

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	脳虚血再灌流障害治療に向けたプラスチック抗体開発				
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	九州大学工学院・教授	氏名	三浦 佳子
		所属・職名	九州大学工学院・教授	氏名	星野 友
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之

講演題目	脳虚血再灌流障害治療に向けたプラスチック抗体開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>脳梗塞に患った場合、速やかに血栓溶解剤を投与して血液を再灌流させる必要がある。しかし、急激な血流再開によるストレスから梗塞部位周辺の細胞が壊死する虚血再灌流障害が問題となっている。近年、その原因タンパク質の一つとして High Mobility Group Box1 (HMGB1) の関与が報告された。そこで本研究では、HMGB1 に高い親和性を示すプラスチック抗体を開発することで、脳梗塞による脳虚血再灌流障害治療へ応用することを目的としている。</p> <p>我々はこれまでに、<i>N</i>-isopropylacrylamide (NIPAm)、架橋剤の <i>N,N</i>-methylenebisacrylamide (Bis)、負電荷モノマーの Acryl acid (AAc)、疎水性モノマーの <i>N-tert</i>-butylacrylamide (TBA_m) により合成した負電荷 NPs が、正電荷タンパク質であるハチ毒メリチンに結合し、活性を中和することを明らかにしてきた。しかし、HMGB-1 は負電荷タンパク質であるため、これまでのように AAc と TBA_m が生み出す単純な静電的、疎水性相互作用だけでは不十分である。そこで、HMGB-1 がヘパリン結合ドメインを有することに着目し、NPs にヘパリンを模した硫酸化糖モノマー (3,4,6 trisulfate <i>N</i>-acetylglucosamine (3,4,6S-GlcNAc)) を加えることで、HMGB-1 に結合できるのではないかと考えた。</p> <p>NPs は、それぞれのモノマーを混合後、ラジカル重合反応により合成した。また、モノマーの配合比を変えることで数種類の NPs を合成した。NPs と HMGB-1 の結合親和性を測定しところ、3,4,6S-GlcNAc をモル分率で 1.7%、TBA_m を 40%組み込んだ NPs (以下、3,4,6S-NPs) が、HMGB1 に高い親和性を示した。また、3,4,6S-GlcNAc の組み込み過ぎは、結合が減弱することが明らかになった。さらに、この 3,4,6S-NPs は、HMGB-1 とヘパリンを結合させ、HMGB-1 のヘパリン結合ドメインを塞いでからでは結合しなかった。このことから、NPs に適切な比で 3,4,6S-GlcNAc を組み込むことで、HMGB-1 のヘパリン結合ドメインを認識して結合することが示された。次に、HMGB-1 の機能を阻害について検討した。HMGB-1 は、細胞表面の受容体に結合して、ICAM-1 の発現を亢進する。そこで、ヒト臍帯静脈内皮細胞を用い、Whole-cell ELISA により、発現量の変化を確認した。その結果、NPs の濃度に応じて HMGB-1 依存的な ICAM-1 発現が抑制された。さらに、脳虚血再灌流障害モデルラットに NPs を静脈内投与することで、再灌流によって生じる障害顕著に抑制可能であることを明らかにした。</p> <p>以上より、3,4,6S-NPs は、HMGB-1 と結合し、その活性を阻害することが明らかとなり、ナノ粒子の脳虚血再灌流障害治療薬としての有用性が示された。</p>