

学位授与番号	医博甲第1422号		
学位授与年月日	平成12年3月22日		
氏名	Md. Joynal Abedin		
学位論文題目	Molecular heterogeneity of the receptor for advanced glycation endproducts		
論文審査委員	主査	教授	福田 龍二
	副査	教授	吉本 谷博
		教授	馬 瀨 宏

内容の要旨及び審査の結果の要旨

Receptor for AGE (RAGE) はイムノグロブリンスーパーファミリーに属する細胞表面レセプター蛋白で、加齢や糖尿病に伴って形成される後期糖化反応生成物 (advanced glycation endproducts, AGE) をリガンドとする。RAGE-AGE 相互作用は糖尿病合併症やアルツハイマー脳症の発症、進展に関係することが示唆されているが、リガンド結合後の細胞内情報伝達経路や関連する組織・細胞の生理的恒常性破綻のメカニズムについては未だ不明な点が多い。そこで筆者は、RAGE 後細胞内情報伝達経路解明への第一歩として、ヒト組織・細胞で発現している RAGE 蛋白の実体を明らかにすることを目的に本研究を行い、以下の新知見を得た。

(1)手術摘出ヒト組織・培養ヒト細胞抽出物をウェスタンブロット分析すると、肺では54-55kDaの位置に、血管内皮・周皮細胞、線維芽細胞、単球、肝、腎、脳、脾では約46kDaの位置に抗ヒト RAGE 抗体と反応するバンドが検出され、前者を「肺型」、後者を「血管型」と名付けた。(2)内皮細胞から分離した全長 RAGE cDNAの塩基配列および推定アミノ酸配列は、1アミノ酸の多型を除き、肺配列と同一であった。(3)全長 cDNA を用いた試験管内転写・翻訳・蛋白プロセッシング反応を行った結果、プレ RAGE は約51kDaで、小胞体存在下では肺型 RAGE 蛋白の位置にシフトした。したがって、mRNA 翻訳産物は小胞体腔内に移行後何らかの修飾を受けるものと推定された。(4)N-グリコシド型糖鎖をアスパラギンとの付着部位で特異的に切断するグリコペプチダーゼ F により、肺型54-55kDa蛋白は約53kDaと約51kDaに転換され、完全消化では約51kDa蛋白のみとなった。したがって、RAGE 蛋白の翻訳後修飾の実体の少なくとも一部は糖鎖付加であり、肺型 RAGE は二ヶ所でN-グリコシル化を受けていることが立証された。一方、血管型 RAGE 蛋白はグリコペプチダーゼ F との反応後も常に46kDaの位置に泳動され、N-グリコシド型糖鎖をもたないと推定された。(5)mRNA 翻訳枠のN末端側16アミノ酸とC末端側20アミノ酸を認識する領域特異抗体を用いてウェスタン分析した結果、肺型 RAGE はこれら2種の抗体と反応したが、血管型 RAGE は特異バンドを生じなかった。したがって、血管型 RAGE 蛋白は、一次翻訳産物のN末端とC末端の一部を欠くものと推定され、その生成にはプロテアーゼによる限定分解が関係している可能性も考えられた。

以上の結果から、ヒト RAGE 蛋白には分子多様性が存在することがはじめて明らかにされ、本研究は、RAGE を介する細胞応答の多様性の理解や RAGE 系を標的とする疾病予防・治療法開発に手掛かりを与えた生化学上の労作と評価された。