

26PB-am184

HMGB1 結合因子の同定と病態生理的解析

○森 秀治¹, 和氣 秀徳², 劉 克約², 勅使川原 匡², 高橋 英夫³, 西堀 正洋², 豊村 隆男¹
(¹就実大薬, ²岡山大院医歯薬, ³近畿大医)

【目的】RAGE は, HMGB1 (high mobility group box-1) や最終糖化産物 (AGEs, advanced glycation end products) に対するパターン認識受容体であり, 炎症や組織リモデリング病態への関与が示唆されている。しかしながら, 炎症局所における HMGB1 の存在様式や相互作用因子の有無に関しては, ほとんど不明であった。我々は, 標識化 HMGB1 を用いてヒトタンパク質の Protoarray 解析を行い, HMGB1 に高親和性を示す複数種の因子を見出した。本研究では, これらの因子の性状解析の一環として, AGEs-RAGE 間結合に与える影響に関して検討を行った。

【方法】種々の糖代謝物 (D-グリセロアルデヒドなど) でモデルタンパク質を糖化し, AGEs を調製した。次に, 固相法の原理に基づいて, マイクロプレート上で AGEs, 組換え型 RAGE ドメイン (6xHis 付加), Ni-NTA-POD を順に反応させ, 最後に POD 基質を添加し, 吸光度変化によって AGEs-RAGE 間結合を測定した。組換え型 RAGE (6xHis) 反応時に, 結合因子 (または由来ペプチド) を共存させ, AGEs-RAGE 間結合に及ぼす影響を検討した。

【結果と考察】ヒト Protoarray 解析によって見出した 2 種類の HMGB1 結合因子が, AGEs-RAGE 間結合を抑制することが明らかとなった。一次配列に基づいて作成したペプチドによる解析から, 両者とも N 末端付近に結合抑制部分が存在し, μM 濃度で 50%以上の抑制性を示すことが明らかとなった。また, 両者由来のペプチドには配列類似性は認められなかった。これらの結果から, Protoarray 解析によって見出した HMGB1 結合因子に, AGEs-RAGE 活性化が招く種々の病態に対する創薬シーズの可能性が見出された。