

28T-am02

脂肪族アルデヒドのプレカラム蛍光誘導体化 HPLC 定量法の開発と疾患患者血清への応用

○岸川 直哉¹, Marwa Fathy Bakr ALI¹, 大山 要¹, 中島 憲一郎², 黒田 直敬¹
(¹長崎大院医歯薬, ²長崎国際大薬)

【目的】生体組織が酸化ストレスを受けたときに、様々な脂肪族アルデヒドが生成することが知られている。また、生体中の脂肪族アルデヒド量の増加と疾患の発症との関連性が示唆されている。従って、生体試料中の脂肪族アルデヒドの測定は酸化ストレスが関連する疾患の診断に有用であると考えられる。本研究では、中鎖脂肪族アルデヒドを対象として、2,2'-フリルを発蛍光誘導体化試薬として用いる HPLC 蛍光定量法の開発を行った。さらに、開発した方法により糖尿病患者及び健常人の血清中脂肪族アルデヒド濃度の測定を行い、その値を比較した。

【方法】ヒト血清にメタノールを添加して除タンパクを行った後、その上清を採取した。上清に 2,2'-フリルのメタノール溶液及び酢酸アンモニウムの酢酸溶液を添加し、100℃で30分間加熱することにより蛍光誘導体化を行った。反応溶液を、分離カラムとして Cosmosil 5C18-MS-II (250 × 4.6 mm, i.d.)、移動相としてメタノールと水の混液(=80:20, v/v%; 流速 1.0 ml/min) を用いる HPLC システムに注入し、励起波長 250 nm 及び蛍光波長 355 nm で脂肪族アルデヒド誘導体の検出を行った。

【結果及び考察】蛍光誘導体化後の溶液を上記 HPLC システムに注入したところ、ペンタナールからデカナールまでの脂肪族アルデヒド 6 種を保持時間 30 分以内に検出することができた。本法による脂肪族アルデヒドの検出下限 (S/N=3) は 1-10 fmol/injection であった。本法をヒト血清中の脂肪族アルデヒドの測定へと応用したところ、メタノールによる除タンパクという単純な前処理操作のみで、血清成分の妨害を受けることなく脂肪族アルデヒドを測定可能であった。糖尿病患者及び健常人の血清中脂肪族アルデヒド濃度を比較した結果、糖尿病患者では健常人と比較して特にヘキサナール及びノナナール濃度が高値を示した。