

有機化学を基盤とするトランス脂肪酸の分子機構解明

静岡県立大学薬学部 医薬品製造化学分野
滝田 良

脂質や脂肪酸はエネルギー源、生体膜の構成要素、情報伝達物質などの多様な機能を示します。分子構造のわずかな違いにより多様な生物活性を示しますが、近年様々な疾患への関与が示唆され、その分子構造と機能との間の関係が注目されています。例えば、二重結合を持つ脂肪酸（不飽和脂肪酸）はその分子の立体構造・融点・代謝における反応性などの点で重要な役割を果たします。例えば、“トランス脂肪酸”は疫学的な調査により心疾患などのリスクを高めるとされ [Mozaffarian, D. *et al. N. Engl. J. Med.* **2006**, *354*, 1601.]、WHO、FAO など世界的に人体への影響と摂取の制限が指摘されています。また種々の炎症性疾患との関連が提起されており [Noguchi, T.; Matsuzawa, A. *et al. J. Biol. Chem.* **2017**, *292*, 8174.]、炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病など）患者では、トランス脂肪酸の摂取量が多い傾向などが報告されています。トランス脂肪酸は構造によらず十把一絡げに悪者とされていますが、二重結合の数、位置、異性化の度合いによって多種多様な種類が存在します。トランス脂肪酸の中でも、これまで主には二重結合を一つ持つオレイン酸のトランス体であるエライジン酸 (*trans*-18:1) は生化学的な研究対象とされてきました。一方で、二重結合を二つ持つリノール酸のトランス体は、様々な異性体が存在します。特異なことに、異性化したトランス二重結合を有する共役リノール酸は、アルツハイマー病モデルマウスに食餌させることにより脳の炎症を抑える [Natori, S.; Komano, H. *et al. Sci. Rep.* **2021**, *11*, 9749.] などポジティブな効果が多く報告されています。しかし、いずれにおいてもわずかに異なるだけの分子構造とその生物活性・機能との関係性はまだまだ未解明と言えます。分子構造との相関を議論するに必要な分子プローブがなかったことが大きな理由と考えられます。

1) トランス脂肪酸群の分子プローブの創製

申請者らは脂肪酸に共通のカルボキシ基を起点として 4 つの重水素を位置および数選択的に導入する重水素化プロセスを開発しました [Hama, K.; Takita, R. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61*, e202202779]。基質一般性が高く、汎用試薬のみで操作も比較的簡便であり、グラムスケールでの実施も可能です。また、生体内で最も代表的なリン脂質であるホスファチジルコリン (PC) が本重水素化脂肪酸を含む場合、MS/MS 解析のプロダクトイオンとして重水素化ホスホコリンが選択的に観測されます。したがって、対象とする脂肪酸を含むリン脂質を選択的に追跡でき、生成した代謝物（酸化脂質等）を網羅的に解析可能となります。これを活用してリノール酸由来の酸化脂肪酸を有する PC（酸化リン脂質）の合成に寄与するアシルトランスフェラーゼを初めて同定しました。本方法論を活用して、各種トランス脂肪酸および対応するシス体の重水素標識体を合成しました。特にエライジン酸およびオレイン酸の標識体はグラムスケールで合成し、現在、マウス個体内に食餌させた際の組織分布や代謝解析に着手しています。

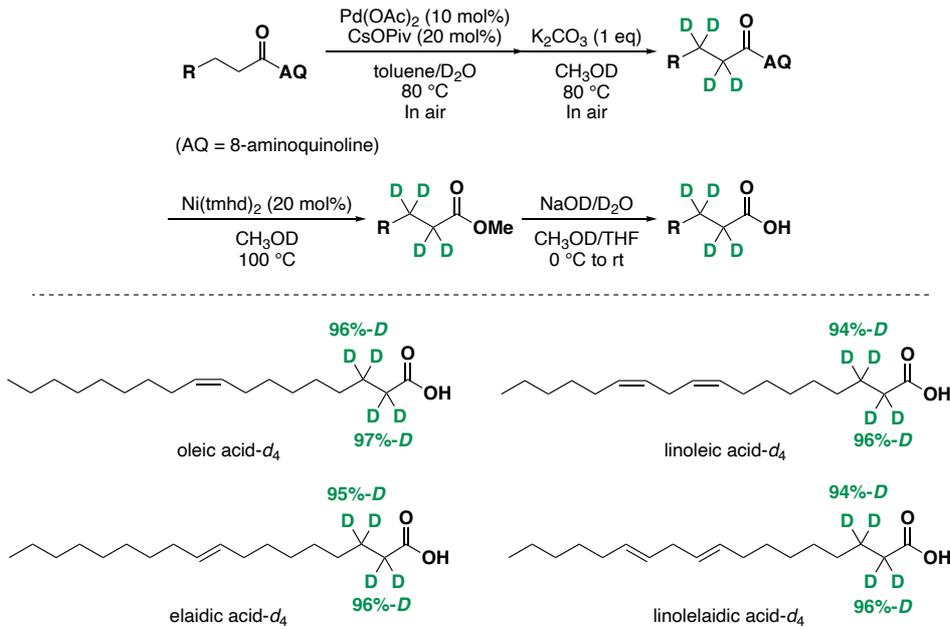


図1 脂肪酸の位置および数選択的重水素化プロセスとその合成例

2) 各トランス脂肪酸の代謝経路

これら標識体を用いることによって、これまであまり検討されてこなかったリノエライジン酸(*trans*-18:2)について、リノール酸(*cis*-18:2)との比較によって検討を行いました。活性化血小板はいくつかの脂質代謝物を産生し、冠動脈性心疾患の発症に関与していることからヒト血小板を用い、総脂質画分を抽出し、LC-MS/MSを用いて分析しました。その結果、リノエライジン酸(*trans*-18:2)はリノール酸(*cis*-18:2)に対してPC_{16:0-*trans*-18:2-*d*₄}として高度に蓄積していたこと、そして、リノール酸(*cis*-18:2)で処理した血小板ではその酸化代謝物であるHODE-*d*₄を含むPCが効率的に産生されていたことが明らかになり、*trans*-18:2と*cis*-18:2の活性化血小板における代謝経路が異なることがわかりました。

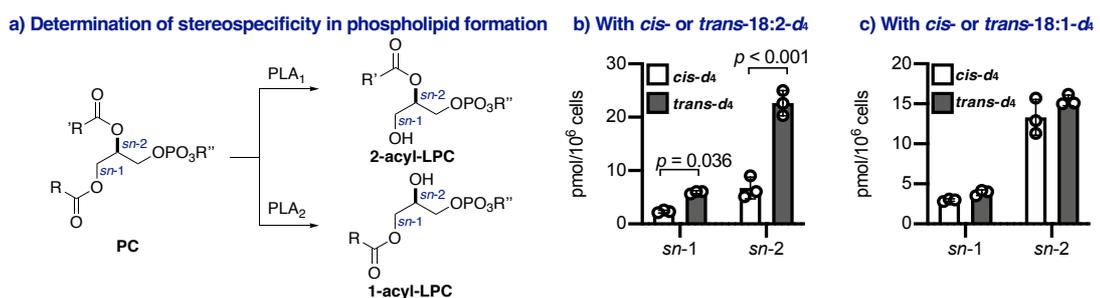


図2 重水素化脂肪酸のアシル基転移活性における位置選択性の差異

さらに活性化血小板における*trans*-18:2と*cis*-18:2の代謝の違いを明らかにすべく、加えた重水素化脂肪酸から合成されるPCの構造について位置選択性の観点から調べました。リノエライジン酸-*d*₄とリノール酸-*d*₄で処理した後、活性化血小板の脂質断片をホスホリパーゼA₁またはA₂(PLA₁およびPLA₂)で処理しました。その結果、リノエライジン酸-*d*₄は、リノール酸-*d*₄と比較して、PCのsn-1位と-2位の両方に有意に蓄積していました(図2b)。一方で、エライジン酸-*d*₄とリノール酸-*d*₄の立体特異性を調べたところ、*trans*-18:2と*cis*-18:2の場合とは対照的に、PLA₂(またはPLA₁)で処理した脂質画分中のLPC_{1-*trans*-18:1-*d*₄}(または

LPC_{2-trans-18:1-d4} の量は、LPC_{1-cis-18:1-d4} (または LPC_{1-cis-18:2-d4}) の量とほぼ同等でした (図 2c)。これらの結果は、「トランス脂肪酸」の代謝経路はわずかな構造の違いによって異なることを示します。このように本重水素化脂肪酸を用いることで、分子構造のわずかな違いによる代謝経路の差異を詳細に追跡可能であることを実証しました。

3) ¹³C 導入反応および ¹³C 標識試薬の合成法の開発

脂質の代謝経路として重要な β 酸化については重水素化脂肪酸だけでは標識化合物として不十分であると予想されます。そこで、脂肪酸類を ¹³C によって標識する効率的な合成法の開発に取り組んでいます。多様な脂肪酸へ適用可能なプロセスとするため、¹³C 導入にあたってやはり同位体交換反応を用いることとしました。したがって、そのような反応形式の構築ならびに ¹³C 導入用の試薬の開発が重要になります。

脂肪酸の炭素同位体交換反応を脱炭酸シアノ化、特にラジカルシアノ化反応に着目しました。一方、¹³C 源として最も入手容易な試薬の一つは ¹³C ラベルされたシアニ化カリウム (K¹³CN) であり、まずこれを用いたラジカルシアノ化反応用のシアノ化剤の合成法を開発することとしました。ラジカルシアノ化反応に有用と想定されたスルホニルシアニド類は、*p*-トルエンスルホニルシアニドが唯一市販されていますが、有用な合成法がありませんでした。そこでシアニ化カリウムから系中にて塩化シアンを発生させ、それとスルフィン酸ナトリウム塩と反応させることで様々なスルホニルシアニドを効率よくできる方法を初めて開発しました。実際、K¹³CN を用いて、対応する ¹³C 標識された *p*-トルエンスルホニルシアニドが効率的に合成できました。現在これを活用することで、¹³C を導入するラジカルシアノ化反応の開発を行なっています。検討においてスルホニルシアニドの構造が反応性や副反応の抑制に寄与することを見出し、開発した合成法を鍵として、脂肪酸類への ¹³C 導入反応を実現してまいります。

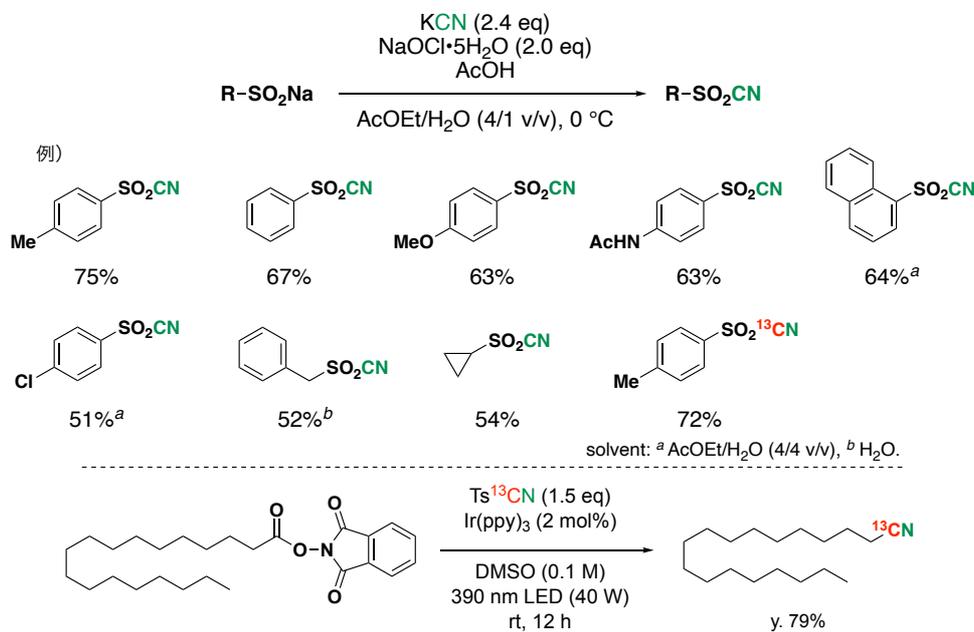


図 3 スルホニルシアニドの合成法と ¹³C 導入反応の一例

<謝辞>

主たる共同研究者である 濱 弘太郎 先生 (帝京大学) に感謝申し上げます。また、本研究の遂行をご支援くださいました公益財団法人アステラス病態代謝研究会に心より感謝申し上げます。