

ビタミン D 代謝産物の LC-MS/MS による血中濃度測定

(東農工大院¹、日本電子²) ○永田亜希子¹・坂本良太¹・飯島一翔¹・
滝脇正貴²・菊谷善國²・福沢世傑²・小田木陽¹・寺正行¹・長澤和夫¹

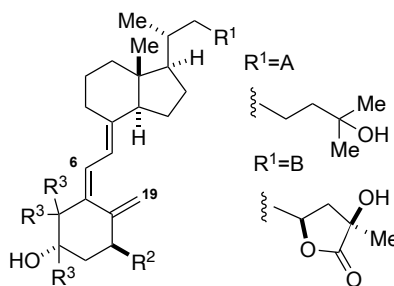
Determination of blood plasma levels of vitamin D metabolites by LC-MS/MS. (¹*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*, ²*JEOL Ltd.*) ○Akiko Nagata,¹ Ryota Sakamoto,¹ Kazuto Iijima,¹ Masaki Takiwaki,² Yoshikuni Kikutani,² Seketsu Fukuzawa,² Minami Odagi,¹ Masayuki Tera,¹ Kazuo Nagasawa¹

The blood concentration of vitamin D metabolites is an important indicator for the diagnosis of diseases such as hypercalcemia. In recent years, liquid-chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) have been a powerful technique for measuring them. However, there are few examples of measuring of blood levels of vitamin D metabolites. In this study, we measured the concentrations of vitamin D metabolites in human pooled serum by LC-MS/MS using synthesized deuterium-labeled vitamin D metabolites as internal standards.

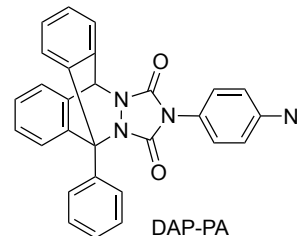
Keywords : Vitamin D; Deuterium labeling; Liquid-chromatography tandem mass spectrometry; Measurement of blood levels

【目的】ビタミン D 代謝産物の血中濃度は高カルシウム血症などの疾患の診断における重要な指標となっている。近年、LC-MS/MS によるビタミン D 代謝産物の血中濃度測定法の研究が行われている。しかしその測定に必要な内部標準物質となる安定同位体標識されたビタミン D 代謝産物の合成が困難であるため、血中濃度を正確に測定可能なビタミン D 代謝産物は限られている。そこで本研究では、当研究室で開発した重水素標識ビタミン D 代謝産物 (**1-3-*d*₃**) を用いて¹、ヒトプール血清中のビタミン D 代謝産物の濃度を定量した。

【実験】LC-MS/MS での感度向上のため、合成した重水素標識ビタミン D 代謝産物 (**1-3-*d*₃**) と非標識体 (**1-3**) を DAP-PA を用いて誘導体化したところ、C6,19 位の *s*-cis diene に対して Diels-Alder 反応が定量的に進行した²。誘導体を LC-MS/MS 分析したところ、Selected reaction monitoring (SRM) クロマトグラム上で重水素標識体と非標識体の保持時間 (*t_R*) が一致することを確認した。これらの知見をもとに、**1-3-*d*₃** を内部標準物質として用いて、ヒトプール血清中の **1-3** の濃度をそれぞれ定量することできた。



R¹=A, R²,R³=H 25OHD₃(**1**) R³=D: **1-*d*₃**
R¹=B, R²,R³=H 25OHD₃-lactone(**2**) R³=D: **2-*d*₃**
R¹=B, R²=OH,R³=H 1,25OHD₃-lactone(**3**) R³=D: **3-*d*₃**



1) 飯島 一翔、長澤 和夫 等、日本化学会第 102 会春季年会

2) Seki, M.; Sato, M.; Takiwaki, M.; Takahashi, K.; Kikutani, Y.; Satoh, M.; Nomura, F.; Kuroda, Y.; Fukuzawa, S. *Analyses. Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2020**, *34*. e8648.