



Title	生体内アミンに対するアクロレインの新規な反応性と酸化ストレス疾患診断への応用
Author(s)	高松, 正之
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61504
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

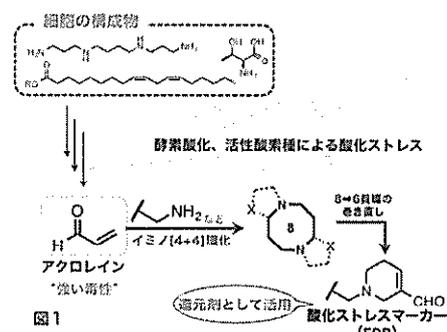
論文内容の要旨

氏名 (高松 正之)

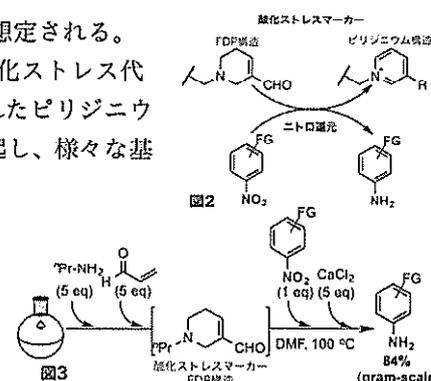
論文題名 生体内アミンに対するアクロレインの新規な反応性と酸化ストレス疾患診断への応用

論文内容の要旨

1) アクロレインとアミンの反応 有機物の燃焼や酸化ストレス条件下で生成するアクロレインは、生体内で様々な基質と反応して、生体にダメージを与える。今回、発表者はこの毒性の高いアクロレインが生体内アミン（スフィンゴシンなど）と速やかに反応し、新奇な形式的イミノ[4+4]反応を経て、1,5-ジアザシクロオクタンを定量的に与えることを見出した（図1）。さらに、この8員環化合物は、酸化ストレスマーカーとして知られている3-ホルミル-3,4-デヒドロピペリジン（FDP）へと次第に変換されていくことを明らかにした¹。実際に生体内でも、アクロレインと様々なアミノ基から得られる8員環中間体が、開裂・再環化することで、安定なFDPが生成しているものと考えられる。この分子変換のそれぞれの段階で生物学的機能が働いていると想定される。

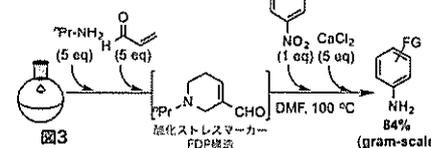


2) 酸化ストレスマーカー-FDPを利用した有機還元反応 さて、生体内の酸化ストレス代謝物として、デヒドロピペリジン構造を持つFDPに加え、これがさらに酸化されたピリジニウム塩構造も単離されている。このことから、FDPが有機還元剤として働くことと想起し、様々な基質に対して還元反応を試みることにした。カルボニル基などへの還元反応は全く進行しなかったものの、FDPは様々な芳香族ニトロ基をアミノ基に還元することが判明した（図2）。検討を重ねた結果、塩化カルシウムを系内に添加することで反応率が89%まで向上し、種々の官能基を損なうことなくニトロ基の還元が選択的に進行した。



次にFDPがアミンとアクロレインを混ぜ合わせるだけで効率良く得られる

ことから、還元反応まで組み合わせたワンポット化を行うことにした。最終的に、1つのフラスコ内に安価なプロピルアミン、アクロレイン、芳香族ニトロ化合物、そして塩化カルシウムを順に混合するだけで、グラムスケールにおいても84%で目的のアニリン体を得ることに成功した（図3）。以上のように、生体内での酸化ストレス産物の反応性を基にして、重金属触媒を必要としない、ニトロ基の簡便なグリーン還元法を確立した²。



3) 生体FDPの蛍光検出法開発 生体組織上の酸化ストレスマーカーに関する研究は、様々な疾患診断に役立つことから、とりわけ検出法を中心として発展してきた。しかし、従来法では高価な抗体キットや煩雑な作業が必要であった。そこで、本研究で見出した還元反応を新たなアクロレイン・FDPの簡便な検出法として展開することを考えた。すなわち、アクロレインが生体分子（タンパク質アミノ基など）と反応し、生成したFDPがニトロ基質Aを蛍光性アニリン分子Bへと還元することで蛍光測定により検出することとした（図4）。実際にラット血清存在下にアクロレインを加えた後、ワンポットにてAおよび塩化カルシウムを加えたところ、アクロレイン処理時間に応じて蛍光強度が増大することが明らかとなった（図5）。以上のように、安価な試薬と単純な操作で行うことのできる酸化ストレスマーカー検出診断法を開発した³。現在、本法の臨床応用を検討している。

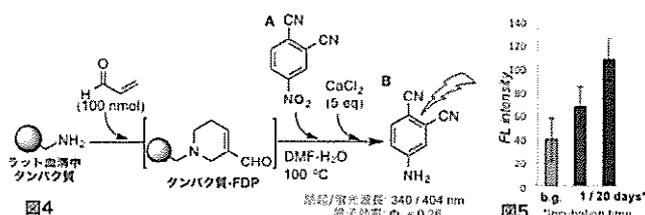


図5

Fluorescence

b.g. 1 / 20 days*

*incubation time

1) Takamatsu, M.; Fukase K.; Kurbangalieva A.; Tanaka, K. *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, 6380.

2) Takamatsu, M.; Tsubokura K.; Fukase K.; Tanaka, K. *manuscript in preparation*

3) Takamatsu, M.; Fukase, K.; Oka R.; Kitazume S.; Taniguchi N.; Tanaka, K. *Sci. Rep.* 2016, 6, 35872.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (高 松 正 之)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教 授 深 瀬 浩 一
	副 査 教 授 村 田 道 雄
	副 査 教 授 中 谷 和 彦
	副 査 准主任研究員 (理研) 田 中 克 典 教授 (カザン大学)
論文審査の結果の要旨	
<p>高松正之は、「生体内アミンに対するアクロレインの新規な反応性と酸化ストレス疾患診断への応用」と題した以下の研究を行った。</p> <p>アクロレインは、単純構造の不飽和アルデヒドであり、高い反応性と毒性を有する。アクロレインは、生体内でポリアミンから生合成されるだけでなく、ガソリンやディーゼルエンジン及びタバコの不完全燃焼や食用油の加熱によって生じるため、健康上の大きな問題となっている。アクロレインの生体内の機能は未知であるが、当該研究室では、アクロレインが生体内アミンと速やかに反応し、新奇な形式的イミノ[4+4]反応により 1,5-ジアザシクロオクタン類を与えることが見出され、酸化ストレスやアミロイド形成との相関を示唆する結果が得られていた。</p> <p>高松は、アクロレインが生体内のアミノエタノール類とも速やかに反応し、1,5-ジアザシクロオクタン構造を定量的に与えることを見出した。さらに、一級アミンから合成した 1,5-ジアザシクロオクタンが、酸化ストレスマーカーとして知られている 3-ホルミル-3,4-デヒドロピペリジン (FDP) へと次第に変換されていくことを明らかにした。本反応は FDP 生成の新規な機構として可能性を有している。</p> <p>続いて FDP が塩化カルシウムの存在下で様々な芳香族ニトロ基をアミノ基に還元することを見出した。FDP がアミンとアクロレインの混合により得られることから、プロピルアミン、アクロレイン、塩化カルシウムによる芳香族ニトロ化合物の還元法を確立した。</p> <p>FDP は、酸化ストレスマーカーとして知られており、抗体を用いた ELISA による定量法がすでに開発されている。本研究では、FDP による芳香族ニトロ基の還元反応に着目し、種々のニトロ化合物の探索を行った結果、還元後に蛍光性アニリン誘導体を与えるプローブを開発した。本プローブを用いることにより、ELISA よりも簡便な操作でかつ安価に生体内の FDP を定量可能である。</p> <p>以上のように高松正之は、アクロレインと生体内アミンとの反応ならびに反応性生物である FDP について研究を行った。生体におけるアクロレインの機能の解明に向けて、分子レベルで解析を行ったものとして高く評価できる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>	