

21PO-am397S

マウス尿中の prostaglandin 代謝物の定量法の確立

○若林 愛奈¹, 竹内 敦子¹ (¹神戸薬大)

【目的】Prostaglandin(PG)はプロスタノ酸骨格を持つ生理活性物質で、アラキドン酸から生合成されるエイコサノイドである。PGD₂ は血小板凝集や睡眠誘発などに、PGE₂ は炎症亢進などに関与する強い生理活性を持ち、血液・組織・器官で認められる。そのため、PG の尿中代謝物を測定することで、生体内で起こっている現象を知ることが可能であり、動物実験にも応用できる。マウスを用いる実験では、採尿法によって PG の抽出法に工夫が必要である。そこで、2 種類の採尿法での PGD₂ 代謝物 (PGDM) と PGE₂ 代謝物 (PGEM) の定量法について検討した。

【方法】1) マウス採尿法及び抽出法: ①排尿により染み込ませた紙チップから 0.3% 酢酸を用いて抽出する。②マウス用代謝ケージを用いて直接尿を採取する。2) LC-MS/MS による定量法: ①または②に d₆- PGDM と d₆- PGEM 内部標準液を加え、固相抽出カラムを用いて PG 代謝物を抽出し、抽出液を濃縮乾固・再溶解して測定用試料とした。その後 API3200 LC-MS/MS system に適用し、最適条件のプリカーサーおよびプロダクトイオンを選び、SRM (Selected Reaction Monitoring) 法で測定した。PGDM または PGEM とそれぞれの内標準物質とのピーク面積比を用いて定量値を算出した。また、比色法によりクレアチニンを定量し、補正した。

【結果及び考察】①の紙チップ採尿法では、PGDM および PGEM を効率よく回収するために紙チップの量、0.3%酢酸の量、容器などを工夫する必要があった。②の直接採取法では、採尿量の最低必要量があった。①及び②のいずれの採尿サンプルでも、LC-MS/MS 法により、PGDM と PGEM は単一のピークとして認められ、同時分離定量が可能であった。今後の課題として、マウスを用いる実験でさらに簡便で効率的な研究を行うための工夫について検討していきたいと考える。