

28T-pm02

UPLC/MS/MS によるメチルマロニル-CoA ムターゼ活性測定法の確立

○後藤 佳奈¹, 前田 康博¹, 伊藤 哲哉², 中島 葉子², 杉山 成司³, 片岡 智哉⁴, 堀田 祐志¹, 木村 和哲^{1,4,5} (¹名市大院薬, ²藤田保健衛生大医, ³愛知学院大薬, ⁴名市大院医, ⁵名市大病院薬)

【目的】先天性代謝異常症は、代謝酵素の活性低下のため有害物質が体内に蓄積し、発達遅延や知的障害などを引き起こす疾患の総称である。発症前に治療を開始することで重篤化を防止することが可能である。MS/MS を利用した拡大新生児マススクリーニングは一度に 20 種以上の代謝異常症を発見でき、その疾患の確定には、酵素活性測定が有用である。拡大マススクリーニングの対象疾患であるメチルマロン酸血症は、原因酵素となるメチルマロニル-CoA ムターゼの詳細な活性測定法が存在しない。今回、UPLC/MS/MS を利用した酵素活性測定法を確立することを目的とした。

【方法】患者と健常人のリンパ球を超音波で破碎して酵素液とし、ムターゼの基質であるメチルマロニル-CoA 及び補酵素であるビタミン B₁₂ を加え、37 °C でインキュベートした。生成したサクシニル-CoA を UPLC/MS/MS の MRM mode(m/z 868 > 361)で定量し、健常人に対する患者の生成量の割合を酵素活性とした。

【結果・考察】健常人のリンパ球を用いた酵素反応では、メチルマロニル-CoA 濃度を 200 μmol/L とし、インキュベート時間を 10 分としたときにサクシニル-CoA が最も効率よく生成した。また、UPLC/MS/MS による測定では、カラムに Acquity UPLC BEH C18 column (2.0 × 150 mm, Waters)を使用し、移動相に 400 mmol/L HCOONH₄(pH 7.5)と acetonitrile を用いることにより、サクシニル-CoA と、構造異性体であるメチルマロニル-CoA とを分離することができた。上記の方法で測定した、メチルマロン酸血症患者の酵素活性は、健常人に対して 0-1% の範囲であった。以上より、UPLC/MS/MS を使用したメチルマロン酸血症の精度の高い酵素活性測定法を確立し、今後のメチルマロン酸血症の確定診断に利用できると考えられる。