

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	控滅症候群治療に向けたプラスチック人工抗体の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
		所属・職名	薬学部・准教授	氏名	江上 寛通
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	米澤 正
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之

講演題目	控滅症候群治療に向けたプラスチック人工抗体の開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>地震後に問題となる控滅症候群（クラッシュ症候群、CS）とは、がれきの下から救出された場合に、極度の圧迫からの解放によりカリウムやミオグロビンなどが血液中に大量に漏出することで、心停止を引き起こす病気である。CSは、死細胞から放出される High Mobility Group Box 1（HMGB-1）が惹起していると報告がある。本研究では、HMGB-1 に対するプラスチック人工抗体の合成を試みた。HMGB1 は負電荷のタンパク質ではあるが、ヘパリン結合部位を有していることから、ヘパリンに構造が類似している硫酸化糖モノマー（3,4,6 trisulfate <i>N</i>-acetyl- glucosamine（3,4,6S-GlcNAc））を組み込むことで、HMGB-1 を吸着し、その機能を阻害するナノ粒子（NPs）、プラスチック人工抗体の開発ができるのではないかと考えた。</p> <p>ナノ粒子は、<i>N</i>-isopropylacrylamide（NIPAm）、架橋剤の <i>N,N</i>-methylenebisacrylamide（Bis）、疎水性モノマーの <i>N</i>-<i>tert</i>-butylacrylamide（TBAm）、硫酸化糖モノマーの 3,4,6S-GlcNAc を用い、ラジカル重合反応により合成した。はじめに、NPs と HMGB1 の結合親和性を Quartz crystal microbalance を用いて検討した。すると、3,4,6S-GlcNAc の含有量を変えることで、HMGB1 に対する親和性は大きく変化し、1.7%組み込んだ NPs が HMGB1 に対して高い親和性を示すことが明らかとなった。また、3,4,6S-GlcNAc を増やしすぎると、HMGB1 に対する親和性が減少した。そのため、3,4,6S-GlcNAc の配合比率の最適化が HMGB1 高親和性のナノ粒子開発に重要であることが示唆された。HMGB1 に過剰量のヘパリンを添加し、ヘパリン結合ドメインを塞ぐことで NPs の HMGB1 に対する結合親和性は減弱した。以上より、NPs は 3,4,6S-GlcNAc を少量組み込むことで HMGB1 のヘパリン結合ドメインを選択的に認識して結合可能であることが示唆された。次に、<i>in vitro</i> における NPs の HMGB1 依存的なシグナル伝達阻害効果を検討した。HMGB1 は、受容体に結合すると接着因子である Intercellular adhesion molecule-1（ICAM-1）とリン酸化 ERK1/2 の発現量が増加する。そこで、ヒト臍帯静脈内皮細胞を用い、NPs による HMGB1 依存的な ICAM-1 発現上昇抑制効果を Whole-cell ELISA により検討した。その結果、NPs の濃度依存的に HMGB1 による ICAM-1 発現亢進が抑制された。次に、HUVEC におけるリン酸化 ERK1/2 の発現量を Western blotting により検討したところ、NPs を添加した場合にはリン酸化 ERK1/2 の発現量が減少した。この結果から、NPs が HMGB1 と結合することで、HMGB1 によるシグナル伝達を阻害することが明らかになった。以上より、NPs の HMGB1 阻害剤としての有用性が示唆された。</p>