

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：35307

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07007

研究課題名(和文)ステロイドホルモンの全自動オンライン一斉分析法の開発とメタボロミクスへの応用

研究課題名(英文)Development of a fully automated online simultaneous analysis method of steroid hormones and its application to metabolomics

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：キャピラリーカラムを抽出媒体として抽出濃縮を行うインチューブ固相マイクロ抽出(IT-SPME)法とLC-MS/MS法をオンライン連結して、9種のステロイドホルモン類と4種の硫酸化ステロイド代謝物のオンライン自動分析法を開発した。IT-SPMEとLC-MS/MS条件を最適化、バリデーションを行って選択的かつ高感度な定量法を確立した。唾液試料を用いる非侵襲的なストレス応答ステロイドバイオマーカー分析に適用して、受動喫煙によるストレス効果、精油や音楽によるストレス緩和効果を解析し、他のストレス・リラクゼーションバイオマーカーや心拍変動に基づく自律神経バランスによるストレス評価との相関性が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したIT-SPME/LC-MS/MS分析法は、試料の抽出・濃縮、分離、検出、データ解析までをオンライン自動化した選択的かつ高感度な分析法であり、分析の簡易化、微小化、迅速化、省力化を図った画期的な手法としてステロイドホルモン代謝関連化合物の網羅的解析への応用が期待でき、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、唾液試料を用いる非侵襲的なステロイドバイオマーカー分析やステロイド代謝物プロファイルのデータベースを構築することにより、ステロイド代謝関連疾患の早期診断が可能となり、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、社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Automated analytical methods for nine steroid hormones and four sulfated steroid metabolites were developed using an in-tube solid-phase microextraction (IT-SPME) method with a capillary column as extraction device for extraction and concentration and an on-line coupled LC-MS/MS method. The conditions of IT-SPME and LC-MS/MS were optimized and validated to establish a selective and sensitive quantitative method for non-invasive analysis using saliva samples. This method was applied to stress response steroid biomarker analysis, and the stress effects of passive smoking and the stress-reducing effects of essential oils and music were analyzed. These steroid biomarker levels showed good correlations with other stress/relaxation biomarker levels and stress assessment by autonomic balance based on heart rate variability.

研究分野：医歯薬学

キーワード：ステロイドホルモン 硫酸化ステロイド代謝物 バイオマーカー 固相マイクロ抽出法 LC-MS/MS分析
オンライン自動分析 唾液 ストレス評価

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

副腎皮質や性腺で生産されるステロイドホルモンには、糖・脂質代謝を調節し炎症・免疫抑制作用を持つ糖質コルチコイド、体液のイオン平衡により血圧調節作用を持つ鉱質コルチコイド、生殖機能や二次性徴を制御する性ホルモンなどがあり、いずれもコレステロールを原料として様々な酵素の関与で生合成されるが、その合成過程と分泌の分子機構については不明な点が多い。また、先天性副腎過形成症、副腎皮質腫瘍、クッシング症候群、アルドステロン症など、多くの内分泌疾患がステロイド代謝障害によって引き起こされることから、それぞれの代謝過程における初期変化や調節異常の検出が重要視されている。そのため、代謝物の変化をプロファイル分析から網羅的に解析することが緊急の課題となっている。しかし、十分な感度と特異性を有するステロイド代謝関連化合物の簡便な測定法がなく、従来のイムノアッセイでは、成分ごとに抗体が必要なことから、ステロイド代謝物プロファイルのデータベース構築には不向きである。また、多成分分析が可能な LC-MS/MS 法でも、ステロイドホルモン代謝系全般を同時解析できる方法は少なく、誘導体化や面倒な試料の前処理が必要であるため、ステロイドホルモン代謝関連化合物を一斉分析できる簡便迅速で高感度なメタボローム解析法の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、キャピラリーカラムを抽出デバイスとして抽出濃縮を自動化したインチューブ固相マイクロ抽出 (IT-SPME) 法 (Kataoka: *Anal. Bioanal. Chem.*, 373 (2002) 31; Kataoka: *J. Chromatogr. A*, 1636 (2021) 461787 他)¹⁾と LC-MS/MS 法をオンライン連結してステロイドホルモン代謝関連化合物を網羅的に解析する新規高感度一斉分析法の開発を目的とし、唾液試料を用いる非侵襲的なステロイド代謝関連疾患診断法の確立を目指して、以下の基礎的、応用的研究を行った。

- (1) IT-SPME / LC-MS/MS による 9 種のステロイドホルモン類の一斉分析法の確立²⁾
- (2) IT-SPME / LC-MS/MS による 4 種の硫酸化ステロイド代謝物の一斉分析法の確立³⁾
- (3) ストレス応答ステロイドホルモン類のポラリティ スイッチング LC-MS/MS 法の確立⁴⁾
- (4) ストレス・リラクゼーションの生化学及び生理学的評価によるストレス緩和効果の解析⁵⁾

3. 研究の方法

(1) 試薬及び試液

プレグネノロン(Preg)、プロゲステロン(Prog)、コルチゾール(CRT)、アルドステロン(Ald)、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)、テストステロン(TES)、エストロン(E1)、エストラジオール(E2)及びエストリオール(E3)の 9 種のステロイドホルモンと ProgS、CRTS、DHEAS、E2S の 4 種の硫酸化ステロイド代謝物を分析対象とし、それぞれの安定同位体標識化合物を内標準(IS)として、いずれも高純度の分析用標準物質を用いた。また、非ステロイド性ストレス・リラクゼーション関連バイオマーカーとして、ドーパミン(DA)、セロトニン(5-HT)、メラトニン(MEL)とオキシトシン(OXT)を分析対象とした。各標準物質は、メタノールに溶解して 0.5 mg/mL として 4°C で保存し、蒸留水で適当な濃度に希釈して使用した。また、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、9 種のステロイドホルモン分析には Discovery HS F5-3 (100 × 2.1 mm i.d., 3 μm) カラム / ギ酸 : アセトニトリル (45 : 55) 移動相、4 種の硫酸抱合体分析には Inert Sustain C18 HP (100 × 3.0 mm i.d., 3 μm) カラム / 水 : アセトニトリル (55 : 45) 移動相をそれぞれ用いて分析した。MS/MS 条件は、9 種のステロイドホルモンは ESI ポジティブモード、4 種の硫酸抱合体は ESI ネガティブモードで MRM 検出、定量した。また、両グループが混合するストレス応答ステロイドホルモン類の分析では、ポラリティスイッチングによりネガティブ / ポジティブイオンモードで同時分析した。一方、非ステロイド性バイオマーカー分析には、Kinetex Biphenyl (100 × 3 mm i.d., 2.6 μm) カラム / ギ酸 : アセトニトリル (60 : 40) 移動相を用い、ESI ポジティブモードで MRM 検出、定量した。

(3) インチューブ SPME 法

図 1 に示すように、試料をバイアル瓶に量り取ってオートサンプラーにセットし、Supel-Q PLOT キャピラリーカラム (60 cm × 0.32 mm i.d.) を抽出媒体として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 40 μL を 200 μL/min の速度で吸入吐出を繰り返し、キャピラリー内壁の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移動相で化合物を脱離させて LC-MS/MS システムへ導入した。これらの一連の操作は、インジェクションプログラムにより、試料溶液からの分析対象化合物の抽出、濃縮、分離、検出、データ解析までを全自動で行えた。

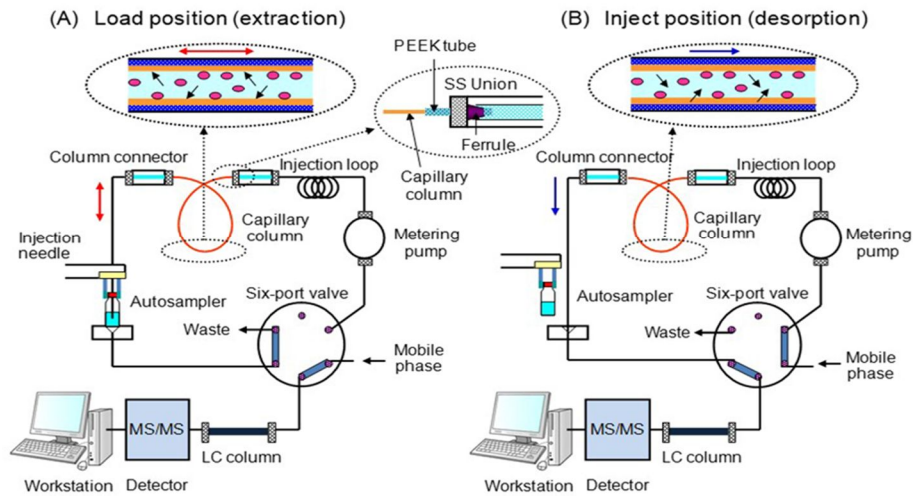


図 1 IT-SPME / LC-MS/MS システムの概要

(4) 唾液試料中のストレス関連バイオマーカー分析

インフォームドコンセントにより同意を得て、唾液はサリソフトを用いて健康人ボランティアから採取し、分子量 3000 で限外ろ過して高分子を除去して用いた。ろ液 50 μ L に IS 及び精製水を加えて全量を 1 mL とし、直接オートサンプラーにセットして IT-SPME / LC-MS/MS により自動分析した。各ステロイド及び非ステロイド性ストレス関連バイオマーカーとそれぞれの IS のピーク高さ比を求め、検量線を用いて唾液中の含量を算出した。

(5) その他の関連分析法と評価解析

心拍変動に基づく生理学的分析：Pulse Analyzer Plus (TAS9) を使用し、指尖脈波から心拍標準偏差値 (SDNN) 及び自律神経バランス $\ln(LF/HF)$ 値を測定した。フラクタルバイオアナリシスシステム (FBS) を使用し、両腕にカフを装着して電気生理学的に自律神経活動に関するバイタル周波数やトータルパワーなどの心拍変動に基づく各種パラメーターを測定した。また、ウェアラブル端末 (スマートウォッチ, SW) を使用して、ストレス度を測定した。これらの測定は、バイオマーカー分析と並行して行い、それらの相関性を解析した。ストレス・リラクゼーションへの影響評価：精油シールを貼ったアロママスク着用及び各種音楽聴取前後における唾液バイオマーカーレベル及び心拍変動に基づくストレス状態の変化を測定し、アロマや音楽によるストレス緩和効果を評価した。また、プラスチック製タバコ煙曝露チャンバー (W40 \times D40 \times H40 cm) 内でタバコ 1 本を燃焼させ、チャンバー内に充満したタバコ煙をサンプリング窓から 30 分間鼻呼吸により受動喫煙し、上記の方法により唾液バイオマーカーレベル及び心拍変動に基づくストレス状態の変化を測定し、受動喫煙によるストレスへの影響を解析した。

4. 研究成果

(1) IT-SPME / LC-MS/MS による 9 種のステロイドホルモン類の一斉分析法の確立²⁾

9 種のステロイドホルモン類の IT-SPME 条件を最適化したところ、抽出デバイスとして Supel-Q PLOT キャピラリーを用い、試料溶液 40 μ L を 0.2 mL/min の速度で 25 回繰返し吸入 / 吐出する時、いずれも効率よく抽出濃縮できた (図 2、3)。また、Discovery HS F5 カラムを用いるとき、いずれの化合物も 6 分以内に一斉分析でき (図 4) ESI ポジティブモード MRM 検出により、検量線は 0.01 ~ 40 ng/mL の範囲で相関係数 0.999 以上と良好な直線性を示し、検出限界も 0.7 ~ 21 pg/mL で直接注入法より 17 ~ 40 倍の感度を示した (表 1)。また、日内・日差再現精度も RSD が 0.4 ~ 14.8% (表 1) で、唾液試料からの回収率も 82 ~ 105% の範囲で、被験者のステロイドホルモンレベルを高感度かつ精度よく定量できた。

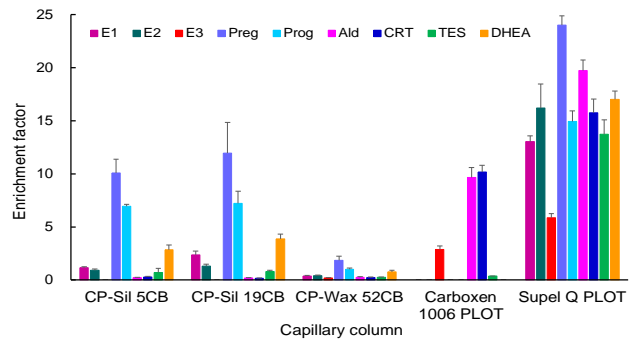


図 2 IT-SPME におけるキャピラリーコーティングの効果

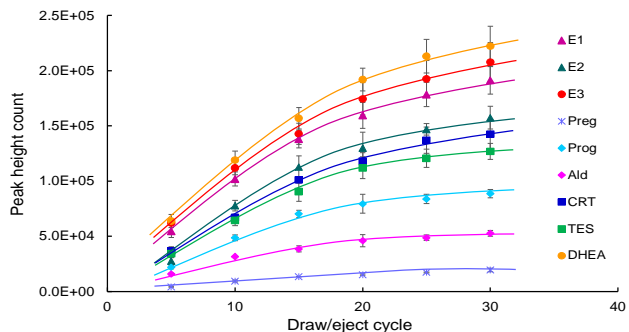


図 3 IT-SPME における吸入 / 吐出回数の効果

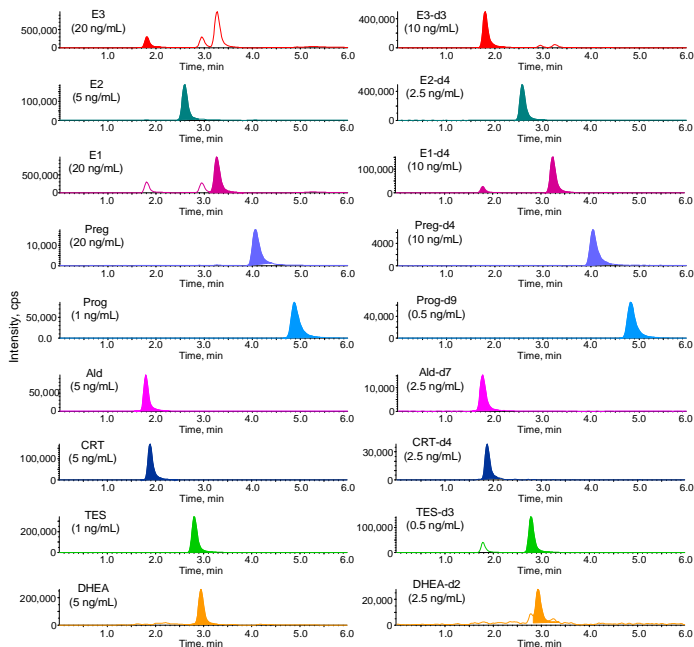


図4 標準ステロイドホルモン類のMRMクロマトグラム

表1 ステロイドホルモン類の検量線の直線性と検出限界

Analyte	Linearity (n=24)		LOD (pg/mL)	Precision (RSD %)	
	Range (ng/mL)	r		ng/mL	Intra-day
E1	0.2-40	0.9990	8.9	1.0	8.1
				4.0	3.4
				20	5.9
E2	0.05-10	0.9992	2.2	0.25	3.5
				1.0	4.4
				5.0	0.4
E3	0.2-40	0.9993	20.5	1.0	5.5
				4.0	4.3
				20	4.0
Prog	0.2-40	0.9992	9.2	1.0	6.1
				4.0	7.5
				20	5.7
Prog	0.01-2	0.9990	2.3	0.2	2.1
				1.0	4.8
				0.25	4.0
Ald	0.05-10	0.9998	7.0	1.0	2.2
				5.0	2.6
				0.25	0.8
CRT	0.05-10	0.9998	4.3	1.0	1.8
				5.0	2.8
				0.05	6.5
TES	0.01-2	0.9993	0.7	0.2	1.6
				1.0	4.2
				0.25	3.0
DHEA	0.05-10	0.9997	8.1	1.0	1.5
				5.0	2.2
				3.9	

(2) IT-SPME / LC-MS/MS による4種の硫酸化ステロイド代謝物の一斉分析法の確立³⁾

4種の硫酸化ステロイド代謝物のIT-SPME条件を最適化したところ、抽出デバイスとしてSupel-Q PLOTキャピラリーを用い、試料溶液40 μLを0.2 mL/minの速度で25回繰返し吸入/吐出する時、いずれも効率よく抽出濃縮できた。また、InertSustain Swift C18カラムを用いるとき、いずれの化合物も6分以内に一斉分析でき(図5)、ESIネガティブモードMRM検出により、検量線は0.01~10 ng/mLの範囲で相関係数0.9998以上と良好な直線性を示し、検出限界も0.3~3.2 pg/mLで直接注入法より76倍以上の感度を示した(表2)。また、日内・日差再現精度もRSDが2.1~11.1%で、唾液試料からの回収率も86~113%の範囲で、被験者の硫酸化ステロイド代謝物レベルを高感度かつ精度よく定量できた。

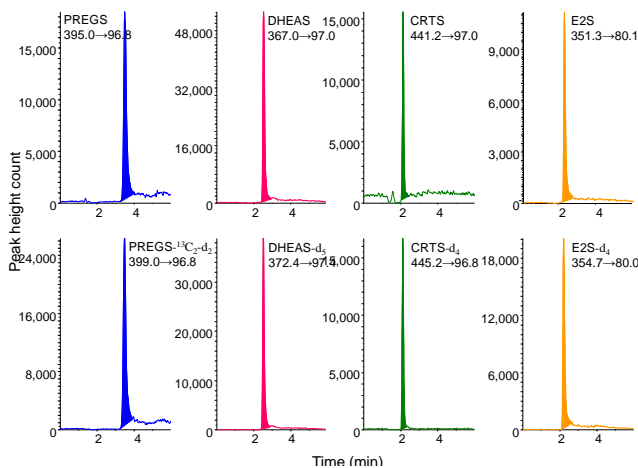


図5 硫酸化ステロイド代謝物のMRMクロマトグラム

表2 ステロイド代謝物のバリデーション

Analyte	Linearity (n=24)		LOD (pg/mL)	Precision (RSD %)		
	Range (ng/mL)	r		ng/mL	Intra-day	Inter-day
E2S	0.05-10	0.99995	3.2	0.25	5.6	7.7
				1.0	3.6	7.9
				5.0	2.7	5.2
ProgS	0.01-2	0.99991	0.6	0.05	2.3	9.0
				1.0	3.0	6.2
				0.05	7.7	11.1
CRTS	0.01-2	0.99987	0.8	0.2	2.4	4.2
				1.0	2.6	6.8
				0.05	6.9	10.7
DHEAS	0.01-2	0.99994	0.3	0.2	3.1	7.8
				1.0	3.1	6.1
				6.1		

(3) ストレス応答ステロイドホルモン類のポラリティースイッチングLC-MS/MS法の確立⁴⁾

ステロイドホルモン類と硫酸化ステロイド代謝物は極性が異なるため同時分析が困難であったが、IT-SPME / LC-MS/MS法により、それぞれの化合物が検出される時間にネガティブからポジティブに極性を切り替えることでストレス応答バイオマーカーであるCRT、TES、DHEA及びDHEASを8分以内に高感度同時分析できた(図6)。本法をタバコ煙曝露とストレスとの関連性の解析に応用したところ、タバコ煙曝露後CRTとDHEASレベルが低下してストレス軽減が認められたが、非喫煙者では曝露1時間後にこれらのレベルが増加に転じたことから、喫煙者では一時的ストレス抑制、非喫煙者では受動喫煙でストレス状態になることがわかった(図7)。

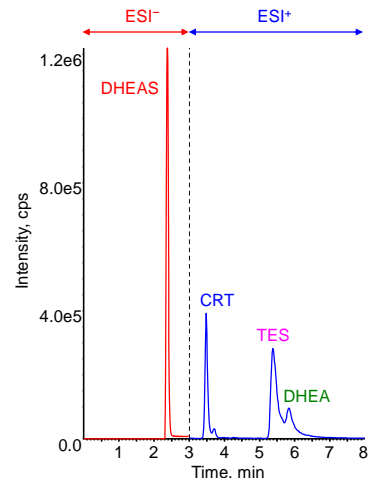


図6 極性切替LC-MS/MSによるTIC

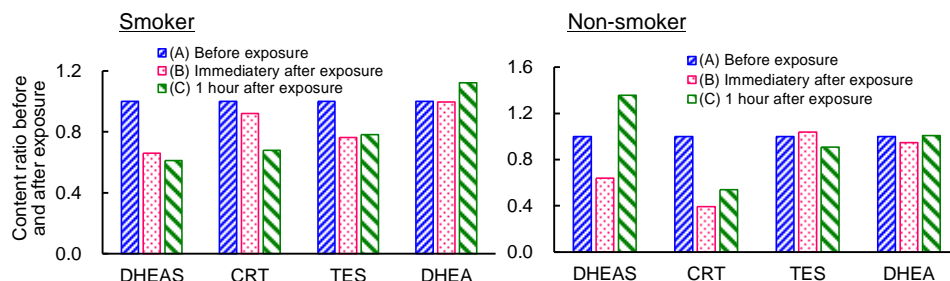


図7 タバコ煙曝露前後における喫煙者及び非喫煙者のステロイドバイオマーカールレベルの変動

(4) ストレス・リラクゼーションの生化学及び生理学的評価によるストレス緩和効果の解析⁵⁾

ストレス関連バイオマーカースとして、CRTの他5-HT、MEL、DA、OXTをIT-SPME/LC-MS/MS法により一斉分析する高感度オンライン自動分析システムを構築した。検量線は0.01~10 ng/mLの範囲でいずれも相関係数0.999以上の直線性を示し、検出限界は0.4~4 pg/mL (S/N=3)で直接注入法より14~46倍の感度を示した。また、日内及び日差変動は、RSDがそれぞれ1.3~7.9%及び2.2~14.6%で再現性も良好であった。本法を用いて、ハーブティーやアロママスクによるストレス緩和効果を調べた結果、カモミールティーやジャスミンティーで摂取前後にCRTレベルが減少し、18種の精油でCRTレベルが減少したことからストレス緩和効果が認められた。同時に測定した自律神経バランスとの相関性をみると、フローラル系とシトラス系では副交感神経優位、ハーブ系では副交感及び交感神経優位の2群に分かれた(図8)。また、クレペリントなどによる精神的な急性ストレス負荷によりCRTレベルが上昇するが、これらの精油はCRTレベルを低下させ緩和効果を持つことがわかった。一方、各種音楽の聴取前後におけるバイオマーカールレベルとSDNN値、LF/HF値、トータルパワー、SWによるストレス度の変化を測定したところ、いずれ楽曲においてもCRTレベルが低下し、楽曲によって若干異なるがSDNN値の平均値が上昇し、LF/HF値が低下して副交感神経優位になったことから、音楽によるストレス緩和・リラックス効果が認められた(図9)。また、CRTの濃度比とSDNN比との間に負の相関が認められた。

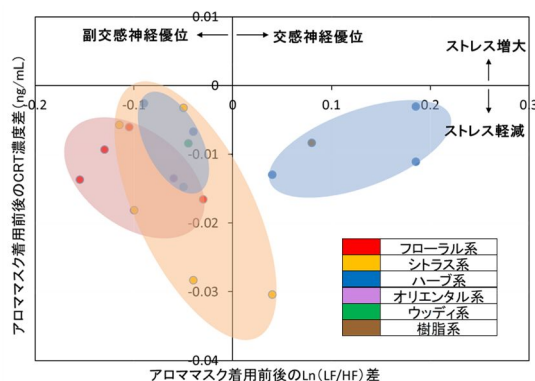


図8 アロママスクのストレス緩和・リラックス効果

図8 アロママスクのストレス緩和・リラックス効果。フローラル系とシトラス系では副交感神経優位、ハーブ系では副交感及び交感神経優位の2群に分かれた(図8)。また、クレペリントなどによる精神的な急性ストレス負荷によりCRTレベルが上昇するが、これらの精油はCRTレベルを低下させ緩和効果を持つことがわかった。

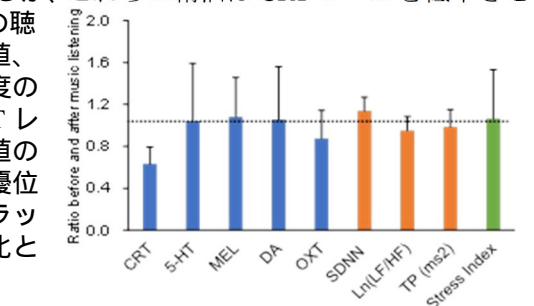


図9 音楽聴取前後の各種パラメーターの変化

【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、ステロイドホルモン代謝関連化合物をキャピラリーカラムで抽出・濃縮でき、LC-MS/MSとのオンライン連結により選択的かつ高感度に自動分析できる。また、唾液試料を用いた非侵襲的なストレス応答ステロイドバイオマーカール分析からストレスレベルを客観的に評価できる。本法は、様々なステロイドホルモンとそれらの代謝物の網羅的な分析にも応用可能であり、メタボローム解析に有効な方法への展開が期待される。本研究の成果は、今後ステロイド代謝物プロファイルのデータベース構築にも繋がり、ステロイド代謝疾患の早期診断や医薬品の薬効・副作用発現の予測など、関連分野の発展にも波及効果をもたらすことが期待されるため、本研究の学術的・社会的意義は大きい。

【主な発表論文】

1. Kataoka H., (2021) In-tube solid-phase microextraction: Current trends and future perspectives. *J. Chromatogr. A*, (Review article) 1636: 461787 (doi: 10.1016/j.chroma.2020.461787).
2. Hitomi T., Kataoka H., (2024) Development of Noninvasive Method for the Automated Analysis of Nine Steroid Hormones in Saliva by Online Coupling of In-Tube Solid-Phase Microextraction with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytica*, 5: 233-249. (doi.org/10.3390/analytica5020015).
3. Kataoka H., Nakayama D., (2022) Online In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Automated Analysis of Four Sulfated Steroid Metabolites in Saliva Samples. *Molecules*, 27(10): 3225. (doi: 10.3390/molecules27103225).
4. Kataoka H., Ohshima H., Ohkawa T., (2023) Simultaneous analysis of multiple steroidal biomarkers in saliva for objective stress assessment by on-line coupling of automated in-tube solid-phase microextraction and polarity-switching LC-MS/MS. *Talanta Open*, 7: 100177. (doi.org/10.1016/j.talo.2022.100177).
5. Kataoka H., (2023) Application of In-tube SPME to Analysis of Stress-related Biomarkers, in *Evolution of SPME Technology*: Edited by J. Pawliszyn, (Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK), Chapter 14, pp.419-440. (ISBN 978-1-83916-680-8).

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 3件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Kataoka Hiroyuki, Ohshima Hayata, Ohkawa Taishi	4. 巻 7
2. 論文標題 Simultaneous analysis of multiple steroidal biomarkers in saliva for objective stress assessment by on-line coupling of automated in-tube solid-phase microextraction and polarity-switching LC-MS/MS	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Talanta Open	6. 最初と最後の頁 100177 ~ 100177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.talo.2022.100177	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 28
2. 論文標題 Solid-Phase Microextraction and Related Techniques in Bioanalysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2467 ~ 2467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules28062467	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 該当する
1. 著者名 Kataoka Hiroyuki, Kaji Sanae, Moai Maki	4. 巻 26
2. 論文標題 Risk Assessment of Passive Smoking Based on Analysis of Hair Nicotine and Cotinine as Exposure Biomarkers by In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled On-Line to LC-MS/MS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 7356 ~ 7356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26237356	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 該当する

1. 著者名 Kataoka Hiroyuki、Nakayama Daiki	4. 巻 27
2. 論文標題 Online In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Automated Analysis of Four Sulfated Steroid Metabolites in Saliva Samples.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3225 ~ 3237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27103225	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 該当する

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 Hiroyuki Kataoka, Atsushi Ishizaki, Keita Saito	4. 巻 -
2. 論文標題 Micro Sample Preparation for High-Performance Liquid Chromatography, Chapter 10, in Biochemical Analysis Tools - Methods for Bio-Molecules Studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Analysis Tools - Methods for Bio-Molecules Studies	6. 最初と最後の頁 165 ~ 186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5772/intechopen.82530	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 Takashi Hitomi, Hiroyuki Kataoka	4. 巻 5
2. 論文標題 Development of Noninvasive Method for the Automated Analysis of Nine Steroid Hormones in Saliva by Online Cou-pling of In-Tube Solid-Phase Microextraction with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Analytica	6. 最初と最後の頁 233-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/analytica5020015	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22件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 片岡洋行、大川泰志、大島颯太、宮田早織
2. 発表標題 オンラインインチューブSPME / LC-MS/MS法を用いたストレス及びリラクゼーションに対するタバコ煙曝露の影響評価
3. 学会等名 環境化学物質3学会合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片岡洋行、本城明日香、本荘真央、宮田早織
2. 発表標題 唾液中バイオマーカー分析に基づくストレス緩和の客観的評価
3. 学会等名 第34回バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 本城明日香、片岡洋行
2. 発表標題 唾液バイオマーカーのIn-tube SPME / LC-MS/MS分析に基づくハーブティーのストレス緩和及びリラックス効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本荘真央、片岡洋行
2. 発表標題 唾液バイオマーカーのIn-tube SPME / LC-MS/MS分析に基づくアロママスクのストレス緩和及びリラックス効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片岡洋行、大島颯太、大川泰志
2. 発表標題 唾液中ステロイドバイオマーカーのIn-tube SPME / LC-MS/MS分析によるタバコ煙曝露のストレス評価
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中山大輝、片岡洋行
2. 発表標題 インチューブSPME / LC - MS/MSによる硫酸化ステロイド代謝物の高感度分析法の開発
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 人見崇史、中山大輝、片岡洋行
2. 発表標題 オンラインインチューブSPME / LC - MS/MSによるステロイドホルモン類の高感度分析法の開発
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 大島颯太、片岡洋行
2. 発表標題 ポラリティ スイッチングLC-MS/MSに基づくストレス応答ステロイドホルモン類のオンライン自動分析システムの開発
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮田早織、片岡洋行
2. 発表標題 ポラリティ スイッチングLC-MS/MSによるストレス関連カテコールアミン及び代謝物の高感度一斉分析法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片岡洋行、宮田早織
2. 発表標題 リラクゼーションバイオマーカーとしてのオキシトシン、ドーパミン、セロトニン及び代謝物のLC-MS/MSによる高感度同時分析法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022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 80回分析化学討論会
4. 発表年 2020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 土屋尊嗣、齋藤啓太、片岡洋行
2. 発表標題 ファイバーSPME / GC-MS法による3-methyl-3-sulfonylhexan-1-olの高感度分析法の開発
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 片岡洋行、大島颯太、大川泰志
2. 発表標題 In-tube SPMEと極性切替LC-MS/MSのオンライン連結による唾液中ストレス応答ステロイドバイオマーカーの高感度同時分析
3. 学会等名 第83回分析化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片岡洋行、本荘真央、本城明日香、黒田裕
2. 発表標題 In-tube SPME / LC-MS/MS法による唾液中ストレス関連バイオマーカーの高感度オンライン自動分析とそのリラクゼーション効果解析への応用
3. 学会等名 日本分析化学会第72年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黒田裕、片岡洋行
2. 発表標題 唾液バイオマーカー分析と指先脈波解析に基づくカラーメガネのストレス緩和及びリラクセス効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 前田七海、片岡洋行
2. 発表標題 唾液バイオマーカー分析とウェアラブル端末による心拍変動解析に基づく音楽のストレス緩和及びリラクセス効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 山口萌衣、片岡洋行
2. 発表標題 唾液バイオマーカー分析と心拍変動フラクタル解析に基づく音楽のストレス緩和及びリラクセス効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 片岡洋行、江原健太郎
2. 発表標題 唾液バイオマーカーのIn-tube SPME / LC-MS/MS分析と心拍変動解析に基づく受動喫煙の精神的健康度評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 片岡洋行、人見崇史、中山大輝
2. 発表標題 In-tube SPME / LC-MS/MSによる唾液中ステロイドホルモン代謝関連化合物の高感度自動分析法の開発
3. 学会等名 第84回分析化学討論会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka	4. 発行年 2023年
2. 出版社 MDPI: Basel, Switzerland	5. 総ページ数 198
3. 書名 Solid-Phase Microextraction and Related Techniques in Bioanalysis (Edited by H. Kataoka)	

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka (Chapter 14)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK	5. 総ページ数 642
3. 書名 Evolution of Solid Phase Microextraction Technology (Edited by J. Pawliszyn)	

1. 著者名 Hiroyuki Kataoka (Chapter 1)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Elsevier: Amsterdam, Netherlands	5. 総ページ数 1016
3. 書名 Handbooks in Separation Science: Liquid Chromatography 3rd Edn (Edited by S. Fanali, B. Chankvetadze, P.R. Haddad, C. Poole and M.-L. Riekkola)	

1. 著者名 Edited by O.-M. Boldura, C. Balta and N.S. Awwad	4. 発行年 2020年
2. 出版社 InTech, Croatia	5. 総ページ数 194
3. 書名 Biochemical Analysis Tools-Methods for Bio-Molecules Studies	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>researchmap https://researchmap.jp/read2020-HKshujitsu Research.com https://research.com/u/hiroyuki-kataoka ResearchGate https://www.researchgate.net/profile/Hiroyuki_Kataoka Scopus https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7202767326 ORCID https://orcid.org/0000-0003-2315-6051 J-GLOBAL https://jglobal.jst.go.jp/en/detail?JGLOBAL_ID=200901016234175728 Google Scholar https://scholar.google.co.jp/citations?user=YqkZiWa4AAAAJ&hl=ja 就実大学ホームページ https://www.shujitsu.ac.jp/yakugaku_site/faculty-introduction/basis/</p>

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