



Quantification of lysophosphatidylcholines and phosphatidylcholines using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in neonatal serum

高寺, 明弘

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2007-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3820

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003820>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 1 2 1 】

氏 名・(本 籍) 高寺 明弘 (兵庫県)

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博い第1819号

学位授与の 要 件 学位規則第5条第1項該当

学位授与の 日 付 平成19年3月25日

【 学位論文題目 】

Quantification of lysophosphatidylcholines and phosphatidylcholines
using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in neonatal
serum

(新生児血清における、液体クロマトグラフィー・タンデムマスペクトロ
メトリーを用いたリゾフォスファチジルコリンとフォスファチジルコリン
の定量方法について)

審 査 委 員

主 査 教 授 丸 尾 猛
教 授 熊 谷 俊一
教 授 西 尾 久英

リゾフォスファチジルコリン (lysophosphatidylcholine: LPC) は様々な免疫細胞を賦活化する働きを持つ生理活性脂質として血清中に存在することが知られている。また、LPC は、フォスファチジルコリン (phosphatidylcholine: PC) がフォスホオリパーゼ A₂ 等の加水分解を受けて産生される。しかし、新生児における血清 LPC および PC に関する報告はない。

そこで、我々は、高い選択性と感度を持つ、高速液体クロマトグラフィーとタンデムマスペクトロメトリーとを組合わせた質量分析法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS) を用いて、新生児血清中の LPC および PC を、分子種を区別して測定する方法の確立を目的とした。

方法として、タンデムマスペクトロメトリーには、正イオンモードを採用し、multiple reaction monitoring (MRM) 法を用いた。質量分析を行う前に、20μl の微量血清に一定量の内部標準 (18:0-D35 LPC と 14:0/14:0-PC) を添加し、これから固相抽出法を用いてリン脂質を精製する過程を経た。測定する分子種は 16:0-, 18:0-, 18:1-, 18:2-, 20:4-LPC と 16:0/18:1-, 16:0/18:2-, 16:0/20:4-, 16:0/20:3-, 18:1/18:2-, 18:0/18:2-PC とした。本法の測定精度については、検量線、intra-assay および inter-assay により検討した。

16:0-LPC, 18:0-LPC について標品を用いて作成した検量線は、いずれも直線性を示した。また、今回測定した全ての LPC および PC 分子種の測定結果は、intra-assay、inter-assay における変動係数が 10 % 未満であり、本法は高い測定精度を示した。

本法の測定精度が高いことを確認した後、健康成人と出生体重 1,500 g 以上の新生児の、血清 LPC および PC 分子種を測定し、成人と新生児の測定値を比較検討した。日齢 0, 1 の新生児における血清 16:0-, 18:0-, 18:1-, 18:2-LPC 値は成人よりも有意に低値を示した。新生児では、日齢 0, 1 の測定値が日齢 4~8 の値よりも全ての LPC 分子種において有意に低値であった。即ち、新生児の血清 LPC は、出生直後は成人よりも有意に低値であるが、その後上昇して成人レベルに達することが明らかとなった。日齢 0, 1 の新生児における血清 16:0/18:2-, 18:0/18:2-PC 値は成人よりも有意に低値を示した。

今後、本法を新生児感染症における LPC と PC の関連を研究する手段として用いる予定であるが、高い精度が確認された方法であるため、十分利用可能と考えられた。

論文審査の結果の要旨

受 付 番 号	甲 第 1834 号	氏 名	高 寺 明 弘
論 文 題 目 Title of Dissertation	Quantification of lysophosphatidylcholines and phosphatidylcholines using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in neonatal serum 新生児血清における、液体クロマトグラフィー・タンデムマスペクトロメトリーを用いたリゾフォスファチジルコリンとフォスファチジルコリンの定量方法について		
密 査 委 員 Examiner	主 査 丸 尾 猛 Chief Examiner 副 査 熊 谷 俊 一 Vice-examiner 副 査 西 尾 久 英 Vice-examiner		
審 査 終 了 日	平成 19 年 2 月 21 日		

(要旨は 1, 0 0 0 字 ~ 2, 0 0 0 字程度)

リゾフォスファチジルコリン (lysophosphatidylcholine: LPC) は様々な免疫細胞を賦活化する働きを持つ生理活性脂質として血清中に存在することが知られている。また、LPC は、フォスファチジルコリン (phosphatidylcholine: PC) がフォスホオリパーゼ A₂ 等の加水分解を受けて産生される。しかし、新生児における血清 LPC および PC に関する報告はない。

そこで、我々は、高い選択性と感度を持つ、高速液体クロマトグラフィーとタンデムマスペクトロメトリーとを組合わせた質量分析法 (liquid chromatography–tandem mass spectrometry: LC-MS/MS) を用いて、新生児血清中の LPC および PC を、分子種を区別して測定する方法の確立を目的とした。

方法として、タンデムマスペクトロメトリーには、正イオンモードを採用し、multiple reaction monitoring (MRM) 法を用いた。質量分析を行う前に、20μl の微量血清に一定量の内部標準 (18:0-D35 LPC と 14:0/14:0-PC) を添加し、これから固相抽出法を用いてリン脂質を精製する過程を経た。測定する分子種は 16:0-, 18:0-, 18:1-, 18:2-, 20:4-LPC と 16:0/18:1-, 16:0/18:2-, 16:0/20:4-, 16:0/20:3-, 18:1/18:2-, 18:0/18:2-PC とした。本法の測定精度については、検量線、intra-assay および inter-assay により検討した。

16:0-LPC, 18:0-LPC について標品を用いて作成した検量線は、いずれも直線性を示した。また、今回測定した全ての LPC および PC 分子種の測定結果は、intra-assay、inter-assay における変動係数が 10 %未満であり、本法は高い測定精度を示した。

本法の測定精度が高いことを確認した後、健康成人と出生体重 1,500 g 以上の新生児の、血清 LPC および PC 分子種を測定し、成人と新生児の測定値を比較検討した。日齢 0, 1 の新生児における血清 16:0-, 18:0-, 18:1-, 18:2-LPC 値は成人よりも有意に低値を示した。新生児では、日齢 0, 1 の測定値が日齢 4~8 の値よりも全ての LPC 分子種において有意に低値であった。即ち、新生児の血清 LPC は、出生直後は成人よりも有意に低値であるが、その後上昇して成人レベルに達することが明らかとなった。日齢 0, 1 の新生児における血清 16:0/18:2-, 18:0/18:2-PC 値は成人よりも有意に低値を示した。

今後、本法を新生児感染症における LPC と PC の関連を研究する手段として用いる予定であるが、高い精度が確認された方法であるため、十分利用可能と考えられた。

本研究は、高速液体クロマトグラフィーとタンデムマスペクトロメトリーとを組合わせた LPC と PC の定量法について研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった LPC と PC の質量分析法について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。