

受賞報告

LC-MS/MS法によるヒト尿中におけるバニルマンデル酸, ホモバニリン酸, メタネフリン, ノルメタネフリンおよびクレアチニンの同時定量法の検討

塩川 亮太 細田 香織 石井 和夫

杏林大学保健学部臨床薬理学教室

【目的】

神経芽細胞腫は白血病に次いで小児に多いがんである。この疾患では、患者の尿中にカテコールアミンの最終代謝産物であるバニルマンデル酸(VMA)とホモバニリン酸(HVA)が多く排泄される (Fig. 1)。そのため、スクリーニング検査にはクレアチニン(Cr)補正した尿中VMA, HVA値が用いられていたが、良性腫瘍との区別が困難であることから現在休止されている。一方、褐色細胞腫もカテコールアミン産生腫瘍であり、スクリーニング検査にはCr補正した尿中メタネフリン(MN)値とノルメタネフリン(NMN)値を利用する (Fig. 1)。VMA, HVA, CrのみならずMNとNMNも同時に測定することにより、神経芽細胞腫スクリーニングの診断の精度の向上や、詳細な褐色細胞腫の検査の一助になることが期待される。さらに、2腫瘍の合併症例がある点からも5種を同時に分析するこ

とは非常に有用である。本研究では、化学的性質が大きく異なるVMA, HVA, MN, NMNとCrのLC-MS/MSによる短時間同時分析法を検討した。

【方法】

カラムはYMC Triart - C 18 (150×2.0 mm, 3 μ m; YMC), 移動相に10 mmol/l 酢酸アンモニウムとアセトニトリルの混液 (gradient) を用いた。尿10 mlに対し6 N塩酸を100 μ l加えたものを10倍希釈し、全量を100 μ lに調製した後、2 μ lを測定した。なお、内標準物質は重水素で標識されたVMA- d_3 , HVA- d_3 , MN- d_3 , NMN- d_3 およびCr- d_3 を用いた。

【結果及び考察】

VMA, HVA, MN, NMN, Cr および内標準物質は7分以内に分析可能であり、健常人尿における基準値の範囲において良好な直線性を示す検量線 ($r > 0.9951$) が得られた。検量線の範囲内3濃度において添加回収試験を行った結果、CrはいずれもCV 3.6%以下であったが、他の4種は十分な精度が得られなかったため、引き続き分析法の検討を加える。LC-MS/MS法による5種の同時分析は、検体検査の短時間化の観点から有用と考える。現在、簡便な固相抽出法も視野に入れ検討を進めており、精度再現性の高い分析法を確立する予定である。

【学会発表での質疑応答】

本稿は、学生リサーチ賞を拝受し、平成27年9月17～18日に開催された第40回日本医用マススペクトル学会年会 (浜松) に於いて発表した内容をまとめたものである。大学関係および分析関連企業研究者との活発な意見交換を行った。特に、分析条件に関する質疑が多く、本演題へ強い関心が寄せられた。学会発表は、準備から発表に至るまで著者を成長させる貴重な経験となった。

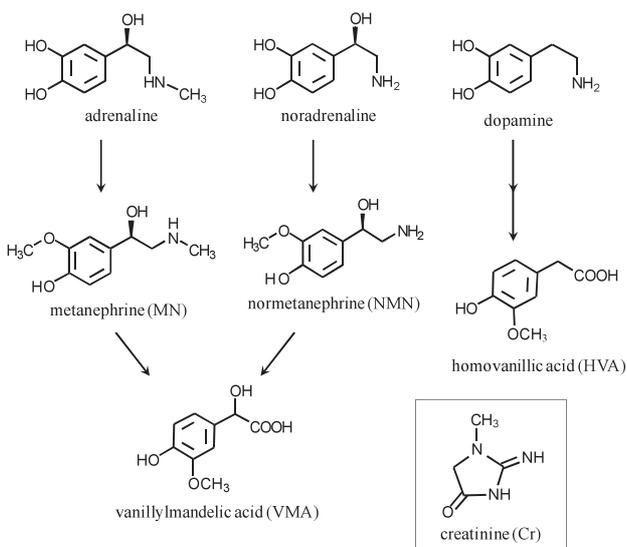


Fig. 1 Metabolism of catecholamine.