

21PO-pm106

2-ピコリルアミン誘導体化UHPLC-ESI-MS/MS法を用いた短鎖脂肪酸のマウス臓器分布解析

○長友 涼介¹, 福田 敦子¹, 市村 真祐子², 赤津 裕康^{3,4}, 常山 幸一², 井之上 浩一¹(¹立命館大薬, ²徳島大医, ³名市大医, ⁴福祉村病院)

【目的】短鎖脂肪酸(Short-chain fatty acids, SCFAs)は腸内細菌の代謝物として広く知られており, その変動は宿主への生理活性, 生活習慣や病態へ大きく関与している. その一方で, SCFAsは宿主に対して, 様々な臓器へ分布し, その生理活性を示すことが報告されている. そのため, 臓器別にどのような分布を示し, 生理活性や病態影響との関連性は今後の検証が必要である. そこで, 本研究では, カルボキシ基に特異的誘導体化であるピコリルアミン(2-picolylamine, 2-PA)を用いたLC-MS/MS分析法を開発し, マウス臓器を対象に前処理及び分布解析を実施することとした.

【方法】対象のSCFAsは, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸, イソ酪酸, 吉草酸, イソ吉草酸, 2-メチル酪酸, ヘキサン酸, 4-メチル吉草酸, コハク酸(炭素鎖1~6)とした. また, LC-MS/MS装置はACQUITY UPLC H-Class/Xevo TQD(Waters社製)を用い, ESI-ポジティブモード(MRM, Cone voltage: 30 V, Collision energy: 15 V)とした. カラムはACQUITY UPLC BEH C₁₈(1.7 μm, 2.1×100 mm: Waters社製)を使用し, 移動相は0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸メタノール溶液(流速: 0.3 mL/min)を用いた. また誘導体化反応の検討を行い, 高感度な測定系を検証した. 各臓器の前処理にはQuEChERS法を採用し, 生体試料の簡便かつ容易な方法を目指した.

【結果及び考察】対象のSCFAsに関する2-PA誘導体化反応は, 各種触媒や反応条件の最適化を行い, UHPLC-ESI-MS/MSにて評価した. MS/MSでは, [M(PA-derivative)+H]⁺のプレカーサーイオンを検出し, 2-PA由来[PA+H]⁺(*m/z* 109)をプロダクトイオンとしてMRM測定を行った. その結果, 逆相系分離のもと10分以内に10種類の短鎖脂肪酸を一斉分析することができた. また, QuEChERS法による前処理も回収率80%以上と良好な結果を得た. 本分析法を用いて, マウス臓器のSCFAsに関する網羅解析への応用を行なった. 本手法を用いて, マウス臓器へ応用した結果, 脳, 肝臓, 腸管などに特異的なSCFAs分布を見出すことができた.