

LC-MS/MS によるヒト血清中遊離型ステロイドホルモンの 高感度測定法の開発を発表しました

2020年7月20日～8月31日において、第93回日本内分泌学会学術総会にて、「LC-MS/MSによるヒト血清中遊離型ステロイドホルモンの高感度測定法の開発」を発表しました。

発表において弊社が開発した、LC-MS/MSによるヒト血清中遊離型ステロイドホルモンの測定法の概要と測定例をご紹介します。

遊離型ステロイドホルモンについては遊離型テストステロンが LOH 症候群の診断に利用されていますが、その他のステロイドホルモンは疾患との関連について殆ど報告されていません。血中においてステロイドホルモンの大部分はアルブミンやグロブリンなどのタンパク質と結合して存在しています。遊離型のステロイドホルモンは微量であり、その遊離型が生理活性を示すと考えられています。

そして、短時間で複数の遊離型ステロイドホルモン濃度を高感度で測定することは殆ど行われていません(図1)。

測定法	メリット	デメリット
イムノアッセイ (RIA)	<ul style="list-style-type: none"> 測定が簡便 LOH症候群等の診断に利用 	<ul style="list-style-type: none"> テストステロンのみ測定が可能
平衡透析-LC-MS/MS	<ul style="list-style-type: none"> 多成分の遊離ホルモン濃度測定が可能 	<ul style="list-style-type: none"> 平衡透析に長時間(約24時間)を要する測定に高感度化が必要
Free androgen index ^(*) 等の算定法	<ul style="list-style-type: none"> 様々な遊離ステロイドホルモン濃度の指標に利用可能 	<ul style="list-style-type: none"> トータルステロイドホルモンと結合タンパク質の両方の濃度を測定しなければならない 対象となるステロイドホルモンが限定

*: トータルテストステロン濃度/結合タンパク質 (SHBG) 濃度

図1 遊離型ステロイドホルモンの測定例

本法では測定対象ステロイドとして、アンドロゲンからテストステロン(T)、11ケトテストステロン(11-KT)、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)を、グルココルチコイドからはコルチゾール(F)、コルチゾン(E)を選択し、限外ろ過法を用いることで、ヒト血清（血漿）0.25mLで精度よく遊離型ステロイドホルモンを測定可能です(図2)。

ステロイド	直線性 (pg/mL)	添加回収率 (%)	同時再現性 (%)	日差再現性 (%)	定量下限 (pg/mL)
F	25 ~ 100000	102.4 ~ 104.7	1.8 ~ 8.0	5.4 ~ 7.7	25
E	25 ~ 100000	91.8 ~ 101.2	1.8 ~ 3.1	4.4 ~ 6.6	25
T	5 ~ 10000	100.6 ~ 105.4	5.0 ~ 8.3	6.3 ~ 7.4	5
11-KT	5 ~ 20000	103.7 ~ 108.4	2.9 ~ 5.8	4.4 ~ 6.6	5
DHEA	5 ~ 20000	89.7 ~ 101.6	3.1 ~ 6.0	4.7 ~ 10.0	5

図2 バリデーション結果

(2020年12月)