

28amB-009

LC-MS/MS を用いたヒト血清および尿中ヒポキサンチン、キサンチン、尿酸の同時定量分析

○木下 尚之¹, 家木 克典¹, 酒井 孝範¹, 鶴藤 雅裕¹ (新日本科学 薬物代謝分析センター)

【目的】高尿酸血症の治療に用いられるキサンチンオキシダーゼ (XO) 阻害薬は、ヒポキサンチン (HX) およびキサンチン (XA) からの尿酸 (UA) 生成を抑制する。XO 阻害による UA 値低下作用の評価においては、血清中 UA 濃度が重要な指標となるが、HX および XA 濃度の変動についても薬効評価のために有効な指標となる。さらに、UA は主に尿中に排泄されるため、その HX, XA および UA 排泄量も薬効評価の指標となる。以上より、血清と尿中の HX, XA, UA を正確かつ精度良く同時定量分析することは XO 阻害薬の薬効評価に有用である。これまでに、HPLC-UV 法を使用した同時定量分析に関する報告があるが、特異性と分析時間が長いことが問題となっている。本研究は、LC-ESI-MS/MS を使用した選択的で迅速な同時定量法の開発を目的とした。

【方法】各測定対象の ¹⁵N 標識体を内標準物質に用いた。ヒト血清または尿試料 20 μ L を除たんぱく法により前処理し、LC-ESI-MS/MS 法で HX, XA, UA の濃度を測定した。分離には親水性相互作用クロマトグラフィ用カラム (Inertsil HILIC, ジーエルサイエンス)、検出にはタンデム四重極型質量分析計 (API4000, AB SCIEX) を用いた。既知濃度試料の測定で定量性を評価するとともに、健康人の血清と尿を用いて濃度を測定した。

【結果と考察】UA は 1~100 μ g/mL, HX と XA は 0.1~10 μ g/mL の範囲で良好な定量性を示した。UA は 1.9 分, HX は 2.3 分, XA は 2.4 分に溶出し、1 検体あたり 5 分以内に測定できた。また、健康人から得られた血清または尿中の HX, XA, UA を迅速かつ選択的に同時定量でき、XO 阻害薬の薬効評価に本法が有用であると考えられた。