

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））
分担研究報告書

カプリン酸測定法に関する研究

研究分担者 恵 淑萍 北海道大学大学院保健科学研究院 准教授

研究要旨

中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）は心筋細胞や冠状動脈硬化巣などに中性脂肪が蓄積することで重症心不全、不整脈を引き起こす難病である。本研究班はTGCVの治療法として中鎖脂肪酸油（Medium Chain Triglyceride, MCT）を含有する医薬品開発を行っている。本研究では、MCTの成分であるカプリン酸（FFA10:0）の新規HPLC定量法を確立した。

A. 研究目的

中性脂肪蓄積心筋血管症（TGCV）患者の治療法として中鎖脂肪酸油（Medium Chain Triglyceride, MCT）は有効であると証明された。MCTの組成成分であるカプリン酸（FFA10:0）を正確に定量するために新規HPLC分析法の開発を試みた。

B. 研究方法

FFA10:0をニトロフェニルヒドラジン（NPH）によるラベル化法でFFA10-NPHを標準物質として得た。また、ウンデカン酸（FFA11:0）もNPHと反応させ、FFA11-NPHを内部標準物質（IS）として合成した。同様に、代表的な長鎖飽和脂肪酸であるパルミチン酸（FFA16:0）、ステアリン酸（FFA18:0）からFFA16:0-NPH及びFFA18:0-NPHをそれぞれ合成した。なお、FFA16:0-NPH及びFFA18:0-NPHのISとしてFFA17-NPHを合成した。合成した標品及び内標準物質の構造の確認はLTQ XL（Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA）を用いる質量分析により行った。

C. 研究結果

合成した標品の構造はLC/MSにより確認した。FFA10-NPHについては1.0～200.0 pmol/injectionの範囲で良好な検量線を得た。FFA10-NPHの検出限界（S/N=3:1）は0.6 pmol、定量限界（S/N=4:1）は1.0 pmolであった。FFA10:0の新規HPLC定量法を確立することができた。

D. 考察

脂肪酸分析は、脂肪酸をメチルエステルに転換してからガスクロマトグラフィー（GC）で測定する方法が汎用されている。メチルエステル化されたFFA10:0は揮発性が高まり、室温でも気化するため、この方法はFFA10:0の定量に向かない。さらに、脂肪酸を血清から抽出操作する過程でもFFA10:0を失いやすい。本研究で、脂肪酸-NPH誘導体に変換後、HPLC法にて分析することにより高精度かつ高感度にFFA10:0を定量することができた。本法では、脂肪酸に極性の高い官能基を結合するため揮発性を抑えることができ、FFA10:0の良好な回

収率を得ることができた。また、NPH は強い UV 吸収を示すために測定感度の面でも有利である。内標準物質として FFA11:0-NPH と FFA17:0-NPH を用いたことで、抽出や分析の過程での脂肪酸の損失に影響されない信頼性の高い測定が可能となり、良好な正確性と再現性が得られた。

E. 結論

カプリン酸の新規 HPLC 定量法を開発することができた。今後は、MCT 服用前後の TGCV 患者血中総 FFA10:0 濃度を測定するに本法を応用する予定である。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Detection of medium-chain triglyceride in fibroblast from adipose triglyceride lipase deficiency by Orbitrap LC/MS.

Shu-Ping Hui, Ken-ichi Hirano, Rojeet Shrestha, Akira Suzuki, Satoshi Yamaguchi, Hironori Nagasaka, Syouta Fukuzawa, Hitoshi Chiba. The 2nd International Symposium on Triglyceride Deposit Cardiomyovascularopathy and Neutral Lipid Storage Disease

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許出願

カプリン酸定量方法

(特願 2013-224897、出願日：平成 25 年 10 月 30 日)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし