

# 29TC-pm01

電気化学検出 HPLC による血清植物ステロール定量法の開発とラット病態モデルのモニタリングへの応用

○伊藤 奈々子<sup>1</sup>, 袴田 秀樹<sup>1</sup>, 楠 文代<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京薬大薬)

【緒言】遺伝性の脂質代謝異常である植物ステロール血症の診断には、血清中の植物ステロールの分離定量が必要である。臨床における血清植物ステロールの定量は、ガスクロマトグラフィー、紫外可視検出 HPLC、LC-MS/MS などによって行われているが、高感度検出のために誘導体化を必要とする。今回、誘導体化を必要としない方法として、電気化学検出 HPLC (HPLC-ECD) による植物ステロール定量法を開発し、植物ステロール血症の病態モデルのモニターへと応用した。

【方法】HPLC-ECD システムは、分離カラムに Develosil C30-UG-3 (4.6 mm i.d. ×250 mm, 3 μm), 移動相に 50 mmol/L 過塩素酸リチウムを含むアセトニトリル溶液を用い、流速は 1.5 mL/min, カラム温度は 30°C に設定した。電気化学検出器の作用電極にはグラッシーカーボンを用いた。血清の前処理は、アルカリ鹼化の後、ヘキサンの液液抽出を行った。植物ステロール血症の病態モデルは、SHRSP ラットに 0.5%植物ステロール食を負荷して作成した。

【結果・考察】測定対象はβ-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラジカステロール、内標準物質を 6-ケトコレスタノールとした。検出電位+2.8 V vs. Ag/AgCl において 10~200 μmol/L の範囲で定量できた。また、繰り返し測定 of RSD は全て 3.1 %以下 (100 μmol/L, n = 6) となり、検出限界 (S/N = 3) は 17.0 pmol 以下であった。添加回収試験では、植物ステロールの回収率 (血清中濃度 10~30 mg/dL, n = 3) は 80 %以上、RSD は 4.2 %以下となった。高植物ステロール食を負荷した SHRSP ラットでは、血清中のβ-シトステロールとカンペステロールの増加をモニターできた。以上から、本法の診断法への有用性が示された。