

氏名	ARNOLD NOLA ONYANGO
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第2721号
学位授与の日付	平成16年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	STUDIES ON THE SYNTHESIS AND CHEMISTRY OF OXIDATIVELY MODIFIED LIPIDS (酸化修飾を受けた脂質の合成と化学的性質に関する研究)
論文審査委員	教授 馬場 直道 教授 多田 幹郎 教授 中島 修平

学位論文内容の要旨

In this thesis, the synthesis of phosphatidylcholine and cholesteryl esters of 13-oxo-9,11-tridecadienoic acid (OTDA) as model lipid esters bearing an oxidatively modified acyl chain with a 2,4-dienal terminal is described. The key step in the synthesis involves cleavage of methyl 13-hydroperoxy-9,11-octadecatrienoate with Fe^{2+} at 60 °C to give methyl OTDA. The free OTDA obtained by lipase-catalysed hydrolysis of OTDA methyl ester was then esterified to lysoPC or cholesterol, affording the target compounds (OTDA-PC and cholesteryl OTDA). Two chemical properties of OTDA-PC that are relevant to its possible detection in biological systems, namely its oxidative stability and its reactions with biological nucleophiles were investigated. Electrospray mass spectroscopy was used to identify the decomposition products and adducts between OTDA-PC and biological nucleophiles. Although OTDA-PC was found to be very stable when pure, it was very unstable in the presence of lipid-derived radicals, especially under aerobic conditions. Novel mechanisms are proposed for the oxidation of its carbonyl group under anaerobic conditions, and for its aerobic conversion to other aldehyde and acid PCs that have been detected in biological tissues and shown to be proatherogenic. OTDA-PC was found to react with amino groups in the R-chains of the amino acids lysine, arginine and histidine, mainly by formation of Michael adducts. It also reacted with two dipeptides containing lysine and arginine. However, it did not react with cysteine and glutathione which both contain a thiol group. Although the reactions of OTDA-PC with amino groups in proteins might give it important biological activities, they were not fast enough to prevent the detection of OTDA-PC. Although OTDA-PC is expected to be the main aldehyde PC generated from a PC bearing the 13-hydroperoxide of linoleic acid (PC-LA-OOH), it was found that PC-LA-OOH gave much more 9-oxononanoyl PC (ONA-PC) than OTDA-PC under both aerobic and anaerobic conditions. The formation of 9-oxononanoyl PC is explained by the isomerization of PC-LA-OOH to its 9-hydroperoxy isomer, which then undergoes heterolytic cleavage. It is shown that the 9-hydroperoxy group is much more prone to heterolytic C-C bond cleavage than the 13-hydroperoxy group. This explains why ONA-PC is the most predominant aldehyde PC obtained from linoleyl PCs, and may also partly explain the reason why OTDA-PC has not been identified in biological tissues.

論文審査結果の要旨

末端に2,4-ジエナール構造を有する酸化的に修飾を受けたアシル鎖が結合するリン脂質は生体内脂質酸化過程で生ずると考えられているが、それらは生体組織から未だ検出されていない。本研究ではその理由を明らかにするために必要な化合物を合成し、それらの化学的挙動をES MSによって解析した。まず、13-oxo-9,11-tridecadienoic acid (OTDA)を結合するPC(OTDA-PC)が新規方法により合成された。この方法はリノレン酸過酸化物のFe²⁺による分解と、DCC法によるLysoPCとの結合反応を含む。最初にOTDA-PCが何故生体からの検出が困難である理由の一つとしてOTDA部分がペプチド中のアミノ基の攻撃を受けるといった可能性は低いと結論された。次にOTDA-PCを、水または有機溶媒中で37°Cにてこの物質にe²⁺を作用させ、その反応生成物をES MSで分析した結果、OTDA-PCは非常に安定であった。しかし、 α -リノレン酸過酸化物結合リン脂質の脱気した低酸素条件下での分解によってOTDA-PCを生成した時、そのOTDA-PCは分解反応混合液中で直ちに酸化分解し、13-carboxy-9,11-tridecadienoyl PCに変換する事が判明した。一方、酸素存在下ではそれは末端にアルデヒド基またはカルボキシル基を持つ飽和脂肪鎖を結合するPCに変換された。これらの物質は動脈硬化組織から検出され動脈硬化発症の原因と考えられている。OTDA-PCの高い不安定性は次のように説明された。即ち、カルボニル水素(H-C(=O)R)は脂質由来のラジカルによって非常に引き抜かれ易く、その結果、生成したラジカル(\cdot C(=O)R)は、(i)嫌氣的条件でPC-LNA-OOHのO-O結合と新規なラジカル置換反応を起こして13-carboxy-9,11-tridecadienoyl PCを与える可能性および、(ii)好氣的条件では α -peroxylactone中間体に変換し、その脱炭酸で別のアルデヒドPCが生成するという可能性である。さらに、linoleic acidの9-または13-hydroperoxideを結合するPCの嫌氣的分解によるaldehyde PCの生成はOOH基の13から9位への転位とそれに続くヘテロ解裂(Hock 転位)によって説明できる事が明らかにされた。以上のように本研究は生体組織から不飽和アルデヒド結合リン脂質がなぜ検出されないかという疑問に対して新たな説を提唱したものであり、脂質過酸化物の生体における挙動を追跡する上で重要な知見となる事から審査の結果、博士学位の価値が十分あるものと判断された。