26H-pm04S

血中リゾホスファチジン酸の正確な測定系の開発

○松本 宏隆[1], 可野 邦行[1], 青木 淳賢[1,2]（[1]東北大院薬, [2]CREST•JST）

【目的】リゾホスファチジン酸 (LPA) は 6 つの特異的な G タンパク共役型受容体 (LPA_{1-6}) を介して様々な生理機能を発揮する脂質メディエーターである。LPA の血中レベルは、癌や肝硬変のような病態で上昇することから、病態マーカーとしての有望性が注目されている。しかし、LPA は血液中で lysoPLD 活性を有するオートタキシン (ATX) や活性化血小板から容易に産生される。さらに膜型ホスファターゼをはじめとする LPA の分解酵素も血中に存在することから、循環血液中及び単離血漿中で LPA レベルは容易に変動することが予想される。そこで本研究では血液サンプル中の正確な LPA 濃度を測定するための方法を検討することとした。

【結果・考察】まず我々は、LC-MS/MS (Ultimate3000 – TSQ Quantiva)の系を用いた LPA の高感度測定系を構築した。このシステムを用いることで、2 nM までの LPA を再現性よく定量することが可能となった。血漿を 37℃でインキュベーションすると時間依存的な LPA 産生が認められたが、ATX 阻害剤 (ONO-8540506) と血小板阻害剤 (EDTA, CTAD) を血漿に添加するとLPA産生はほぼ完全に抑制できた。しかし、これらの LPA 産生系阻害剤を全血に添加すると、興味深いことに今度は時間依存的な LPA の消失が認められ、氷上でも 15 分後には約半分まで LPA 濃度が低下することが明らかとなった。血漿中では LPA の消失は全く起こらないことから、採血後ただちに冷却遠心によって血漿を調整することが重要と考えられた。以上のプロトコールで、マウスおよびヒトの血漿 LPA の測定を試みたところ、いずれのサンプルにおいても LPA 濃度は約 20 nM と、既存の報告よりも少ない値であることが明らかとなった。LPA 分子種は 18:2-LPA が最も多く, 次いで 20:4-LPA, 16:0-LPA の順で検出された。