

【総説】

酸化脂質の構造と生体への影響

加藤 俊治^{1,2}、伊藤 隼哉¹、竹腰 進²、仲川 清隆¹

¹ 東北大学大学院農学研究科・機能分子解析学分野

² 東海大学医学部・基礎医学系・生体防御学分野

要約

酸化脂質の構造は極めて多岐にわたり、近年の目覚ましい質量分析の発展にともない、生体内の微量かつ複雑な酸化脂質の構造が次々に解明されてきている。酸化脂質の構造は生体内での生成経路（炎症反応や光照射など）に依存しており、構造によって生理機能が大きく異なることがわかってきた。ネガティブなイメージが強かった酸化脂質であるが、興味深いことに生体の恒常性維持に必須な酸化脂質も報告されてきている。また、脂質の酸化は分子の高極性化をもたらし、例えば膜リン脂質の分子動態にも大きく影響を与える。近年のコンピューターやNMRを用いた解析によれば、酸化による分子動態変化も恒常性維持に必須のようである。本総説では、特に酸化脂質の構造に着目し、脂質が酸化されることによって生ずる機能や性質の変化について概説する。

キーワード：Oxidized lipid, Mass spectrometry, Signal mediator, Molecular dynamics

1. はじめに

酸化ストレスが様々な疾患に関与することが数多くの実験によって証明されているが、その実態はいまだ不明な点が多い。酸化ストレスとは「過剰な酸化の亢進が生体抗酸化能を上回った状態」と定義されており [1]、多くの生体分子の酸化を引き起こすと考えられている。生体成分の中でも脂質は最も酸化されやすい成分の一つであり、酸化脂質が動脈硬化症や多くの老化性疾患の病変組織に蓄積していることが報告されている [2]。しかしながら、“過剰な酸化の亢進”とは漠然とした定義であり、そこには後述するような生体分子の酸化を引き起こす様々な要因が含まれる。それ故、こうした酸化脂質の蓄積が病態の原因となるのか、単なる結果に過ぎないのかについてはまだ議論が続いている。こうした中で、近年は酸化ストレスが「レドックスシグナル」とも呼ばれ、酸化脂質についても様々な機能が報告されている。先

端分析機器、とくに質量分析-液体クロマトグラフィー (LC-MS/MS) の発展には目覚ましいものがあり、従来困難であった微量な酸化脂質の精密構造解析が可能になってきている。こうした技術により、生体にごく微量にしか存在しない酸化脂質の存在量・構造が明らかとなり、さらに酸化脂質特有の機能が解明されつつある。中には老化細胞のクリアランスのために特定の構造を持つ酸化脂質が必須という結果も出ており [3]、生体恒常性維持のために必須な酸化脂質も数多く報告されている。有名なものとしてはエイコサノイドやドコサノイドがあるが、これらについては多くの総説が出版されているので [4, 5]、本稿では割愛する。ここでは、リン脂質などのエステル脂質について、特に構造に着目し、酸化されることによってもたらされる生理機能や細胞膜構造の変化について述べる。そして最後に、最近筆者らが進めている酸化脂質の構造解析法を紹介させていただきたい。

2. 酸化脂質の生成機構と構造

生体において脂質の酸化を引き起こすのは大きく分けてラジカル、酵素、一重項酸素の3つである (表1)。主なラジカル源はスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$) やその代謝 (分解) 物と考えられており、特にミトコンドリアでは電子伝達系から漏れた電子によって、 O_2 の一部が $O_2^{\cdot-}$ へと還元されていると考えられている ($O_2^{\cdot-}$ は

連絡先：仲川清隆 〒980-8572

宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 468-1

TEL : 022-757-4416

FAX : 022-757-4417

E-mail : nkgw@m.tohoku.ac.jp

表1 リノール酸ヒドロペルオキシド異性体の構造。リノール酸などの脂質は酸化要因によって異なる異性体を生成する。

							備考
ラジカル酸化 (ミトコンドリア電子伝達系 各種オキシゲナーゼ)	○	○			○	○	9(or 13)-EZ-HpODEに対する 9(or 13)-EE-HpODEの比は 種々の要因に依る
酵素酸化 (各種リポキシゲナーゼ)	○				○	○	ヒドロペルオキシ基の 結合炭素は不斉中心であり、 原則、S体が生成
一重項酸素酸化 (光エネルギー ミエロペルオキシゲナーゼ)	○		○	○	○		理論上、4種類が等量生成

他にも NADPH オキシゲナーゼやキサンチンオキシゲナーゼなどの種々のオキシゲナーゼによって生成される)。こうして生成された $O_2^{\cdot -}$ は酵素的 (スーパーオキシドディスムターゼ) もしくは自発的に H_2O_2 に還元され、最後にカタラーゼやグルタチオンペルオキシゲナーゼ (GPx) によって H_2O に還元される。しかし、一部の過酸化水素 (H_2O_2) は Fenton 反応に代表される反応によってヒドロキシラジカル (HO^{\cdot}) となる。そして HO^{\cdot} が H_2O へと還元される際に脂質などの生体分子から H^{\cdot} を奪う。これが脂質ラジカル酸化の初期反応であり、ここからラジカル連鎖反応が開始されていく。一方、生体内において一重項酸素 (1O_2) は光依存的および非依存的な経路によって生成すると言われている。光依存的経路では種々の光増感剤の存在下で、光エネルギーの三重項酸素 (3O_2) へのエネルギー遷移によって 1O_2 が生成する。例えば、Yamazaki らは光増感剤である Pheophorbide を投与したラットに可視光を照射したときに、皮膚にコレステロールの 1O_2 特異的な酸化物である 3β -5 α -cholest-6-ene-5-hydroperoxide が検出されたことを報告している [6]。生体内には他にも多くの光増感剤が存在しており [7]、我々の身体は常に何らかの形で光酸化が関与しているのであろう。また、光非依存的な反応として、好中球ミエロペルオキシゲナーゼによって産生される次亜塩素酸と過酸化水素の反応が良く知られている ($H_2O_2 + OCl^- \rightarrow ^1O_2 + H_2O + Cl^-$)。この反応によって生成される 1O_2 はファゴサイトーシスのような生体防御系において極めて重要な役割を果たしていると考えられるが、慢性的な炎症は過度な脂質酸化を亢進するだろう。最後に酵素による酸化であるが、代表的なものとして、リポキシゲナーゼ (5-LOX、15-LOX など) やシクロオキシゲナーゼなどがある。これらの酵素による脂質酸化物が機能を果たす系としてはアラキドン酸カスケードが有名であり [4]、近年ではエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) の酵素酸化物の機能についても多くの知見が蓄積しつつある [5]。

以上が生体内で起こりうる 3 つの脂質酸化 (ラジカル、酵素、一重項酸素) の代表例である。これらの酸

化機構がどのような脂質酸化物を生成するかについては Frankel の総説で詳細に述べられている [8] (表 1)。例えばリノール酸の場合、先ほどの H^{\cdot} の引き抜きが 11 位のメチレン水素に生じ (易く)、次いでペンタジエン共鳴と酸素付加により 9-hydroperxyoctadeca-10E,12Z-dienoic acid (9-EZ-HpODE)、9-hydroperxyoctadeca-10E,12E-dienoic acid (9-EE-HpODE)、13-hydroperxyoctadeca-9Z,11E-dienoic acid (13-ZE-HpODE)、13-hydroperxyoctadeca-9E,11E-dienoic acid (13-EE-HpODE) の 4 種類が生じる。一方で 1O_2 では ene- 反応により、 1O_2 が二重結合に親電子付加するため、9-EZ-HpODE、10-hydroperxyoctadeca-8E,12Z-dienoic acid (10-HpODE)、12-hydroperxyoctadeca-13E,9Z-dienoic acid (12-HpODE)、13-ZE-HpODE の 4 種が生じる。そして酵素酸化では作用する酵素に依存して立体位置選択的に酸化物が生成する (5-LOX:9(S)-EZ-HpODE、15-LOX:13(S)-ZE-HpODE)。すなわち後述するが、ヒドロペルオキシ基の挿入位置や cis-trans 構造、立体構造を解析できれば、脂質の酸化機構を推測することができる。

こうして生成したヒドロペルオキシドは GPx などによってアルコール体へと還元される他、一部は分解されカルボニル等の二次生成物となる (図 1)。ヒドロペルオキシ基は O-OH 間の結合が弱く、金属イオンの存在などによって容易にアルコキシラジカル (O^{\cdot}) となる。そして β 開裂に代表される分解によって種々のカルボニルとなるが、その分解経路は様々な生理的条件 (酸素分圧、抗酸化物質の種類、脂質濃度など) の影響を受けるため [9]、実際に生体内でどのような経路で分解が進んでいるのかを評価することは難しい。いずれにせよ、酸化脂質の構造は脂質クラス、脂肪酸の種類、そしてどのように酸化されたか (ヒドロペルオキシ基の位置とそこからの分解経路) に依存している。このような複雑な組成を持つ酸化脂質の解析には質量分析が必須であり、酸化脂質の機能解析はまさに質量分析の発展とともに進んでいると言える。

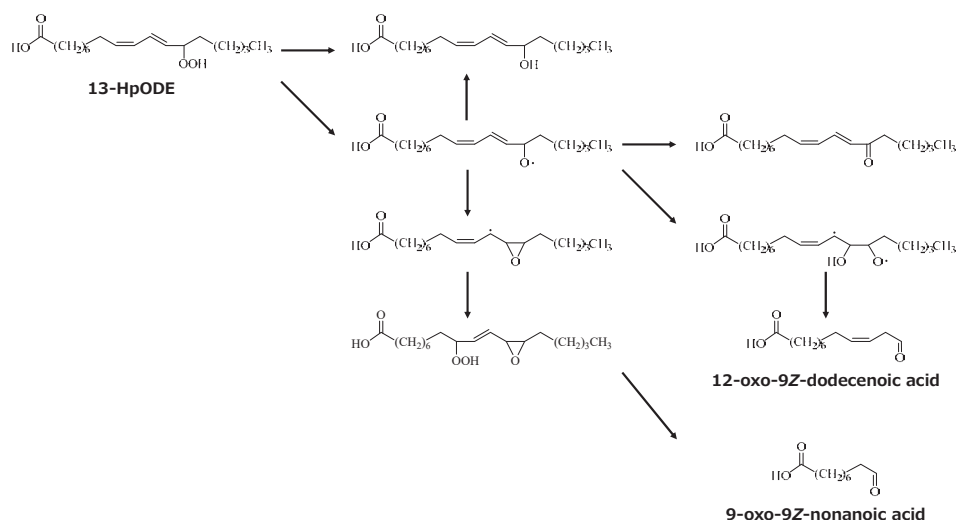


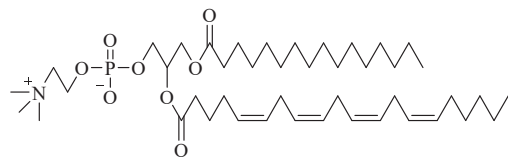
図1 13-ZE-HpODEの分解経路。LOOHの分解はヒドロペルオキシ基の分解から始まる場合が多い(図は一例)。

3. シグナルメディエーターとしての酸化脂質

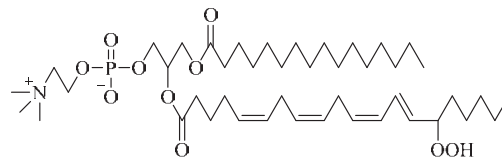
シグナルメディエーターとしての酸化脂質にはプロスタグランジンやロイコトリエン、リポキシン、レゾルビンなどが有名である [4, 5]。これらはアラキドン酸やDHAなど脂肪酸の酸化物であるが、近年は脂肪酸以外の脂質(リン脂質やコレステロールエステルなど)の酸化物にも多くの機能性が見出されてきている。我々はリポタンパクの主要構成リン脂質(ホスファチジルコリン(PC))の酸化一次生成物(図2、ホスファチジルコリンヒドロペルオキシド:PCOOH)がTHP-1のICAM-1への接着を亢進することを明らかにした [10]。この現象はコレステロールエステルヒドロペルオキシドやtert-ブチルヒドロペルオキシド、さらに、アルデヒドを有する酸化リン脂質(1-palmitoyl-2-(5-oxovaleroyl)-sn-glycero-3-phosphocholine(POVPC)や1-palmitoyl-2-(5-glutaroyl)-sn-glycero-3-phosphocholine(PGPC)、図2)には見られず、PCOOHの構造特異的な現象であることがわかった。さらに、酸化二次生成物を含む酸化リン脂質群が種々のサイトカイン・ケモカイン(IL-8、MCP-1など)を増加させることも報告されている [11]。Norbertらは、極めて似た構造を持つ酸化二次生成物POVPCとPGPC(図2)は、ヒト大動脈内皮細胞(HAEC)と単球、好中球との接着に与える影響が異なると報告している [12]。すなわち、POVPCはCS-1 fibronectinを発現させ、HAECと単球の接着を亢進させる一方で、PGPCはVCAM-1とE-selectinの発現を介して、好中球と単球の両方の接着を亢進させた。多くの研究結果を見ても [13]、酸化リン脂質が構造特異的に炎症反応に関与していることは間違いないと考えられるが、一方で

酸化リン脂質の抗炎症作用も報告されている。Valeryらのグループはヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に対する酸化脂質の炎症惹起作用について、高濃度(〜120 μM)の酸化リン脂質はIL-8の産生を促すが、その約1/10濃度の酸化リン脂質はLPS刺激によるE-selectin発現やIL-8の産生を抑制させることを報告した [14]。同グループはさらにそのメカニズムとして、酸化リン脂質のLPS binding protein(LBP)とCD14への結合を介したTLR4阻害を明らかにしている [15]。著者らは、定常時の血中の酸化リン脂質濃度は炎症を惹起させるには不十分であり、普段は抗LPS活性を示しているのであろう、と述べている。筆者らの化学発光検出液体クロマトグラフィー(CL-HPLC) [16]や質量分析 [17]を用いた酸化リン脂質の測定でも、一定量の酸化脂質は常に血中・組織に存在しており、上記の知見も踏まえると一定量の酸化脂質の存在が“正常な状態”なのかもしれない。

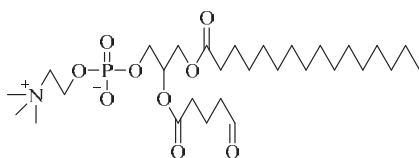
脂質の酸化物は上述したように酵素の他、ラジカルや¹O₂で生成する。また、POVPCやPGPCといった酸化二次生成物は、化学的分解(金属イオンとの接触や熱力学的不安定性)で生成する。興味深いのは、酵素酸化物のみならず、このような“アクシデント”で生じる可能性が高い酸化脂質(非酵素的酸化物)にも特有の機能が多数見出されていることである。脂質酸化物は酵素酸化物よりも非酵素的酸化物の方が圧倒的に種類は多い。今後、質量分析等の発展とともに、新たな酸化脂質の発見とそれらの生理機能の解析が期待される。酸化脂質の生理機能をまとめた優れた総説は多く出版されているので [13, 18]、そちらも参考にしていきたい。



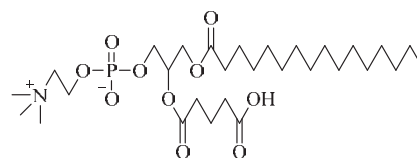
1-Pamitoyl-2-arachidonyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PAPC)



1-Pamitoyl-2-hydroperoxyeicosatetraenyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PAPCOOH)

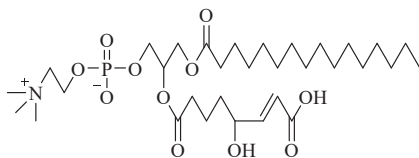


1-Palmitoyl-2-(5-glutaroyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PGPC)

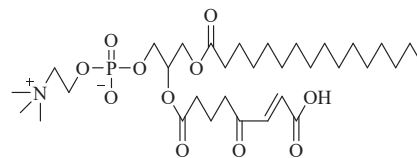


1-Palmitoyl-2-(5-oxovaleroyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (POVPC)

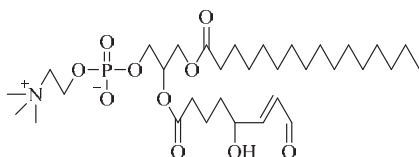
γ -hydroxy (or oxo)- α,β -unsaturated carbonylを有する酸化脂質



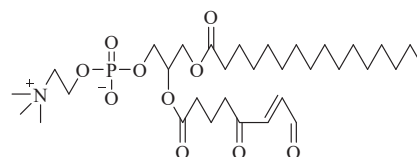
1-palmitoyl-2-(5-hydroxy-8-oxo-6-octendiyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (HODiAPC)



1-palmitoyl-2-(5-keto-6-octendiyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (KODiAPC)



1-palmitoyl-2-(5-hydroxy-8-oxo-6-octenoyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (HOOA-PC)



1-palmitoyl-2-(5-keto-8-oxo-6-octenoyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (KOOA-PC)

図2 1-Pamitoyl-2-arachidonyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine の酸化物。遊離脂肪酸の酸化物だけでなく、リン脂質などのエステル脂質にも多くの機能が報告されている。図はこれまでに機能が報告されているリン脂質酸化物の一例。

4. 脂質酸化による極性変化

脂質が持つ大きな役割の1つとしてリン脂質などの構造脂質としての役割がある。そこで、ここでは脂質が酸化することによってもたらされる物的性質の変化について述べる。すなわち、脂質の酸化は酸素付加や、続く開裂によって脂肪酸鎖が短くなり（末端はアルデヒドやカルボン酸となる）、脂質の高極性化をもたらす。そして膜リン脂質の高極性化は、膜の流動性、透過性、厚さなどに影響を与えると考えられている。近年のコンピュータシミュレーション解析やNMR解析は、膜脂質に酸化脂質が含まれた場合、どのような変化が生じ

るのかを明らかにしつつある。Jirasakらは1-pamitoyl-2-linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholineを用いて、そのリノール酸鎖が9-*EZ*-HpODEや13-*ZE*-HpODE、または12-oxo-9*Z*-dodecenoylや9-oxo-nonanoylへと酸化された(図1)ときの膜の性質変化を解析した[19]。その結果、特にヒドロペルオキシ基は極性頭部やカルボニル酸素と水素結合を形成し易く(図3)[20]、酸化されたアシル基は細胞膜の外側に配向し易くなることが示された。では、このような膜構造の変化は生理的のどのような変化をもたらすのであろうか？

従来から、ある種の酸化リン脂質が動脈硬化巣に蓄

積していることが明らかになっており [21]、これには CD36 のようなマクロファージスカベンジャー受容体による酸化 LDL の認識が関与すると考えられている [22]。Eugene らは CD36 と酸化リン脂質、特にアシル基に γ -hydroxy (or oxo)- α, β -unsaturated carbonyl を有する酸化リン脂質 (図 2、 $\text{oxPC}_{\text{CD36}}$) が強い親和性を示すことを報告した [23]。Michael らはこの $\text{oxPC}_{\text{CD36}}$ の膜上での分子動態について、リン脂質膜モデルと Nuclear Overhauser Enhancement (NOE: 分子の立体構造を決める解析手法。空間的に近い位置に存在するプロトン間にシグナルの変化が観測される。) を用いた解析を行っている [3]。それによれば、 $\text{oxPC}_{\text{CD36}}$ の酸化アシル基末端と極性頭部間には NOE 相関が観測されており、 $\text{oxPC}_{\text{CD36}}$ の酸化アシル基は膜外に突出していると推察している (論文中では “grow whiskers” と標記) (図 3)。おそらくはこうした膜外に突出した酸化アシル基が CD36 による認識に必須なのであろう。また、必然的に膜脂質の酸化が進んでいると考えられる老化細胞や炎症細胞において、酸化アシル基を使った細胞の標識は細胞クリアランスのために重要な役割を果たしているのかもしれない [3]。そして、このような現象は CD36 だけでなく、前項で述べた酸化リン脂質と LBP や CD14 の結合にも関わっていると考えられる。他にも、膜脂質の酸化は脂質 1 分子が占める膜面積や脂質膜の厚さに大きく影響を与えることがわかってきている [19]。特に、脂肪酸炭素のうち、酸化された場所は膜面積に、鎖長 (何番目の炭素が酸化開裂を起こすか) は膜の厚さに、それ

ぞれ影響を与える。そして、こうした膜構造の変化と同時に水分子やイオンの膜透過性の増加も観測されており、これは脂質の酸化と膜障害の関係性を示唆しているのかもしれない。

以上の現象は膜リン脂質だけに見られるものではなく、他にもコレステロール [20] やトリアシルグリセロール (TAG) [24] の酸化についてもいくつか面白い現象が報告されている。Dariush らは脂肪滴中の TAG が酸化されたときの酸化トリアシルグリセロール (oxTAG) の分子動態を解析している [24]。その結果、脂溶性コア中での oxTAG の存在は熱力学的に不安定であり、 oxTAG はリン脂質一重膜に移行し界面に留まりやすいことがわかった。このような界面に移動した oxTAG はリパーゼの基質になりやすいと考えられ、その結果、炎症などに関与する種々の酸化脂肪酸が産生されると推測される。実際、脂肪滴と炎症の関わりも多数報告されている [25]。しかし、TAG は膨大な数の脂肪酸の組み合わせを持つ上に、酸化されることでさらに多種類の異性体を生成する。そのため、 oxTAG の構造は酸化脂質の中でもほとんど解析が進んでいない。そんな中、ごく最近我々は、アルカリ金属イオンを用いた脂質ヒドロペルオキシド (LOOH) の解析法と MS^2 、 MS^3 を組み合わせた方法により、TAG ヒドロペルオキシド (TAGOOH) の構造を詳細に解析することに成功した [26]。今後より幅広い oxTAG の構造解析と、シグナルメディエーターとしての oxTAG の役割の解明が期待される。

脂質の酸化は、疎水性の脂質が水の性質に近づいてい

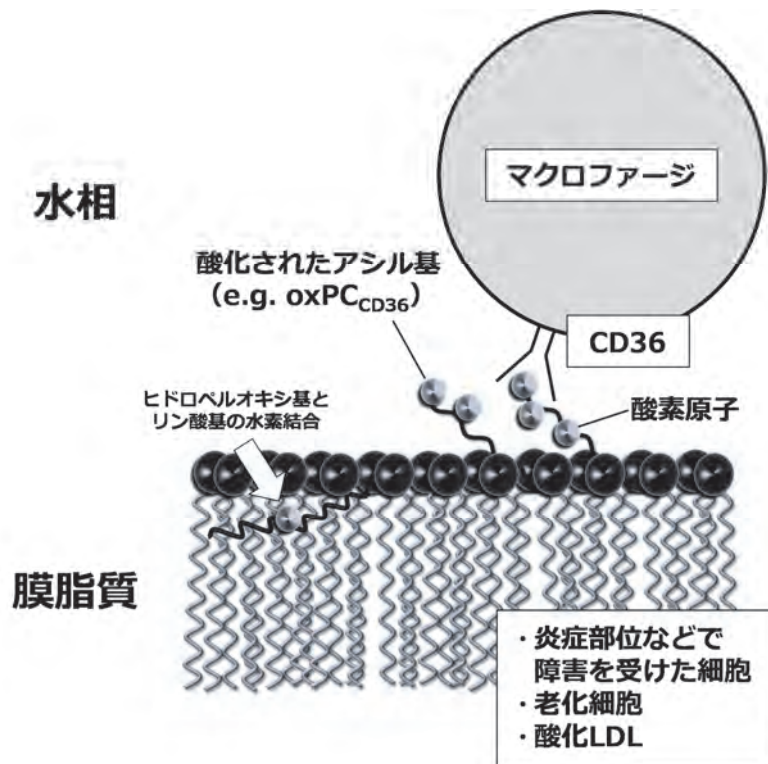


図3 膜リン脂質の酸化と膜構造の変化。酸化されたアシル基は極性が上がるため、分子配向に変化が生じる。この変化は細胞傷害の“標識”として重要な役割を果たしているのかもしれない。

く現象とも捉えられる。そのため、分子動態は大きく変化し、その結果、本来作用しないはずの分子との接触・反応が進む。現在のところ、こうしたシミュレーション試験は1分子種か2、3分子種を用いた試験が多く、またその試験方法によって結果にばらつきが見られる。今後は様々な分子種・酸化物を含んだ、より生理的な条件での解析が楽しみである。

5. 酸化一次生成物（脂質ヒドロペルオキシド）の構造解析

以上のように、脂質の酸化は、酸化アシル基の構造に依存した様々な機能・性質を与える。そして、図1や表1に示したように、酸化アシル基の構造を決める最初の大きな要因はヒドロペルオキシ基の位置、すなわち「脂質の酸化原因」である（酸素が挿入された炭素は不斉中心になるため、さらに光学異性体が存在する）。こうした背景から、筆者らの研究室では、特に脂質の酸化原因を明らかにすることを目的として、ヒドロペルオキシ基の位置異性体の解析を行ってきた。

しかしながら、異性体間の構造の違いはごくわずかであり（表1）、当時最新の質量分析計でも選択性や感度が担保された方法の構築は困難であった。例えば、PCOOHの異性体(1-pamitoyl-2-(13-hydroperoxy-octadecadienoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine (図4 A、16:0/13-HpODE

PC)、1-pamitoyl-2-(9-hydroperoxy-octadecadienoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine (図4 B、16:0/9-HpODE PC))のH⁺付加体はMS²分析に供しても専らホスホコリンのフラグメントイオン (m/z 184)のみを与え、ヒドロペルオキシ基の位置情報は得られない。ところで酸化脂質はその構造上、Na⁺と高い親和性を持つ性質がある。そして面白いことに、PCOOHのNa⁺付加体のプロダクトイオンはH⁺付加体のプロダクトイオンからは得られない情報を与えることがわかった(図4 C、D) [17]。我々はそれらのプロダクトイオンがヒドロペルオキシ基の位置を反映したイオンであることを明らかにし、様々なサンプルに含まれるLOOH異性体の構造解析を可能とした。例えば、健康人の血中PCOOH異性体は主に16:0/13-HpODE PCと16:0/9-HpODE PCであり、一重項酸素酸化物に相当する16:0/12-HpODE PCと16:0/10-HpODE PCの存在は認められなかった。これは脂質異常症患者の血中でも同様であった。このことから、血中において少なくともリポタンパクには一重項酸素酸化が生じていないと考えられた(表1)。さらにPCOOHのヒドロペルオキシ基結合炭素の不斉中心を直接解析できるキラルクロマトグラフィー条件を確立し [27]、血中のPCOOHが主にラジカル酸化で生じていることを証明した。現在はリノール酸のみならず、アラキドン酸 [28] やDHAなどのヒドロペルオキシドや

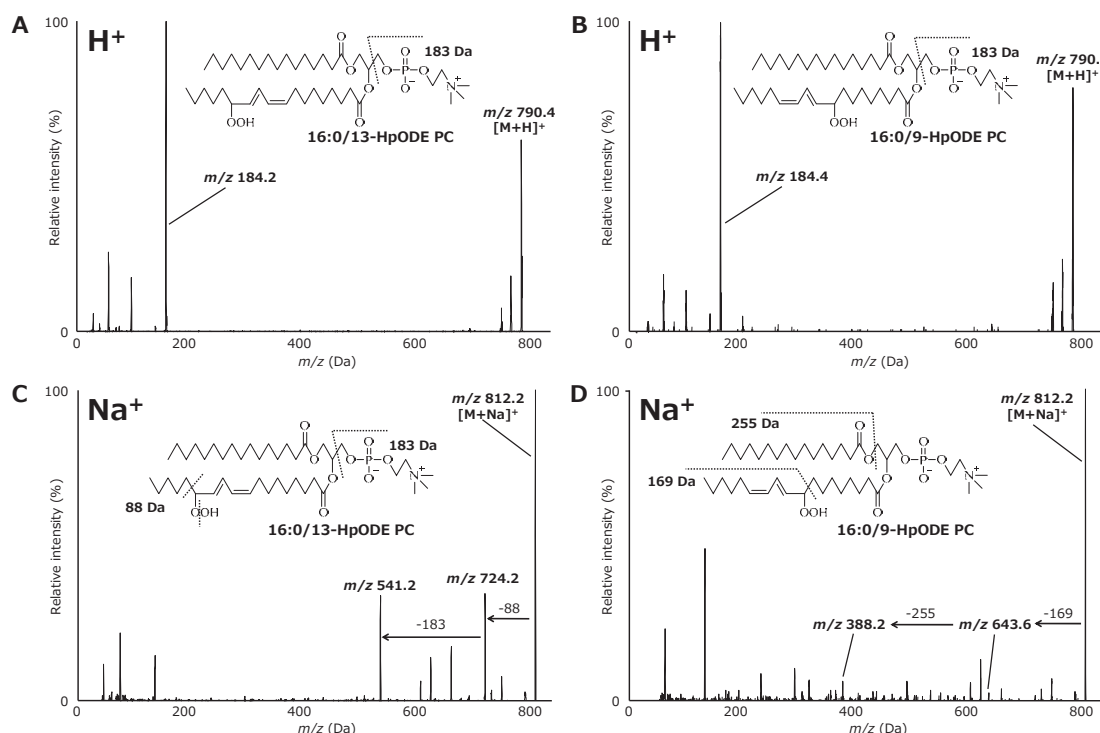


図4 PCOOH異性体(16:0/13-HpODE PC (A、C)、16:0/9-HpODE PC (B、D))のプロダクトイオンMSスペクトル。脂質ヒドロペルオキシドはH⁺付加体をプレカーサーイオンとした場合と(A、B)、Na⁺付加体をプレカーサーイオンとした場合では(C、D)、得られる情報が大きく異なる。例えばPCOOHの場合、H⁺付加体からはホスホコリン(m/z 184)が主に検出され、脂肪酸の構造情報は得られない。一方でNa⁺付加体からはヒドロペルオキシ基周辺炭素の開裂に由来するイオン(16:0/13-HpODE PC : m/z 724、 m/z 541、16:0/9-HpODE PC : m/z 643、 m/z 388)が検出され、これらのデータから脂質の酸化要因が推察できる。

それらの分解物（酸化二次生成物）、スクアレン [29]、TAG [26] といった脂質の酸化物の異性体解析を可能にしつつある。これらの酸化脂質の構造情報を基に、生体内での脂質酸化メカニズムや酸化脂質がシグナル経路に与える影響を評価し、脂質酸化と老化・疾患の関係解明に役立てていきたい。

6. 終わりに

生体の酸化ストレスを評価するために、これまで比色法やELISAなど種々の方法が開発されてきた。簡便な方法であるが、原理的に酸化脂質の詳細な構造情報を得ることは難しい。本稿で述べてきたように、酸化脂質には構造特異的な機能が次々と見出されてきている。中には酸化脂質の功罪を改めて評価する必要がある分子もあり、今後はそれらを区別して解析することも必要であろう。質量分析の感度はatto (10^{18}) molレベルに達してきており、極めて高感度な分析が可能になってきている。さらにイオンモビリティといった新たな構造解析法も組み込まれており、こうした最新の分析機器も用いたこれからの解析にも期待したい。

参考文献

1. John Betteridge D. What is oxidative stress? *Metabolism* 49: 3–8, 2000.
2. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, *et al.* Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320: 915–924, 1989.
3. Michael EG, Xin-Min L, Bogdan G, *et al.* The lipid whisker model of the structure of oxidized cell membranes. *J Biol Chem* 283: 2385–2396, 2008.
4. Alma MA, David B, María AB, *et al.* Dynamics of arachidonic acid mobilization by inflammatory cells. *Biochim Biophys Acta* 1821: 249–256, 2012.
5. Charles NS and Nicos AP. Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chem Rev* 111: 5922–5943, 2011.
6. Yamazaki S, Ozawa N, Hiratsuka A, *et al.* Photogeneration of 3β -hydroxy-5 α -cholest-6-ene-5-hydroperoxide in rat skin: Evidence for occurrence of singlet oxygen in vivo. *Free Radic Biol Med* 27: 301–308, 1999.
7. Barclay LRC, Basque MC, Stephenson VC, *et al.* Photooxidations initiated or sensitized by biological molecules: singlet oxygen versus radical peroxidation in micelles and human blood plasma. *Photochem Photobiol* 78: 248–255, 2003.
8. Frankel EN. Lipid oxidation. *Prog Lipid Res* 19: 1–22, 1980.
9. Onyango AN. Formation of aldehydic phosphatidylcholines during the anaerobic decomposition of a phosphatidylcholine bearing the 9-hydroperoxide of linoleic acid. *Biomed Res Int Article ID* 8218439, 2016.
10. Asai A, Okajima F, Nakagawa K, *et al.* Phosphatidylcholine hydroperoxide-induced THP-1 cell adhesion to intracellular adhesion molecule-1. *J Lipid Res* 50: 957–965, 2009.
11. Yeh M, Leitinger N, Martin R, *et al.* Increased transcription of IL-8 in endothelial cells is differentially regulated by TNF- α and oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1585–1591, 2001.
12. Leitinger N, Tyner TR, Oslund L, *et al.* Structurally similar oxidized phospholipids differentially regulate endothelial binding of monocytes and neutrophils. *PNAS* 96: 12010–12015, 1999.
13. Serbulea V, DeWeese D and Leitinger N. The effect of oxidized phospholipids on phenotypic polarization and function of macrophages. *Free Radic Biol Med* 111: 156–168, 2017.
14. Bochkov VN, Kadl A, Huber J, *et al.* Protective role of phospholipid oxidation products in endotoxin-induced tissue damage. *Nature* 419: 77–81, 2002.
15. Oskolkova OV, Afonyushkin T, Preinerstorfer B, *et al.* Oxidized phospholipids are more potent antagonists of lipopolysaccharide than inducers of inflammation. *J Immunol* 185: 7706–7712, 2010.
16. Miyazawa T, Yasuda K, Fujimoto K, *et al.* Presence of phosphatidylcholine hydroperoxide in human plasma. *J Biochem* 103: 744–746, 1988.
17. Kato S, Nakagawa K, Suzuki Y, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of human plasma 1-palmitoyl-2-hydroperoxyoctadecadienoyl-phosphatidylcholine isomers via promotion of sodium adduct formation. *Anal Biochem* 471: 51–60, 2015.
18. O’Donnell VB and Murphy RC. New families of bioactive oxidized phospholipids generated by immune cells: Identification and signaling actions. *Blood* 120: 1985–1992, 2012.
19. Wong-ekkabut J, Xu Z, Triampo W, *et al.* Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: A molecular dynamics study. *Biophys J* 93: 4225–4236, 2007.
20. Neto AJP and Cordeiro RM. Molecular stimulations of the effects of phospholipid and cholesterol peroxidation on lipid membrane properties. *Biochim Biophys Acta* 1858: 2191–2198, 2016.
21. Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, *et al.* A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in

- atherosclerotic lesions. *J Biol Chem* 277: 38517–38523, 2002.
22. Silverstein RL and Febbraio M. CD36 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 11: 483–491, 2000.
 23. Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, *et al.* Identification of a novel family of oxidized phospholipids that serve as ligands for the macrophage scavenger receptor CD36. *J Biol Chem* 277: 38503–38516, 2002.
 24. Mohammadyani D, Tyurin VA, O'Brien M, *et al.* Molecular speciation and dynamics of oxidized triacylglycerols in lipid droplets: Mass spectrometry and coarse-grained simulations. *Free Radic Biol Med* 76: 53–60, 2014.
 25. Bozza PT and Viola JPB. Lipid droplets in inflammation and cancer. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 82: 243–250, 2010.
 26. Kato S, Shimizu N, Hanzawa Y, *et al.* Determination of triacylglycerol oxidation mechanisms in canola oil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Sci Food* 2: Article number 1, 2018.
 27. Ito J, Nakagawa K, Kato S, *et al.* Direct separation of the diastereomers of phosphatidylcholine hydroperoxide bearing 13-hydroperoxy-9Z,11E-octadecadienoic acid using chiral stationary phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1386: 53–61, 2015.
 28. Ito J, Mizuochi S, Nakagawa K, *et al.* Tandem mass spectrometry analysis of linoleic and arachidonic acid hydroperoxides via promotion of alkali metal adduct formation. *Anal Chem* 87: 4980–4987, 2015.
 29. Shimizu N, Ito J, Kato S, *et al.* Oxidation of squalene by singlet oxygen and free radicals results in different compositions of squalene monohydroperoxide isomers. *Sci Rep* 8: Article number 9116, 2018.

Lipid oxidation: their structure and biological implication

Shunji Kato^{1,2}, Junya Ito¹, Susumu Takekoshi², Kiyotaka Nakagawa¹

¹Food and Biodynamic Chemistry Laboratory, Graduate School of Agricultural Science,
Tohoku University

²Department of Cell Biology, Division of Host Defense Mechanism,
Tokai University School of Medicine

Abstract

Lipid oxidation generates numerous types of oxidized lipids. The advent of new generation mass spectrometers coupled with high performance liquid chromatography (LC-MS/MS) has enabled analysis of oxidized lipids at trace levels even in the complex samples. The structure of oxidized lipids depend on the biological reactions that takes place in vivo (i.e. inflammation or photo irradiation), and the resultant difference in oxidized structure provides specific characters such as biological functions or membrane dynamics. While oxidized lipids are generally considered negatively, advanced analysis using LC-MS/MS, NMR and computer simulation has suggested that some oxidized lipids are potentially necessary in homeostasis. Herein, with focus on the structure, the biological factors determining the structure and the structure-dependent functions of oxidized lipids are reviewed.

Keywords : Oxidized lipid, Mass spectrometry, Signal mediator, Molecular dynamics