

●LC-MS/MS を用いる血漿中のステロイドホルモン類の 多成分同時測定

TN473

Multicomponent simultaneous determination of steroid hormones in plasma using LC-MS/MS

[概要]

近年、薬物の薬効評価や毒性発現の指標として内因性代謝物の変化を解析するメタボロミクス研究が活発化しています。内因性代謝物の中でもステロイドホルモンは遺伝子発現、生殖、心血管、神経機能などの調節といった幅広い機能を有しており、様々な疾患等のメカニズムを理解するうえで重要な物質群であることから、ステロイドホルモン合成経路全体のプロファイル进行分析することで合成障害が起こっているプロセスの特定等を迅速に行うことができると考えられています。

ステロイドホルモンを測定する代表手法としてイムノアッセイが挙げられますが、成分毎に抗体が必要なことから、測定成分が増えるごとにコスト・測定時間が増加し、プロファイル分析のデータベースには利用し難い方法です。一方、LC-MS/MS を用いたステロイドホルモンのプロファイル分析法は多成分を同時に測定でき、コスト・測定時間を短縮できるといったメリットから着目されています¹⁾²⁾。

当社は LC-MS/MS を用いたステロイドホルモン 14 成分の分析法を確立しております。本手法は少量サンプルでも高感度にステロイドホルモン 14 成分を同時に定量することができます。

[事例]

当社では、サル血漿、ヒト血漿及びラット血漿の分析が対応可能です。ここでは、サル血漿の測定結果を事例として紹介します。

サル血漿 0.2 mL を使用し、液液抽出にて精製を行い、LC-MS/MS を用いて測定を実施した。

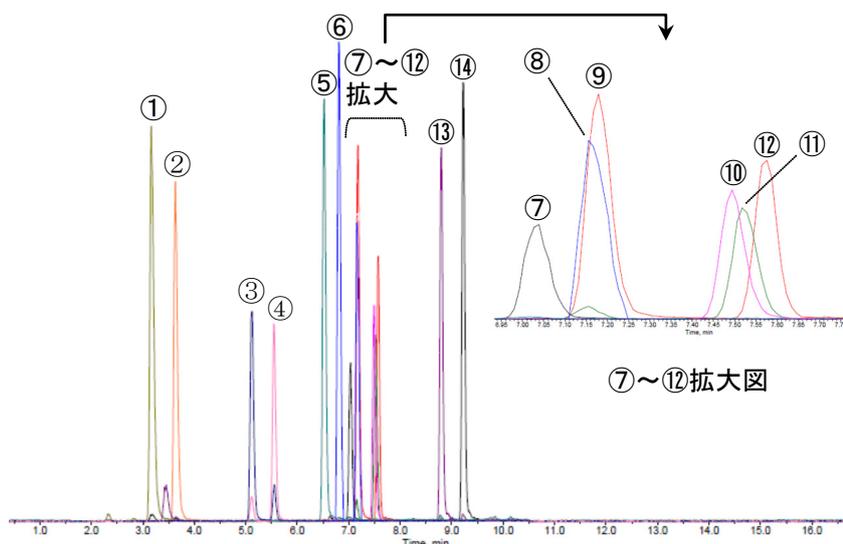


図1 ステロイドホルモンの LC-MS/MS クロマトグラム

①：アルドステロン、②：コルチゾール、③：コルチコステロン、④：11-デオキシコルチゾール、⑤エストラジオール、⑥：テストステロン、⑦：17-ヒドロキシプレグネノロン、⑧：デヒドロエピアンドロステロン、⑨：デオキシコルチコステロン、⑩：アンドロステンジオン、⑪：エストロン、⑫：17-ヒドロキシプロゲステロン、⑬：プレグネノロン、⑭：プロゲステロン

表 1 サル血漿中ステロイドホルモン濃度測定

	定量範囲* (pg/mL)	サル血漿中 内因性量** (pg/mL)
プレグネノロン	100~100,000	ND (73.4) ~468
17-ヒドロキシプレグネノロン	300~100,000	ND~3,600
デヒドロエピアンドロステロン	300~100,000	2,460~22,500
プロゲステロン	5~100,000	6.23~823
17-ヒドロキシプロゲステロン	10~100,000	52.5~4,740
アンドロステンジオン	5~100,000	462~857
デオキシコルチコステロン	10~100,000	25.9~205
11-デオキシコルチゾール	30~100,000	225~6,010
コルチコステロン	30~100,000	2,100~14,700
コルチゾール	1,000~1,000,000	114,000~462,000
アルドステロン	30~100,000	82.1~195
テストステロン	10~100,000	228~218,00
エストロン	10~10,000	ND~42.0
エストラジオール	10~10,000	ND~131

* : 添加検量線試料は水を用いて調製した。

** : 雌雄各 3 個体を使用、ND (xxx) カッコ内は外挿値。

サル血漿を用いて QC 試料 (3 濃度、N=3) を調製し、各 QC 試料の定量値からブランク試料の定量値を引いた値を用いて、精度および真度を算出した結果、いずれの成分も精度 20%以内、真度±20%以内の結果が得られました。

これらの結果から、当社で開発した分析法で少量のサンプルで高感度にステロイドホルモン 14 成分を同時に分析可能であることを確認しました。

本事例ではサル血漿の測定結果のみ紹介しましたが、ヒト血漿及びラット血漿の分析についても対応可能です。お気軽にご相談ください。

[キーワード]

Steroid、LC-MS/MS

[参考文献]

- 1) Rauh M., Steroid measurement with LC-MS/MS. Application examples in pediatrics. (2010) J Steroid Biochem Mol Biol. 121(3-5):520-527.
- 2) Tochitani T et al., Changes in plasma concentrations of corticosterone and its precursors after ketoconazole administration in rats: An application of simultaneous measurement of multiple steroids using LC-MS/MS. (2016) Exp Toxicol Pathol. 68(2-3):125-131.

作成 : 大阪ラボラトリー (HF1609) 3-MO-(44)