



過酸化脂質の超高精度分析技術の開発と量子化学の融合による 脂質の酸化経路解明に向けた研究

東北大学大学院 農学研究科 加藤 俊 治

はじめに

脂質は私たちの身の回りに普遍的に存在し、さまざまな要因で酸化する。この脂質酸化は食品、工業品の品質低下や生体での疾患リスクの上昇を引き起こすため、食品、工学、医学といった幅広い分野でその抑制や制御が重要な課題となっている。脂質酸化は数千から数万の分子を生成する非常に複雑な反応であるが、筆者はその根底に、全ての反応を説明できる“原理原則”が存在すると考えており、この原理を解明し、脂質酸化を適切に制御（抑制、あるいは必要に応じて促進）する方法を開発することが、筆者の研究ビジョンである。

1. 酸化一次反応：脂質ヒドロペルオキシド異性体の生成

脂質の酸化一次反応は脂質ヒドロペルオキシド (LOOH) の生成である。この反応には様々な原因が考えられているが、化学的にはラジカル酸化、酵素酸化、一重項酸素酸化のいずれかの機構に分類される (図1)。重要な点としてラジカルのクエンチングには水素ラジカルドナーが、一重項酸素のクエンチングにはポリエン構造を有する化合物が有効であり、酵素酸化には酵素阻害が必要である。故に LOOH の生成制御には実際のサンプルで亢進している酸化機構を見極めることが重要となる。

脂質がいずれかの酸化機構によって酸化するとき、その機構に依存してヒドロペルオキシ基の位置の異なる LOOH 異性体が生成する (図1)。すなわち、ヒドロペルオキシ基の位置を解析できれば、サンプルで亢進する酸化機構を明らかにできる。しかし、この解析 (特にエステル脂質のヒドロペルオキシド) は、当時最新の質量分析器 (MS) でも不可能であった。こうした中で筆者は在学中、ふと LOOH が Na^+ 付加体を形成しやすいことに気づき¹⁾、 Na^+ 付加体のプロダクトイオンスペクトルを解析したところ、ヒドロペルオキシ基の位置を反映した開裂を生じていることがわかった (これは H^+ 付加体では見られない)。これが突破口となり、その後、本現象を応用してリン脂質¹⁾、コレステロールエステル²⁾、トリアシルグリセロール³⁾ など様々な脂質のヒドロペルオキシ基の位置を高精度に解析

し、患者血液・病態組織や食品で亢進する脂質酸化機構を明らかにしてきた。例えば、血中のリン脂質やコレステロールエステルの酸化機構は専らラジカル酸化であることを明らかにした^{1), 2)}。また食用油脂は販売過程で主に光によって酸化されやすい可能性を示した他³⁾、現在、本手法を乳製品⁴⁾や生鮮食品 (魚)⁵⁾などの酸化機構解析へと展開している。

2. アルカリ金属付加体の分析

次に何故、 Na^+ 付加体がヒドロペルオキシ基の位置を反映した開裂を生じるのか、その原理の追究を行った。過去の MS を用いた研究において、二重結合の近傍に酸素原子がある化合物は Cation- π 電子相互作用によりアルカリ金属と配位結合を形成しやすいことが報告されていた⁶⁾。大半の脂質酸化物は二重結合の近傍に酸素を有するため、LOOH も Cation- π 電子相互作用により Na^+ と配位結合を形成していると考えられた。これを確認するため、LOOH と種々のアルカリ金属溶液 (Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) を混合し MS に供したところ、いずれも H^+ 付加体は形成せず、すなわち優先的にアルカリ金属と付加体を形成しており、上記仮説を支持する結果となった。

次にアルカリ金属がヒドロペルオキシ基に結合した際に起きる反応について検討した。Xiyan らは Triazole-epothilone を対象に、種々のアルカリ金属付加体の開裂を密度汎関数理論を用いて考察している⁷⁾。この計算によれば、気相中においてプロトンと金属イオンの結合位置は明確に異なり、プロトンはアミンに電気的に結合するのに対し、金属イオンは複数の酸素原子に対して配位結合を形成する。そしてこれは微細な (しかし開裂を変化させるには十分な) 構造変化、すなわち原子間距離や水素結合の変化をもたらす。ここでアルカリ金属イオンは全て 1 価であるが、イオン半径が増加するに伴い、電荷はイオン表面に分散されるため、面積当たりの Cation- π 電子相互作用の強さは弱まっていく。それ故、開裂の変化はイオン半径が小さいほど現れやすく、 Rb^+ や Cs^+ は付加体を形成するものの、開裂を起こさないまま外れてしまう場合が多い。

LOOH も Rb^+ , Cs^+ 付加体は開裂を起こさず、 Li^+ , Na^+ 付加体でのみヒドロペルオキシ基の位置に特徴的な開裂が生じることがわかった (K^+ 付加体はフラグメントイオンの強度が弱かった)。さらに、 Na^+ 付加体は主に α -開裂、 Li^+ 付加体は Hock fragmentation を引き起こすことがわかり、LOOH のアルカリ金属付加体の開裂は付加する金属のイオン半径に依存することが示された。

すなわち、 Na^+ 付加体がヒドロペルオキシ基の位置を反映した開裂を生じる理由として、LOOH の二重結合とヒドロペルオキシ基の酸素原子が Cation- π 電子相互作用により Na^+ と配位結合を形成すると同時に原子間距離に変化が引き起こされた (結合が弱くなった) ためと考えられた (図2)⁸⁾。

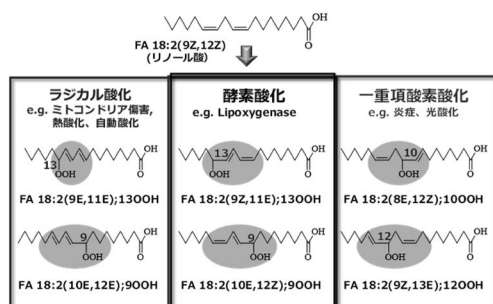
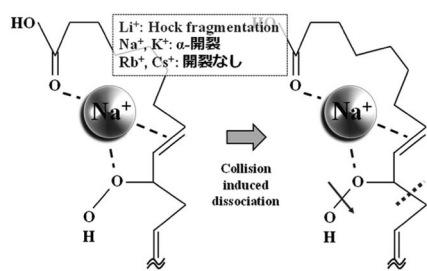


図1 脂質の酸化機構と LOOH 異性体構造

図2 LOOHとNa⁺の配位結合および衝突誘起開裂

3. 量子化学計算による脂質酸化部位の予測

LOOH異性体の標準品合成や解析を進める中で、ヒドロペルオキシ基が結合しにくい（もしくは結合しやすい）炭素が存在することが明らかになってきた。特に、カルボニル基側の二重結合には結合しにくい傾向がある。これまで各二重結合の酸化の難易に関しては、立体障害で考察される場合が多かった。こうした中で筆者は、「そもそも立体障害が無ければ、脂質の二重結合は等しく酸化されるのか」という疑問を抱き、現在、量子化学計算を用いて脂質分子のエネルギー状態や反応性の解析を進めている。

一例としてDHA分子のエネルギー状態をB3LYP/6-31G*で計算したところ、興味深いことにHOMOは4位の二重結合にほとんど分布しておらず、主に鎖の中心やメチル基側に偏っていることが明らかになった（図3）。この結果は、例えば一重項酸素がDHAの4位や5位にはほとんど結合しない筆者らの結果と一致している。この他、トリアシルグリセロールのsn位の違いによる反応性の違いやリン脂質（プラズマローゲンなど）の反応性が量子化学計算によって明らかになりつつある。

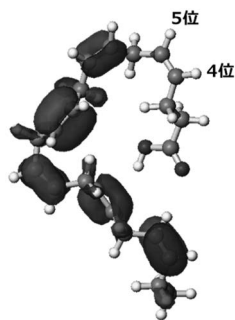


図3 DHA分子のHOMOの分布

4. 酸化二次反応：脂質ヒドロペルオキシドの分解

生成したLOOHはヒドロペルオキシ基の分解を介して、多種多様な酸化二次生成物へと分解していく。一般的に食品の風味に影響を与えたり、生体タンパク・核酸を修飾変性させたりするのはこの酸化二次生成物である。故に酸化二次生成物がどのような環境で、どのような脂質から生成するのか、すなわち多種多様な酸化二次生成物の生成を説明する“原理原則”を明らかにすることは、食品の品質維持・向上や疾患の発症メカニズム解明のために重要となる。従来、酸化二次反応の研究では、検出された化合物を基に脂質酸化経路を推測する手法、いわゆる「現象論」が主流であった。このアプローチでは観測された事実をもとに反応経路を説明するが、反応の根本的なメカニズムに踏み込むことは難しく、脂質酸化反応全体を矛盾なく説明できる「統一的な原理原則」を導くことはできていなかった。

筆者は質量分析におけるLOOHの開裂から着想を得て、酸化

二次反応（エポキシ化、開裂の場所、異性化、等）にいくつかの規則性を見出した。さらに活性化エネルギーおよび酸化二次生成物の自由エネルギーから脂質酸化反応全体を矛盾なく説明できる経路（原理原則）を構築した（図4、BBB論文賞（2024年度）⁹⁾。

この過程で例えば、有名な高反応性アルデヒドの一つであるAcroleinの新たな生成経路を予見し、さらにLC-MS/MS、GC-MS解析からこの予見が正しいことを証明した¹⁰⁾。さらに極最近、アミノ酸や核酸と高い反応性を持つジカルボニル化合物（GlyoxalとMethylglyoxal）の新たな生成経路を予見し、その証明を進めている。

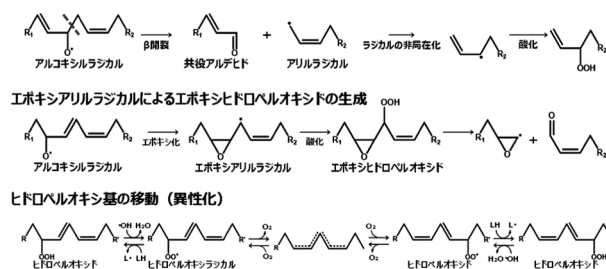


図4 LOOH分解の規則性（一例）

おわりに

近年、イオンの新たな開裂手法を備えたMSが登場し、著者らはその最新技術においてもアルカリ金属の有用性を確認している。これにより脂質の酸化修飾部位に関する新たな知見も得られている。また、コンピュータ技術の進化とともに、量子計算もますます現実的なツールとなりつつあり、この新しい技術の融合によって、さらに深い考察を得ることができると確信している。これらの手法を組み合わせ、本研究を次の段階へと進化させていきたい。

（引用文献）

- 1) Kato, S. et al., *Anal. Biochem.*, **471**, 51-60 (2015).
- 2) Kato, S. et al., *Antioxidants*, **10**, 1598 (2021).
- 3) Kato, S. et al., *Sci. Food*, **2**, 1-11 (2018).
- 4) Saito, H. et al., *Food Res. Int.*, **178**, 113913 (2024).
- 5) Kusumoto, I. et al., *Sci. Rep.*, **13**, 1325 (2023).
- 6) Morisaki, N. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 935-940 (2002).
- 7) Duan, X. et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **23**, 1126-1134 (2012).
- 8) Kato, S. et al., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **32**, 2399-2409 (2021).
- 9) Miyazaki, R. et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **87**, 179-190 (2023).
- 10) Kato, S. et al., *Sci. Food*, **6**, 21 (2022).

謝 辞 本研究を進めるにあたり、研究者としての道を支えてくれた両親と、日々支援を惜しまない家族に心より感謝申し上げます。また、在学中から現在に至るまで多大なご指導と奨励賞へのご推薦を賜りました東北大学大学院農学研究科の仲川清隆教授、ならびに本研究の機会を与えてくださいました東北大学未来科学技術共同研究センターの宮澤陽夫教授に深く感謝いたします。本研究は、大学や産業界の研究者、卒業生、在学生の皆様のご協力によって成し遂げられたものであり、心より御礼申し上げます。