究は測定対象を当初のALDとコルチゾールの2ホルモンからALDの1つに絞り、実施した。ただし、開発した方法はコルチゾールやコルチゾンも同時に測定できることを確認済みである。次に少量の血清で、かつ

簡便に測定が可能な前処理法，LC/ESI-MS/MS分析条件を確立した．各種バリデーション試験を実施し，本法の感度，精度，正確度，特異性などを確認した．最後に分析スループット，すなわち，LC/ESI-MS/MS運転時間を従来法と比較し，開発した方法の実用性を評価した．

## (2) LOH症候群のSAM-LC/MS/MS検査法

LOH症候群は男性において加齢によるテストステロン (TST) の産生・分泌量の減少に伴って生じる様々な身体的・精神的障害である．現在，LOH症候群の診断は血中TST測定によりなされているが，それだけでは血中TST濃度の概日リズムの影響で正診率が低い．この課題に対し，TSTの前駆体とも言え，半減期の長いデヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEAS) を同時に測定することで診断確度が向上すると考えられる．しかし，ESI(+)/(-)モードの瞬時切り替え機能がない汎用LC/MS装置では，TST [(+)モード] とDHEAS [(-)モード] の同時測定ができない．このため，現状はホルモンごとの2つのイムノアッセイに依存している．そこで，「(1) ssAVSとSAMを組み合わせたPAのLC/MS検査法」で用いたGirard試薬の中から，DHEASをESI(+)-モードで高感度に応答させ，TSTとの同時測定に適したそれらを選抜した．結果として，4種のGirard試薬を組み合わせて用いるとき，最良の結果が得られることが判明した．次に血清4検体を除タンパク後，選抜した試薬で処理し，SAM-LC/MS測定系を確立した．各種バリデーション試験を実施し，分析時間や精度などから実用性を評価した．

## (3) 女性の骨粗鬆症 (OP) のSAM-LC/MS検査法

集団検診における若年女性の将来の骨粗鬆症 (OP) リスク評価，高齢女性のOP診断のための，エストラジオール ( $E_2$ ) と25-ヒドロキシビタミン $D_3$  (25VD $_3$ ) を同時に，かつ6被検者からの検体の一括LC/MS測定法の開発を試みた．両化合物に対しては，LC/MSでも感度・特異性の改善のために， $E_2$ はダンシルクロリド，25VD $_3$ はDAPTADなどのCookson型試薬と，別々のMSタグを用いる誘導体化が必要で，イムノアッセイのみならずLC/MSでも同時測定系はない．最近，Cookson型試薬が25VD $_3$ ばかりか， $E_2$ とも反応して誘導体を与えることが報告された．そこで，DAPTADのアイソトポログやアナログの合成を企て，実施した．しかし，上記の報告とは異なり， $E_2$ と種々のCookson型試薬との反応が満足に進行しないことが判明した．そこで， $E_2$ と25VD $_3$ をそれぞれに適した試薬で順次に誘導体化した後，同一のLC運転で定量する新規方法の開発に方針を転換し，検討した．この方法では複数の誘導体化試薬が必要となるものの，同一検体で順次の誘導体化が実現できれば，その後のLC/MS運転時間の短縮が期待できる．

## 4. 研究成果

### (1) ssAVSとSAMを組み合わせたPAのLC/MS検査法

PA治療ではALD過剰産生部位の特定が最重要であり，ssAVSによりその成功率が向上する．ssAVSでは通常，左右副腎のそれぞれ3か所の静脈支脈から採血することから，現状では1被検者当たり6部位のイムノアッセイ (6測定) が実施されており，手間とコストがかかる．そこでまず，6検体一括測定用のMSタグのセットを開発した．すなわち，まず，既存のGirard試薬T及びP (GT及びGP) をこのセットに組み入れ，それらの重水素標識体 (それぞれ $^2H_3$ -及び $^2H_5$ -体) を合成した．さらに3-メチルピリジル基を有する新規試薬，G3MPとその $^2H_7$ -体も合成し，6種のGirard試薬を用意した．次にこれらを用いて左右副腎のそれぞれ3支脈のssAVS血清中ALD濃度を1回のLC/ESI-MS/MS運転で測定する系を構築した．本法は，必要な血清量はわずか25  $\mu$ L，前処理は除タンパクと固相抽出による簡便なものである．誘導体化のおかげで (感度：13 - 20倍向上)，このような少量の血清で1.0 ng/mLの定量限界が得られた．さらに各種バリデーション試験の結果，本法は高い精度 (日内・日間変動試験：RSD $\leq$ 8.3%)，正確度 (98.0 - 103.2%) を有すること，6検体分の血清が合わさったマトリックスの影響は問題とならないことが明らかとなった．本法は1回の測定で6つのssAVS試料のALD定量が可能なることから，試料間の直接比較が可能で，ALD産生腫瘍 (APA) に代表されるALD過剰産生部位の特定が容易かつ高精度であった．すなわち，片側性PAと診断された患者4人から得られたssAVS試料を分析したところ，血清ALD濃度が異常高値を示す試料が見つかり，それらの採取部位は，摘除後の病理検査でAPAが検出された部位と完全に一致した．さらに両側性の副腎過形成に対しては，左右副腎の複数部位でALD濃度が高値であることが確実に見付けられた．このように開発した方法は，ssAVSと組み合わせることにより，PAの病型 (片側性または両側性) や病変部位の特定に有用であることが明らかとなった．また，4人の患者のssAVS試料 (4 $\times$ 6 = 24試料) の前処理後の分析時間は，1検体ずつ測定する従来法のそれと比べて，約3分の1 (250分 → 80分) であり，本研究の第一目的である大幅な時間短縮，すなわち，スループットの向上も達成された．このように，本研究課題の肝であるSAM技術の開発とそれを用いたssAVS血清中ALDの6検体一括定量法の確立まで到達でき，そしてハイスループット化，実試料を用いた臨床応用性の確認もできた．これらの成果を学術集会ならびに学術誌で発表した．

### (2) LOH症候群のSAM-LC/MS/MS検査法

LOH症候群の第一診断指標である血清TSTと診断確度を向上させるDHEASの同時・4検体一括

測定法を開発した。「(1) ssAVSとSAMを組み合わせたPAのLC/MS検査法」で用いたGirard試薬の中から、DHEASをESI(+)-モードで高感度に応答させ、TSTとの同時測定に適した4種 (GT, GP,  $^2\text{H}_3$ -GT及び $^2\text{H}_5$ -GP) を選抜した。当初は6検体一括定量を目指したが、TST, DHEAS及びそれぞれの内標準物質 (IS) の4種のステロイドに対して6種の試薬を用いると計24種の誘導体が生成し、それらを同時にモニターする場合、MS装置の性能が追いつかなかった。すなわち、1誘導体当たりのデータ取り込みポイントが少なくなり、定量の精度・正確度の低下が生じた。この問題から、4検体一括へと下方修正せざるを得なかった。なお、この問題は最新の装置を使用することで解決できると推測された。40  $\mu\text{L}$ の血清を除タンパク及び固相抽出にて精製し、誘導体化に付した。固相抽出では、TST (ng/mLオーダー) とDHEAS ( $\mu\text{g/mL}$ オーダー) の大きな濃度差に注意し、ここでも装置面の限界 (ダイナミックレンジ) から、あえてDHEASの回収率を低くする手法を採用した。各種バリデーション試験を実施し、本法が精度、正確度に優れ、血清マトリクスの影響を受けないことを証明した。肝心のハイスルーブット化については、本法を用いるとき、1検体ずつ測定する、いわゆる通常のLC/MS法と比較して、40検体の測定において前処理以降にかかる時間が40%に短縮された。このように、SAM技術のための適切な試薬の選択、物理化学的性質及び血中濃度差の大きいTSTとDHEASの同時定量のための前処理法、LC及びESI-MS/MS条件の最適化などを経て、十分な性能を有する方法が確立できた。これらの成果を学術集会ならびに学術誌で発表した。

さらに、臨床ではDHEAS単独の測定もされることから、よりスルーブットに優れる本ステロイドのLC/ESI-MS/MS測定法を構築した。わずか5  $\mu\text{L}$ の血清を除タンパク後、その一部を上記と同じ4種の試薬で直接 (溶媒留去なし) 誘導体化し、LC/ESI-MS/MSに付すものである。LC運転時間 (1サイクル) は6分で、精度、正確度、特異性も満足し得る結果が得られた。本手法では誘導体化を含めて90分で36検体の測定が可能であった。これらの成果も学術集会ならびに学術誌で発表した。

### (3) 女性のOPのSAM-LC/MS検査法

まず、Cookson型試薬がビタミンD化合物のみならず、 $\text{E}_2$ とも反応してLC/ESI-MS/MSに有利な誘導体を与えるとの報告に基づき、DAPTADのアイソトポログ ( $^2\text{H}_3$ -及び $^2\text{H}_6$ -体) やアナログ (4-[4-(1-piperidiny)phenyl]-1,2,4-triazoline-3,5-dione: PIPTAD) を合成した。これらの試薬はビタミンD化合物に対して良好な結果を与えたものの、期待に反し、 $\text{E}_2$ との反応では進行が極めて遅く、さらには多くの副生成物を生じた。そこで方針を転換し、 $\text{E}_2$ と $25\text{VD}_3$ をそれぞれに適した試薬で誘導体化した後、同一のLC運転で定量することでスルーブットの向上を図る新規方法の開発を企てた。まず、 $\text{E}_2$ 用の誘導体化試薬について検討したところ、1-(2,4-dinitro-5-fluorophenyl)-4,4-dimethylpiperazinium iodideが $\text{E}_2$ と定量的に反応し、ESI-MS/MSで高強度かつ $\text{E}_2$ 骨格を含む高特異的なプロダクトイオンを与えるなど、他の試薬より優れた特性を示した。特に、 $\text{E}_2$ 測定に汎用されているダンシルクロリドよりもシグナル-ノイズ比を基準にすると、血清分析において数倍の高感度・高特異性が認められた。一方、今回合成したPIPTADの特性を精査したところ、DAPTADをはじめとする既存のCookson型試薬を検出感度、LC挙動の面において凌駕するという結果を得た。今後、これらの試薬の臨床適用性を調べ、さらにはそれぞれのアイソトポログを合成することにより、 $\text{E}_2$ と $25\text{VD}_3$ のSAM技術の開発が可能と期待された。

なお、PIPTADは尿中のグルクロン酸抱合型ビタミンD<sub>3</sub>代謝物の特異検出、抱合位置決定に有用なことを見出し、これを用いてヒト尿中の23,24-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>-23-グルクロニドの同定に成功した。この成果を学術誌に発表した。

### (4) その他

本研究課題は、以前の科学研究費課題「MS臨床検査をハイスルーブット化するアナログ/アイソトポログ誘導体化法の開発 (17K08250)」と密接に関連し、連続的に実施されたものである。そのため、以前の課題において開発した手法の最終的な評価も行い、論文化した。以下にその項目を記す。

血漿中一次胆汁酸の3検体一括定量法

血清中 $17\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンの4検体一括定量法

尿中ヘキサノイルグリシンの3検体一括定量法

さらに、当初の計画には無かったが、isotope-coded derivatization (ICD) に基づく血清中 $\gamma$ -アミノ酪酸の新規定量法も開発した。すなわち、4-diethylaminobenzoic acid *N*-succinimidyl ester (DEABAS) とその $^2\text{H}_6$ -体を合成し、後者による誘導体を内標準物質として利用する高精度・正確な新規定量法を構築し、学術集会でのポスター及び論文として発表した。

このように本研究では種々の疾病と関連して体内レベルが変動するステロイドホルモンに対し、その検査手法のイムノアッセイからLC/MSへの移行、すなわち、LC/MS検査の本格的現場導入を目標に、これを妨げているLC/MSの低いスルーブットを解決する方策として、検体・項目多重化 = SAMという新コンセプトを提案した。そしてMSタグのデザイン・合成を出発点に、実試料を用いた評価を経て新規LC/ESI-MS/MS手法を確立した。女性のOPに対して $\text{E}_2$ と $25\text{VD}_3$ の同時測定SAM技術の確立に至らなかったこと (現在、開発途中)、LOH症候群の検査では当初に目指した同時分析検体数に及ばなかったことなど、達成度は必ずしも100%とは言えない。しかし、

前者についてはE<sub>2</sub>と25VD<sub>3</sub>それぞれの測定に適したMSタグを新たに見出しており、これらの順次的な誘導体化法が確立すれば、同一運転での測定、延いてはスループットの向上が可能と考えられた。また、後者の問題は装置の性能によるところが大きく、最新の装置の使用により同時分析検体数の増加も実現できると推測される（6種のMSタグは既に用意済み）。本研究で得られた知見が、LC/MS臨床検査の推進に役立つことを期待したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9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 Takada Kazunari, Ogawa Shoujiro, Yoshida Natsuki, Higashi Tatsuya	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Separation and identification of monoglucuronides of vitamin D3 metabolites in urine by derivatization-assisted LC/ESI-MS/MS using a new Cookson-type reagent	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s44211-023-00350-4	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 Ohta Arisa, Hobo Wataru, Ogawa Shoujiro, Sugiura Yuki, Nishikawa Tetsuo, Nishimoto Koshiro, Nishimoto-Kusunose Shoichi, Higashi Tatsuya	4. 巻 207
2. 論文標題 A method for determination of aldosterone concentrations of six adrenal venous serum samples during a single LC/ESI-MS/MS run using a sextet of Girard reagents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 114423 ~ 114423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jpba.2021.114423	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 Fujimura Shunsuke, Ito Takenori, Ogawa Shoujiro, Ishige Takayuki, Nishimoto-Kusunose Shoichi, Higashi Tatsuya	4. 巻 38
2. 論文標題 An LC/MS/MS method for quantifying testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in four different serum samples during a single run	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 167 ~ 173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/analsci.21P268	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 Mikami Yohei, Aizawa Mizuo, Toda Ryoko, Ogawa Shoujiro, Nishimoto-Kusunose Shoichi, Ishige Takayuki, Higashi Tatsuya	4. 巻 43
2. 論文標題 Application of 4-diethylaminobenzoic acid N-succinimidyl ester and its deuterated isotopologue as derivatization reagents to quantitative analysis of $\gamma$ -aminobutyric acid in plasma by LC/ESI-MS/MS	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CHROMATOGRAPHY	6. 最初と最後の頁 53 ~ 58
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15583/jpchrom.2022.004	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 Hobo Wataru, Jo Akihiro, Koyagi Sae, Ogawa Shoujiro, Nishimoto-Kusunose Shoichi, Higashi Tatsuya	4. 巻 43
2. 論文標題 LC/ESI-MS/MS quantification of hexanoylglycine in three different urine samples within a single run using triplex 1-[(4-diethylaminophenyl)carbonyl]piperazine isotopologues	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CHROMATOGRAPHY	6. 最初と最後の頁 111 ~ 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2022.010	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 Aso Saki, Ogawa Shoujiro, Nishimoto Kusunose Shoichi, Satoh Mamoru, Ishige Takayuki, Nomura Fumio, Higashi Tatsuya	4. 巻 35
2. 論文標題 Derivatization based quadruplex LC/ESI-MS/MS method for high throughput quantification of serum dehydroepiandrosterone sulfate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedical Chromatography	6. 最初と最後の頁 e5027 ~ e5027
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bmc.5027	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 Kamemura Miki, Yokota Mai, Ogawa Shoujiro, Sugiura Takahiro, Higashi Tatsuya	4. 巻 1146
2. 論文標題 Sample-multiplexing by derivatization using multiple analogous reagents for enhancing throughput in LC/ESI-MS/MS assay of steroids: Plasma 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone as an example	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography B	6. 最初と最後の頁 122117 ~ 122117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jchromb.2020.122117	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 Jo Akihiro, Koyagi Sae, Hobo Wataru, Otani Saori, Ogawa Shoujiro, Higashi Tatsuya	4. 巻 36
2. 論文標題 Enhancing LC/ESI-MS/MS throughput for plasma bile acid assay by derivatization-based sample-multiplexing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1099 ~ 1104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20P082	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 Higashi Tatsuya, Ogawa Shoujiro	4. 巻 1634
2. 論文標題 Derivatization-based sample-multiplexing for enhancing throughput in liquid chromatography/tandem mass spectrometry quantification of metabolites: an overview	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 461679 ~ 461679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2020.461679	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 -

[学会発表] 計8件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 帆保 航, 城 彰宏, 小八木 冴, 小川祥二郎, 楠瀬翔一, 東 達也
2. 発表標題 DEAPPZアイトポログ誘導体化による尿中hexanoylglycineの3検体一括LC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第33回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 太田有紗, 帆保 航, 水元優花, 楠瀬翔一, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 西本紘嗣郎, 東 達也
2. 発表標題 6種のGirard試薬を用いた副腎静脈血清中アルドステロンの6検体一括LC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第46回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 帆保 航, 城 彰宏, 小八木 冴, 小川祥二郎, 楠瀬翔一, 東 達也
2. 発表標題 DEAPPZアイトポログを用いるhexanoylglycineの尿3検体一括LC/ESI-MS/MS定量法
3. 学会等名 第32回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Higashi
2. 発表標題 Enhancing sensitivity, specificity and analysis throughput for LC/ESI-MS/MS assessment of vitamin D status by derivatization with DAPTAD
3. 学会等名 31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (PBA2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 東 達也, 麻生早希, 小川祥二郎, 佐藤 守, 石毛崇之, 野村文夫
2. 発表標題 Girard試薬アナログ及びアイソトポログを用いた血清中DHEASの4検体一括LC/MS/MS定量
3. 学会等名 日本臨床化学会第60回年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三上洋平, 合澤瑞朗, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 DEABNS: アミン用LC/ESI-MS/MS誘導体化試薬としての評価
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤村俊輔, 伊藤孟徳, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 2種のGirard試薬とそれらのアイソトポログを用いる血清中アンドロゲンの4検体一括LC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 帆保 航, 小八木 冨, 太田有紗, 楠瀬翔一, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 東 達也
2. 発表標題 6種のGirard型試薬を用いた副腎静脈血清中アルドステロンの6検体一括LC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担者	石毛 崇之  (Ishige Takayuki)  (30757315)	千葉大学・医学部附属病院・臨床検査技師   (12501)	

	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
研究 協力者	西本 紘嗣郎  (Nishimoto Koshiro)		
研究 協力者	杉浦 崇浩  (Sugiura Takahiro)		

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
---------	---------