

25P-am10

トリアゾール型 HILIC カラムを用いた LC-MS/MS による NMDA 受容体調節分子の一斉定量法の開発とラット脳マイクロダイアリシス法への応用

○坂本 達弥¹, 早坂 あかね², 多胡 涼平², 小野里 磨優², 一場 秀章^{1,2}, 福島 健^{1,2} (東邦大院薬,²東邦大薬)

【目的】統合失調症の発症は、グルタミン酸仮説では中枢神経系 *N*-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体の機能不全によるとされている。本研究では NMDA 受容体の調節・活性化因子である D-Ser、Gly、L-Glu 等を、トリアゾール型 HILIC 固定相を備えた LC-MS/MS を用いて一斉に分析する方法の開発を試みた。次に、D-Ser の投与が、脳細胞間質液中の神経伝達物質濃度への影響の有無を調べるため、ラット脳マイクロダイアリシス (MD) 実験を行い、本法を用いて検討した。

【方法】D-Ser を腹腔内投与 (0, 20, 50 mg/kg) 後のラット脳 MD サンプル (プローブ位置: 線条体) 5 μ L をキラル蛍光誘導体化試薬である (S)-DBD-PyNCS で処理し、成分アミノ酸をジアステレオマー化後、トリアゾール型 HILIC 固定相 COSMOSIL[®] 2.5HILIC (2.0 i.d. \times 150 mm, 2.5 μ m) を用いて分離し、Negative ESI-MS/MS (Shimadzu LCMS-8040) にて定量を行った。

【結果・考察】標準 DL-アミノ酸の溶出時間の確認、分離条件の検討を行い、DL-Met、-Phe、-Ala、-Trp、-キヌレニン、-Tyr、-Ser の各光学異性体の完全分離 ($R_s > 1.5$) が可能であった。続いて、本 LC-MS/MS 法をラット脳 MD サンプル中アミノ酸の定量へ応用したところ、脳細胞間質液に由来する D-Ser、L-Ser、D-Ala、L-Ala を始め、 γ -アミノ酪酸 (GABA) や L-His、L-Glu など十数種の L-アミノ酸の一斉定量が可能であった。また、MD 実験により D-Ser 腹腔内投与ラット脳での D-Ser 濃度の投与量依存的な増加が見られた。本学会では、本定量法のその他の試料種への応用例についても報告する。