

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08250

研究課題名(和文) MS臨床検査をハイスループット化するアナログ/アイソトポログ誘導体化法の開発

研究課題名(英文) Development of derivatization procedures using reagent analogues and isotopologues for enhancing throughput of mass spectrometry-based clinical examinations

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：質量分析による臨床検査(MS臨床検査)は正診度が高く経済性に優れるにもかかわらず、そのスループットの低さのために臨床導入・社会実装が進まない。そこでビタミンD欠乏症、女性ホルモン依存性癌、原発性アルドステロン症などに対し、MS臨床検査のスループットを向上させる新規技術として、誘導体化試薬アナログ/アイソトポログのセット、並びにそれらを用いる多検体一括測定法を考案・開発した。これらは従来法と比べて、前処理後の分析時間を最大で60%も短縮でき、十分な実用性も有していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、MS臨床検査の最大の弱点であるスループットの低さが、適切にデザインされた誘導体化を基盤とする多検体一括定量、すなわち化学的アプローチによって克服できることが証明された。本成果は、各病院・検査機関が現有する装置を用いてハイスループットMS臨床検査が可能であることを意味しており、同時に検査手法がイムノアッセイから、正診度・医療経済性に優れるMSへと移行する流れを加速させるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Mass spectrometry (MS) is accurate and economically-efficient methodology for clinical examinations, but its throughput is poor. This disadvantage deters the introduction of MS to the clinical practice. In this study, novel sample-multiplexed methods using sets of derivatization reagent analogues and/or isotopologues were designed and developed to enhance the throughput of the MS-based clinical examinations for several diseases, such as vitamin D deficiency, estrogen-dependent cancer and primary aldosteronism. The developed methods could significantly reduce the analysis time (up to 60% less, compared with the conventional assays); thus the methods had a satisfactory applicability.

研究分野：分析科学

キーワード：臨床検査 マーカー 質量分析 ハイスループット 誘導体化 アナログ アイソトポログ 多検体一括 バイオ

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、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

臨床検査手法の主流は免疫アッセイである。しかし、本法はいくつかの検査項目において、抗体の交差反応や血清タンパク質による妨害に起因する精度の低さが問題視されている。このため検査精度の向上を第一の目的として、欧米を中心に免疫アッセイの質量分析法 (MS)、特に高速液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化 - タンデム MS (LC/ESI-MS/MS) への置き換え = MS臨床検査への移行が進められている。また、MS臨床検査は検査経費の削減に貢献できることも明らかとなってきた。このように、LC/ESI-MS/MSは免疫アッセイに比べて数多くの利点があるにもかかわらず、本邦ではMS臨床検査の現場導入・社会実装が大きく遅れている。この原因は、偏にLC/ESI-MS/MSのスループットの低さ、すなわち、現行のLC/ESI-MS/MSを用いる手法が、現場が求める検査スピードの基準に達していないことにある。

これまでMS臨床検査のハイスループット化は、超高速LC (UPLCなど) を利用してLC時間を短縮するなど、装置にばかり目が向けられてきた。しかし、装置の性能を上手く利用しつつも、一方で、それとは独立した技術が生まれないとハイスループットMS臨床検査が現実味を帯びてこない。ビタミンD代謝物やエストロゲンなどの検査項目では、誘導体化がLC/ESI-MS/MS感度・特異性 (正診度) の大幅向上をもたらすことが実証されており、これらのMS臨床検査においては誘導体化が不可欠な構成要素と認識されている。そこで本研究は、誘導体化が構成要素となる、あるいは、なると予想されるMS検査項目を足掛かりに、誘導体化にハイスループット化の機能を追加して、これらのMS検査の社会実装を大幅前進させることを課題とした。すなわち、本研究はMS臨床検査のハイスループット化を実現するための鍵技術となる新規誘導体化試薬及び、それらを用いる新規手法を開発・提供することを目指して開始された。

2. 研究の目的

需要が高く、かつMS検査に誘導体化がほぼ必須の以下の(1)~(3)を対象項目として、実用性の高い試薬及びハイスループット化技術の開発を目的とした。

- (1) ビタミンD欠乏症検査：マーカー分子 = 25-ヒドロキシビタミンD₃ [25(OH)D₃]
- (2) 女性ホルモン依存性癌 (乳癌・子宮内膜癌) 検査：マーカー分子 = エストラジオール (E₂)
- (3) 原発性アルドステロン症 (PA) 検査：マーカー分子 = アルドステロン (ALD)

スループット向上誘導体化は本研究開始当時、未開拓の領域であったが、質量 (正確には*m/z*) が異なれば、化合物を弁別できるというMS(/MS)の特性を上手く活用し、わずかに構造の異なる誘導体化試薬 (誘導体化試薬アナログ：analogous derivatization reagent = aDR) や安定同位体の導入数の異なる誘導体化試薬 (誘導体化試薬アイソトポログ：isotopologous derivatization reagent = iDR) を開発・利用すれば、多検体の一括測定が可能と考えた。すなわち、aDR及びiDRの数 (*n*) に相当する検体を別々の試薬で誘導体化し、その後一つにまとめてLC/ESI-MS/MSに付すと、1検体分の分析時間で*n*検体の検査値が得られる、というコンセプトである。言うまでもなく、LC/ESI-MS/MS感度・特異性の向上にも寄与できるaDR及びiDRの開発を目指した。

3年の研究期間内で、上記のそれぞれのマーカー分子に対するaDR及びiDRの開発を出発点とし、多検体一括LC/ESI-MS/MS測定法を確立すること、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)のマーカー分子に対して多検体一括MS検査技術を、aDRあるいはiDRの開発 → 実用性 (ハイスループット化の成否) 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) ビタミンD欠乏症検査：マーカー分子 = 25(OH)D₃

報告者らが先に開発した誘導体化試薬、4-(4-dimethylaminophenyl)-1,2,4-triazoline-3,5-dione (DAPTAD) を用いると、25(OH)D₃の高感度かつ高特異的 (異性体識別) 分析が可能である。そこで、そのアイソトポログ2種 (²H₃-及び²H₆-体) を合成した。次に極少量の血漿で、かつ簡便に25(OH)D₃測定が可能なる前処理法、LC/ESI-MS/MS分析条件を確立し、先のDAPTADアイソトポログ3種をこれに組み込んだ。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) 女性ホルモン依存性癌検査：マーカー分子 = E₂

E₂のハイスループットMS検査法として、4検体一括測定法が適切と判断し、4種の誘導体化試

薬アナログのセットの開発を目指した。その1つは、従来から用いられている dansyl chloride (DNSCl) で、2つ目はDNSClのメチル基をエチル基に置き換えたDENSCIが適当と考えられた。そして、これらと同じくスルホニルクロリドを反応活性基とする10-methylacridone-2-sulfonyl chloride (MASCl) や、これの10位アルキル鎖長の異なるアナログをデザイン・合成した。さらにはDNSCl及びDENSCIのアイソトポログの合成を試みた。各試薬をE₂と反応させ、誘導体を調製した後に、感度や特異性、LC挙動を精査した。結果として、DNSClとDENSCI以外の試薬は、一括測定に十分な性能を有していない、あるいは十分な量を確保できないことが判明した。そこで不本意ながら2検体一括測定に切り替え、血漿の前処理法の開発、各種バリデーション試験を実施し、定量法を完成させた。

(3) PA検査：マーカー分子 = ALD

PAでは、多くは左右片方の副腎から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super-selective adrenal venous sampling (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。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MS検査法の開発が急務である。そこで、左右副腎の一对のssAVS血清試料中のALDを同時に測定し、その濃度を直接比較できる新規手法の開発を試みた。ALDの3位ケト基と反応し、誘導体がMS/MSで特異イオンを与えることが知られているGirard試薬P (GP) を基本試薬とし、そのアイソトポログ (²H₅-GP) を合成した。ssAVS血清試料の前処理法の開発、各種バリデーション試験を実施した。左右副腎のssAVS血清試料の同時測定によるスループット向上とともに、病変副腎及びAPA部位の同定精度に基づいて開発した方法を評価した。

(4) その他

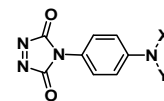
当初の研究計画にはなかったが、血漿中一次胆汁酸 (コール酸及びケノデオキシコール酸) の3検体一括定量法、血清中17 α -ヒドロキシprogesterone (17OHP) の4検体一括定量法、尿中ヘキサノイルグリシンの3検体一括定量法などを、上記の(1)~(3)と同じく、aDRあるいはiDRの開発 実用性評価の流れで開発した。さらに、将来のハイスループットMS臨床検査につながると思われる、LC/ESI-MS/MS用新規誘導体化試薬やマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI)-MS(/MS)を用いたステロイド定量法なども開発した。

4. 研究成果

当初の計画にあった(1)~(3)の項目に加えて、血漿中一次胆汁酸や血清中17OHP、尿中ヘキサノイルグリシンの多検体一括定量法なども構築し、それらの評価を行った。以下に具体的な成果を記す。

(1) ビタミンD欠乏症検査：マーカー分子 = 25(OH)D₃

ビタミンD欠乏症は骨疾患のみならず、癌や糖尿病などとも関連することから、検査需要が高まっている。先に報告者らが開発した25(OH)D₃の高感度検出、不活性異性体とのLC分離に威力を発揮するDAPTADを基本の誘導体化試薬とし、まず、そのアイソトポログ2種、²H₃-及び²H₆-体を合成した。次にDAPTADのアナログであり、ほぼ同等の性能を有するDEAPTADのアイソトポログの合成に取り掛かったが、この合成と並行して実施したマトリックス効果の検討において、血漿マトリックスの増加 (25(OH)D₃の場合、4検体以上) が精度・正確度を低下させること、それを克服するためには前処理が煩雑になることが判明した。そこで、方法の簡便性を重視して、検体数を当初の目標の6から3へと変更し、DAPTADのアイソトポログのみを用いて定量法を開発した。すなわち本法は、必要な血漿量はわずか5 μ L、前処理は徐タンパクのみの極めて簡便なものである。誘導体化のおかげで、このような少量の血漿で1.0 ng/mLの定量限界が得られ、妨害代謝物である3-エピ体とのLC分離も良好であった。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 5.9%)、正確度 (98.7 - 102.2%) を有すること、3検体の血漿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。また、1検体ずつを分析する従来法と比べて、LC/ESI-MS/MS運転時間が1/3以下 (48検体の場合、540分170分) に短縮され、本研究の第一目的であるハイスループット化に成功した。このように、血中25(OH)D₃の6検体一括定量は達成できなかったものの、本研究課題の肝であるiDRの開発とそれを用いた新規3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。また、これとは別にDAPADによる誘導体化を駆使し、血清/血漿中活性型ビタミンD₃や尿中24,25-ジヒドロキシビタミンD₃グルクロニドの新規分析法も開発した。



DAPTAD: X = Y = CH₃

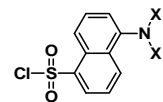
²H₃-DAPTAD: X = CH₃, Y = C²H₃

²H₆-DAPTAD: X = Y = C²H₃

25(OH)D₃用iDR

(2) 女性ホルモン依存性癌検査：マーカー分子 = E₂

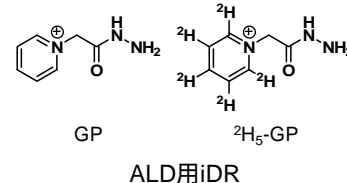
先行研究において高感度化が実証されているDNSCIを基本として、そのアナログ、DENSCIを5-amino-1-naphtalenesulfonic acidから合成し、まず2種のaDRを準備した。次いでこれらと同じくスルホニルクロリドを反応活性基とするMASCI及びこれの10位アルキル鎖長の異なるアナログを合成した。しかし、MASCI及びそのアナログから調製したE₂の誘導体は、DNSCIやDENSCIから得られるそれらほどのESI-MS/MS応答性を示さず、また、LC挙動も大きく異なり、多検体一括定量には不向きであることが明らかとなった。そこで方針を転換し、DNSCIやDENSCIのアイソトポログの合成を試みたが、十分な量を確保できるに至らなかった。すなわち、合成過程での副生成物との分離や同位体純度の問題が解決できず、臨床での使用に足りるiDRセットの安定供給は困難と判断された。以上の結果からこの研究では、エストロン (E₁) も測定対象に加えつつも、不本意ながら2検体一括測定法を開発することにした。40 µLの血漿を除タンパクし、固相抽出カートリッジで精製後、誘導体化に付したところ、共存物質の妨害を受けることなくE₁、E₂の各誘導体のピークが明瞭に観察された。精度(日内・日間変動試験: RSD ≤ 4.8%)、正確度(95.3 - 104.9%)を求めたところ、満足し得る結果が得られた。しかし、本法は誘導体化を施しながらも2検体しか同時に定量することができず、1検体ずつ測定する従来法と比較して、ハイスループット化の点で満足できるものではなかった。このようにE₂のハイスループットMS臨床検査については、aDR/iDRのデザインから見直す必要があり、当初の目的を達することはできなかった。



DNSCI: X = CH₃
DENSCI: X = CH₂CH₃
エストロゲン用aDR

(3) PA検査：マーカー分子 = ALD

まず、GPのアイソトポログ (²H₅-GP) を²H₅-ピリジン为原料として既報に準じて合成した。ssAVS血清を徐タンパク後、固相抽出カートリッジにて精製し、誘導体化に付した。検量線は1.0 - 40 ng/mLの範囲で直線性を示し、また、精度(日内・日間変動試験: RSD ≤ 6.6%)、正確度(98.2 - 107.0%)も良好であった。誘導体化によって定量限界(1.0 ng/mL)は4倍改善された。本法を用いると、片側性PA患者から得た計22のssAVS血清試料について、腫瘍 (APA) が存在する副腎を確実に同定できた。また、高濃度のALDが検出された試料の採取部位と摘除組織の病理検査によるAPA部位はよく一致していた。このように本法は2つのssAVS血清試料を同時定量・直接比較することから、片側性/両側性PAの診断やAPA部位の特定の精度向上につながると期待された。さらに、1検体ごとのLC/ESI-MS/MS定量法に比べて、本法では前処理後の分析時間を2/3以下(260分 → 160分)に短縮することができ、スループットも改善された。ssAVSによるPA検査では、究極的には6検体一括測定が求められるが、本研究において左右副腎の1検体ずつ、つまり2検体同時測定法が確立され、6検体一括測定法開発の足掛かりとなる知見が得られた。また、本研究で得られた誘導体化の知見を活かし、PAの治療のために摘出された組織の質量分析イメージングにも成功した。



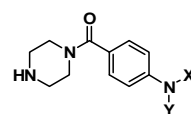
GP
²H₅-GP
ALD用iDR

(4) その他

当初の研究計画にはなかったが、研究期間内に次の ~ の項目も検討し、以下に記す成果を得た。

血漿中一次胆汁酸の3検体一括定量法

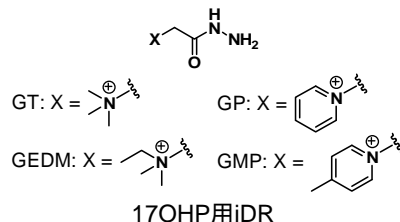
肝胆道系疾患のマーカーである血漿中一次胆汁酸(コール酸及びケノデオキシコール酸)の3検体一括定量法を開発した。先に報告者らが開発したカルボン酸用誘導体化試薬、1-[4-dimethylamino-phenyl]carbonylpiperazine (DAPPZ)のアイソトポログ2種(²H₃-及び²H₆-体)を合成し、従来法よりも前処理後の分析時間を2/5以下(42検体の場合、750分 → 280分)に短縮できる定量法を確立した。精度(日内・日間変動試験: RSD ≤ 4.2%)、正確度(99.0 - 100.3%)も良好で、血漿マトリックスの影響も無視し得る程度であった。



DAPPZ: X = Y = CH₃
²H₃-DAPPZ: X = CH₃, Y = C²H₃
²H₆-DAPPZ: X = Y = C²H₃
胆汁酸用iDR

血清中17OHPの4検体一括定量法

先天性副腎過形成症の診断マーカーである血清中17OHPについて、4種のGirard試薬を駆使した新規4検体一括定量法を確立した。まず、既存のGirard試薬T及びP(GT及びGP)にメチル基を追加し、ethyl-dimethylammoniumや4-methylpyridiniumを荷電部位とする新規Girard試薬(GEDM及びGMP)を合成した。血清4検体(各20 µL)をそれぞれ除タンパク及び液-液抽出のみの簡便な前処理を施した後、各試薬で誘導体化し混合後、LC/ESI-MS/MSに付すと、共存物質の影響を受けることなく、17OHPを高い精度(日内・日間変動試験: RSD ≤ 4.0%)、正確度(97.6 - 106.7%)で定量できた。誘導体化を施さずに1検体ずつ定量する従来法と比較すると、前処理後の分析時間が2/5以下(32検体の場合、350分 → 130分)に短縮され、スループットを大幅

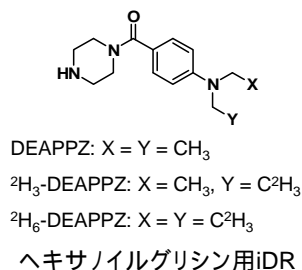


17OHP用iDR

に向上させることに成功した。

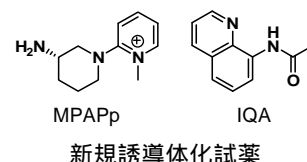
尿中ヘキサノイルグリシンの3検体一括定量法

上記の胆汁酸と同じコンセプトの下、1-[(4-diethylaminophenyl)-carbonyl]piperazine (DEAPPZ) とそのアイソトポログ ($^2\text{H}_3$ -及び $^2\text{H}_6$ -体) を駆使し、グルタル酸血症 (先天性代謝異常症) のマーカーである尿中ヘキサノイルグリシンの3検体一括定量法を開発した。誘導体化の導入によりLC/ESI-MS/MS運転時間を短縮 (約1/3) できたが、誘導体化反応の後処理 (アイソトポログ間の交換反応の抑制) にやや煩雑な操作が必要なが分かり、現在、実用性を詳細に検討中である。



新規誘導体化試薬の開発

キラルカルボン酸用に(S)-1-(1-methylpyridin-2-yl)-3-aminopiperidine (MPAPp) を、チオール化合物用に2-iodo-N-(8'-quinoliny)acetamide (IQA) を開発した。今後、これらのaDR, iDRを合成すれば、新しい検査対象、例えば前者はNSAIDをはじめとする医薬品、後者はグルタチオンなどのチオール化合物の多検体一括定量法につながるものと期待される。



MALDI-MS(/MS)を用いたハイスループットステロイド定量法の開発

LC/ESI-MS/MSとは異なるMS手法を用いるハイスループット検査技術の開発も重要である。この考えに基づき、血漿中コルチゾールやデヒドロエピアンドロステロンサルフェートのMALDI-MS(/MS)定量法も開発した。

Isotope-coded derivatization (ICD) に基づく新規定量法の開発

同位体標識内標準物質の入手が困難な尿中グルクロン酸抱合型テトラヒドログルココルチコイド (視床下部-下垂体-副腎系機能の診断マーカー) や機能性食品中フェノール酸 (抗酸化成分) に対し、これまでに開発したiDRペアを適用し、ICDに基づく高精度・正確度の新規定量法を開発した。

このように本研究では、臨床検査上重要な複数の項目・マーカー分子に対し、MSによるその本格的現場導入・社会実装を目標とし、これを妨げているMSの低いスループットを解決する方策として、多検体一括定量という新しいコンセプトを提案した。そしてaDR及びiDRの開発を出発点に、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。E₂に対して実用的な方法を提示できなかったこと、25(OH)D₃やALDについても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%とは言えないが、これに代って、血漿中一次胆汁酸や血清中17OHPの多検体一括定量法の開発も成し遂げた。本研究で得られた知見が、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10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakamura Masahiro, Moritsuna Marina, Yuda Keita, Fujimura Shunsuke, Sugiura Yuki, Shimma Shuichi, Nishimoto Koshiro, Nishikawa Tetsuo, Suematsu Makoto, Ogawa Shoujiro, Higashi Tatsuya	4. 巻 178
2. 論文標題 Quantitative MALDI-MS/MS assay for serum cortisol through charged derivatization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 112912 ~ 112912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2019.112912	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 Matsumoto Takaaki, Sato Maho, Yamazaki Wataru, Ogawa Shoujiro, Higashi Tatsuya	4. 巻 146
2. 論文標題 (S)-1-(1-Methylpyridin-2-yl)-3-aminopiperidine as a novel derivatization reagent capable of enantiomeric separation and enhanced ESI-MS/MS detection for chiral carboxylic acids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microchemical Journal	6. 最初と最後の頁 25 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.microc.2018.12.058	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 Yoshimura Yusuke, Hibi Ryuichiro, Nakata Akiho, Togashi Moeka, Ogawa Shoujiro, Ishige Takayuki, Satoh Mamoru, Nomura Fumio, Higashi Tatsuya	4. 巻 33
2. 論文標題 Identification of conjugation positions of urinary glucuronidated vitamin D3 metabolites by LC/ESI-MS/MS after conversion to MS/MS-fragmentable derivatives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Chromatography	6. 最初と最後の頁 e4538 ~ e4538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bmc.4538	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 Higashi Tatsuya, Akaishi Miho, Yokota Mai, Suzuki Tatsunori, Ogawa Shoujiro, Sugiura Yuki, Nishikawa Tetsuo, Nishimoto Koshiro, Suematsu Makoto	4. 巻 1092
2. 論文標題 A method for determination of aldosterone in adrenal tributary venous serum by derivatization using Girard P reagent isotopologues followed by LC/ESI-MS/MS	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography B	6. 最初と最後の頁 106 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jchromb.2018.06.001	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 Matsumoto Takaaki, Yamazaki Wataru, Jo Akihiro, Ogawa Shoujiro, Mitamura Kuniko, Ikegawa Shigeo, Higashi Tatsuya	4. 巻 34
2. 論文標題 A method for quantification of tetrahydroglucocorticoid glucuronides in human urine by LC/MS/MS with isotope-coded derivatization	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1003 ~ 1009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18SCP02	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 Sugiura Yuki, Takeo Emi, Shimma Shuichi, Yokota Mai, Higashi Tatsuya, Seki Tsugio, Mizuno Yosuke, Oya Mototsugu Kosaka Takeo, Omura Masao, Nishikawa Tetsuo, Suematsu Makoto, Nishimoto Koshiro	4. 巻 72
2. 論文標題 Aldosterone and 18-oxocortisol coaccumulation in aldosterone-producing lesions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 1345 ~ 1354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11243	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 Ogawa Shoujiro, Kittaka Hiroki, Nakata Akiho, Komatsu Kenji, Sugiura Takahiro, Satoh Mamoru, Nomura Fumio, Higashi Tatsuya	4. 巻 136
2. 論文標題 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	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 126 ~ 133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2016.11.030	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 Higashi Tatsuya, Watanabe Shui, Tomaru Koki, Yamazaki Wataru, Yoshizawa Kazumi, Ogawa Shoujiro, Nagao Hidenori, Minato Kouichi, Maekawa Masamitsu, Mano Nariyasu	4. 巻 125
2. 論文標題 Unconjugated bile acids in rat brain: Analytical method based on LC/ESI-MS/MS with chemical derivatization and estimation of their origin by comparison to serum levels	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Steroids	6. 最初と最後の頁 107 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.steroids.2017.07.001	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 Ogawa Shoujiro, Takafuji Kiriko, Tsubuku Sumi, Horie Yukiko, Ikegawa Shigeo, Higashi Tatsuya	4. 巻 142
2. 論文標題 Isotope-coded derivatization based LC/ESI-MS/MS methods using a pair of novel reagents for quantification of hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids in fermented brown rice product	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 162 ~ 170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2017.04.035	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 Ishige Takayuki, Satoh Mamoru, Ogawa Shoujiro, Nishimura Motoi, Matsushita Kazuyuki, Higashi Tatsuya, Nomura Fumio	4. 巻 473
2. 論文標題 Improved sensitivity of serum/plasma 1,25-dihydroxyvitamin D quantification by DAPTAD derivatization	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 173 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2017.08.033	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25件(うち招待講演 3件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 亀村美樹, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 4種のGirard型試薬を用いた血漿中17 β -hydroxyprogesteroneの4検体一括LC/ESI-MS/MS定量法
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 松本孝彬, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 MPAPP: 光学活性カルボン酸のLC/ESI-MS/MS用荷電誘導体化試薬の開発と評価
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 藤村俊輔, 森網茉里奈, 中村将大, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 新聞秀一, 東 達也
2. 発表標題 荷電誘導体化を用いた血清中cortisolのMALDI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第32回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀江裕紀子, 後藤綺花, 今村梨子, 伊藤麻里, 池川繁男, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 誘導体化 - LC/ESI-MS/MSによる麴中エルゴチオネイン定量法の開発
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀江裕紀子, 後藤綺花, 今村梨子, 伊藤麻里, 池川繁男, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 新規LC/ESI-MS/MS定量法による3種の麴のエルゴチオネイン含量測定
3. 学会等名 第71回生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村友佑, 富樫萌香, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 化学的手法とLC/ESI-MS/MSを組み合わせた, 尿中グルクロン酸抱合型ビタミンD3代謝物の同定
3. 学会等名 日本臨床化学会第59回年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石毛崇之, 佐藤 守, 小川祥二郎, 西村 基, 川崎健治, 松下一之, 東 達也, 野村文夫
2. 発表標題 質量分析による主要なビタミンD代謝物の一斉定量への挑戦
3. 学会等名 日本臨床化学会第59回年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 達也
2. 発表標題 DAPTAD誘導体化: LC/MSによる新生児のビタミンD供給状態評価の質を向上させる
3. 学会等名 日本分析化学会中部支部 静岡地区講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukiko Horie, Ayaka Goto, Riko Imamura, Mari Itoh, Shigeo Ikegawa, Shoujiro Ogawa, Tatsuya Higashi
2. 発表標題 Development of LC/ESI-MS/MS method combined with derivatization for determination of L-ergothioneine in Aspergillus oryzae-fermented products of rice and rice bran
3. 学会等名 HPLC Kyoto - The 49th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀村美樹, 横田麻衣, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 Girard 試薬アナログを用いるステロイドのハイスループットLC/ESI-MS/MS定量法の開発
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 城 彰宏, 大谷沙織, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 DAPPZアイソトポログ誘導体化による胆汁酸のハイスルーブットLC/ESI-MS/MS定量法の開発
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 吉村友佑, 日比隆一郎, 中田彬穂, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 DAPTAD誘導体化 - LC/ESI-MS/MSを用いる尿中グルクロン酸抱合型ビタミンD3代謝物の同定
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 中村将大, 森網茉里奈, 湯田啓太, 堀江裕紀子, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 東 達也
2. 発表標題 MALDI/TOF-MS(/MS)によるステロイド定量法の開発
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石毛崇之, 佐藤 守, 小川祥二郎, 西村 基, 松下一之, 東 達也, 野村文夫
2. 発表標題 LC/MS/MSによる血清/血漿1,25-ジヒドロキシビタミンD定量および分析前変動要因の評価
3. 学会等名 第43回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 亀村美樹, 横田麻衣, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 4種のGirard試薬アナログを用いた誘導体化によるステロイドのハイスループットLC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第43回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤石美帆, 横田麻衣, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 西川哲男, 西本紘嗣郎, 東 達也
2. 発表標題 Girard試薬Pアイソトポログを用いた副腎静脈血清中アルドステロンのLC/ESI-MS/MS定量法
3. 学会等名 第43回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 城 彰宏, 大谷彩織, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 DAPPZアイソトポログを用いる血漿中胆汁酸の3検体一括LC/ESI-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第29回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 達也
2. 発表標題 誘導体化試薬アイソトポログを利用する低分子化合物のLC/ESI-MS/MS定量
3. 学会等名 第24回クロマトグラフィーシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 赤石美帆, 横田麻衣, 杉浦悠毅, 西本紘嗣郎, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 Girard P試薬アイソトポログを用いるsAVS試料中アルドステロンのLC/ESI-MS/MS定量
3. 学会等名 第24回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松本孝彬, 山崎 航, 戸田量子, 小川祥二郎, 東 達也
2. 発表標題 光学活性カルボン酸のLC/ESI-MS/MS用新規荷電誘導体化試薬の開発
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小川祥二郎, 中田彬穂, 日比隆一郎, 吉村友佑, 橘高宏貴, 東 達也
2. 発表標題 DAPTAD誘導体化 - LC/ESI-MS/MSによる尿中グルクロン酸抱合型ビタミンD3代謝物の分析
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小川祥二郎, 中田彬穂, 日比隆一郎, 吉村友佑, 橘高宏貴, 東 達也
2. 発表標題 誘導体化 - LC/ESI-MS/MSによる尿中グルクロン酸抱合型ビタミンD3代謝物の同定及び定量
3. 学会等名 第42回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村将大, 湯田啓太, 小川祥二郎, 杉浦悠毅, 新聞秀一, 東 達也
2. 発表標題 MALDI/TOF-MS(/MS)による血漿中DHEAS及びコルチゾール定量の試み
3. 学会等名 第42回日本医用マススペクトル学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 METHOD FOR DERIVATIZING AN S-CIS-DIENE COMPOUND, DERIVATIZATION REAGENT KIT, AND METHOD FOR ANALYZING AN S-CIS-DIENE COMPOUND	発明者 Higashi Tatusya他4名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、17193756	出願年 2017年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 METHOD FOR DERIVATIZING AN S-CIS-DIENE COMPOUND, DERIVATIZATION REAGENT KIT, AND METHOD FOR ANALYZING AN S-CIS-DIENE COMPOUND	発明者 Higashi Tatsuya他4名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、EP 3 301 453 B1	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔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	佐藤 守 (Satoh Mamoru) (20401002)	千葉大学・医学部附属病院・特任准教授 (12501)	