

28amB-004S

HPLC-UV によるヒト尿中のバニルルマンデル酸、ホモバニリン酸、クレアチニンの同時定量法の検討

○杉山 智恵¹, 細田 香織¹, 横川 彰朋², 柴崎 浩美², 古田 隆², 石井 和夫¹
(¹杏林大保健, ²東京薬大薬)

【目的】神経芽細胞腫は小児の固形がんの中で最も発症頻度の高い疾患である。本腫瘍は主に副腎や交感神経節に発生し、患者の尿中には、カテコールアミンの最終代謝物であるバニルルマンデル酸 (VMA)、ホモバニリン酸 (HVA) が多く排泄される。したがって、診断には、尿中 VMA、HVA の測定と、測定値の補正に用いるクレアチニンの測定が行われる。しかし、VMA、HVA はアニオン性化合物、クレアチニンはカチオン性化合物であるため、生体試料中からこれらを同時に抽出し、分析することは困難である。そのため、これまで、3 種は酵素免疫法や HPLC-カラムスイッチング法などの複雑な分析法により別々に測定されてきた。本研究では、HPLC-UV を用いて VMA、HVA およびクレアチニンの同時測定法の開発を試みた。

【方法】アニオン性およびカチオン性化合物の保持が可能な Scherzo SM-C18 column (150 × 2.0 mm, 3 μm ; Imtakt) に 5 mM 酢酸アンモニウムと 100 mM 酢酸アンモニウム/メタノール=75/25 の混液 (gradient) を流速 0.3 ml/min で送液し、HPLC-UV 分離を行った。なお、カラム温度は 37°C、UV 波長は 270 nm に設定した。また、3 種を生体試料中から同時抽出するため、Oasis WAX (60 mg) と Oasis MCX (60 mg) を組み合わせる新規抽出法を開発し、本法による回収率を求めた。

【結果および考察】HPLC-UV により、VMA、HVA およびクレアチニンの 3 種は 7 分以内に分析可能であった。また、予備実験として、新規抽出法による VMA、HVA およびクレアチニンの水からの回収率を求めたところ、いずれの値もほぼ 100%と良好であった。しかし、生体試料中には夾雑物質が多く存在することから、上記 HPLC-UV 分析条件をもとに、LC-MS/MS による基礎検討を進める予定である。