

Papel del receptor para compuestos de glicosilación avanzada (RAGE) en la inflamación.

Jesús A Mosquera.

Sección de Inmunología y Biología Celular, Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: receptor, compuestos glicosilados, inflamación, enfermedad crónica.

Resumen. Los receptores para los compuestos de glicosilación avanzada (RAGE) son moléculas ubicadas en la superficie celular (transmembrana), que interactúan con patrones moleculares tridimensionales, más que con secuencia de aminoácidos, lo que los hace adecuados para unirse a varios ligandos. Estos receptores representan un elemento importante en la inmunidad innata contra patógenos, pero también interactúan con ligandos endógenos originando inflamación crónica. Esta característica los hace potenciales inductores de enfermedades asociadas a la inflamación crónica como la diabetes, la enfermedad de Alzheimer, artritis, aterosclerosis y trastornos degenerativos relacionados con la vejez. Los principales ligandos de RAGE aparte de los compuestos de glicosilación, son las proteínas de alta movilidad del grupo de caja 1 (HMGB1; llamada también Anfoterina), las proteínas del grupo S100 que fijan calcio, también llamadas calgranulinas, los péptidos amiloides β y el Mac-1, una beta-2 integrina (CD11b/CD18). La unión de RAGE con su ligando en la superficie celular induce la activación de varias vías de señalización intracelular que llevan como punto central, a la translocación del factor de transcripción NF- κ B del citoplasma al núcleo, éste al actuar sobre el ADN, induce la producción de moléculas de adhesión, citocinas, quimiocinas y estrés oxidativo, entre otros efectos. Además de inducir las señalizaciones, la molécula per se es capaz de actuar como un receptor de otras moléculas en el endotelio y permitir la extravasación y la infiltración de leucocitos a los tejidos, aumentando el fenómeno inflamatorio. Estudios recientes demuestran que RAGE es un blanco terapéutico importante para el tratamiento de las enfermedades asociadas a su activación.

Role of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in inflammation.

Invest Clin 2010; 51(2): 257 - 268

Key words: Receptor, glycosylated compounds, inflammation, chronic diseases.

Abstract. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a transmembrane protein on the cellular surface that recognizes tridimensional molecules, instead of aminoacid sequences, making this molecule capable of interacting with diverse ligands. RAGE represents an important factor in innate immunity against pathogens, but it also interacts with endogenous ligands, resulting in chronic inflammation. RAGE signaling has been implicated in multiple human illnesses, including diabetes, atherosclerosis, arthritis, Alzheimer's disease, atherosclerosis and aging associated diseases. In addition to advanced glycation end products (AGE), RAGE has other important ligands such as: high mobility group box 1 protein (HMGB1, also termed amphoterin), the group of calcium binding cellular factors S100 (also termed calgranulin), amyloid beta peptides and Mac-1, a beta-2 integrin (CD11b/CD18). Ligand of RAGE on the cellular surface triggers a series of cellular signaling events, including the activation and translocation to the nucleus of transcription factor NF- κ B, leading to the production of pro-inflammatory cytokines, chemokines, adhesion molecules and oxidative stress and causing inflammation. More recent work has revealed the role of RAGE in inflammatory cell recruitment and extravasation of leukocytes across the endothelial barrier with further inflammatory events. Recent therapeutic strategies show that RAGE is an important target to treat RAGE activation-associated diseases.

INTRODUCCIÓN

El receptor para los compuestos de glicosilación avanzada (RAGE) es un receptor multiligandos que interactúa con estructuras tridimensionales más que con secuencias de aminoácidos, por ende interactúa más con patrones moleculares que con un ligando específico, esto lo hace capaz de unirse a varios ligandos de carácter tanto exógeno como endógeno (1-6). Desde su descubrimiento y determinación de su estructura a principios de la década de los años 90 (3, 4), este receptor ha sido involucrado en procesos inflamatorios tanto agudos

como crónicos. Es sabido que los procesos inflamatorios agudos están relacionados con la eliminación de patógenos promoviendo la reparación del tejido, sin embargo, el proceso inflamatorio crónico lleva a la remodelación y daño del tejido. Inicialmente RAGE fue estudiado como el receptor para productos de glicosilación no enzimática avanzada y de oxidación en proteínas, lípidos y polinucleótidos (CGA), sin embargo, estudios ulteriores demostraron que RAGE puede interactuar con diversos ligandos, varios de ellos de origen endógeno. Los principales ligandos de RAGE, aparte de los CGA, son las proteínas de alta movilidad del

grupo de caja 1 (HMGB1; llamada también Anfoterina), las proteínas del grupo S100 que fijan calcio, también llamadas calgranulinas, los péptidos amiloides β y el Mac-1, una beta-2 integrina (CD11b/CD18) (1, 2, 5, 6). La unión de RAGE con sus ligandos activa una serie de eventos intracelulares que incluyen la activación del factor de transcripción NF- κ B llevando a la producción de citocinas proinflamatorias entre otros eventos; de allí la importancia del RAGE en el proceso inflamatorio. La activación de RAGE fue inicialmente demostrada en enfermedades como la diabetes, pero se ha demostrado su papel en enfermedades como la artritis, la enfermedad de Alzheimer, la arteriosclerosis y en general en los procesos degenerativos inherentes a la edad (7, 8).

ESTRUCTURA DEL RAGE

RAGE pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas (4). El RAGE es una proteína tipo I de ubicación transmembrana y compuesta por tres dominios a semejanza de las inmunoglobulinas. Presenta una estructura helicoidal en su porción transmembrana y un parte terminal C citosólico, altamente acídica, mediante la cual se hace la transducción de la señal al interior de la célula (9). En la parte extracelular más distal se encuentra un dominio variable (región V) mediante el cual se une a los ligandos, seguido de dos dominios constantes (región C1 y C2) de los cuales no se tiene claro sus funciones, pero se ha reportado que C1 adyacente a la región V, puede participar en la unión a los ligandos (10) (Fig. 1). La expresión de RAGE es codificada por el gen AGER, que se encuentra en el locus del complejo de histocompatibilidad mayor en la región de Clase III, en el cromosoma 6 del humano y en el 7 del ratón (11).

INTERACCIÓN DE RAGE CON SUS LIGANDOS

RAGE no es el único receptor que interacciona con los CGA, los monocitos-macrófagos poseen receptores recolectores (*scavenger*) que interaccionan con CGA (12, 13); sin embargo, la unión de los CGA con los receptores en los monocitos induce endocitosis y extracción de estos compuestos del medio donde se encuentren. En el caso de RAGE esta interacción induce señalizaciones que originan alteraciones celulares que llevan a la inflamación (8). Esta propiedad, junto con los diversos ligandos endógenos, hace de RAGE un importante factor en el desarrollo y progreso de las enfermedades inflamatorias y las asociadas a la vejez.

A semejanza de los receptores parecidos a Toll (TLR: *Toll like receptors*), cuando RAGE es activado por alguno de sus ligandos en la superficie celular, induce una serie de señalizaciones que involucran al factor de transcripción NF- κ B, éste a su vez induce una serie de eventos pro-inflamatorios. Esto implica el paso de este factor de transcripción del citoplasma donde se encuentra retenido, al núcleo donde ejerce su función. Entre las vías que pueden ser activadas para la translocación del factor NF- κ B al núcleo se encuentran las cinasas del fosfoinosítide-3 o proteína cinasa -B (PI3K) y la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs) (14, 15). En este último grupo se encuentran la cinasa terminal Jun-N (JNK), p38 y las cinasas reguladas por signos extracelulares (ERK) (16, 17). Estas vías de señalización frecuentemente hacen redes de señalización para regular de manera general a las células en respuesta a varios estímulos (18).

Debido a que la expresión de RAGE es también controlada por NF- κ B, la activación de RAGE y la señalización de NF- κ B incre-

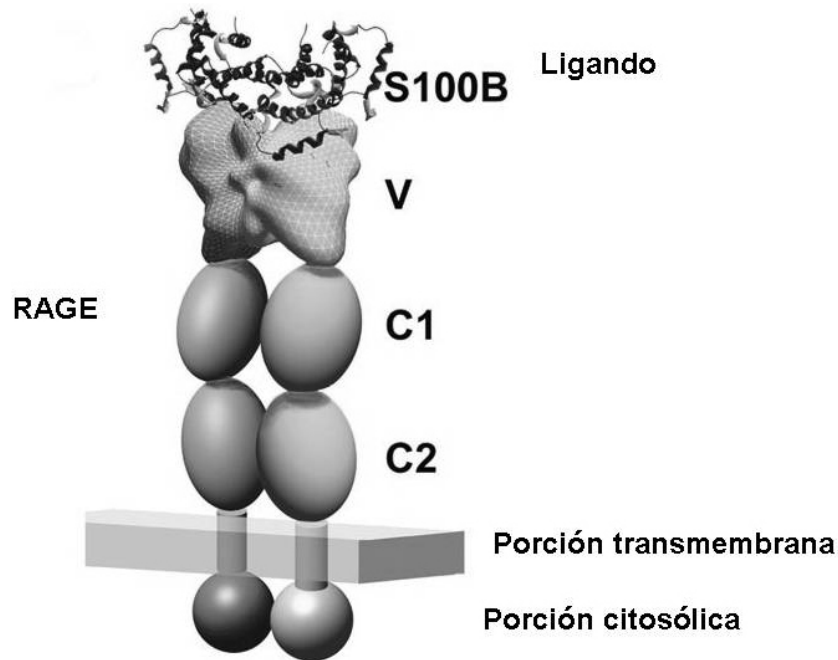


Fig. 1. Estructura del receptor para los compuestos de glicosilación avanzada (RAGE). RAGE es una molécula de ubicación transmembrana que se expresa en la superficie celular perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Está formada por dominios de secuencia de aminoácidos constante (Dominios constantes: C 1 y C2) y de secuencia de aminoácidos variables (Dominio variable: V), este último se une a sus ligandos (en el ejemplo S100B). Presenta una porción extracelular (Dominios constantes y variable), una porción transmembrana que lo mantiene ubicado en la membrana plasmática y una porción citosólica, a través de la cual envía las señales después de interactuar con sus ligandos, a los otros sistemas de señalización en el citoplasma. En el ejemplo la molécula está representada como un dímero.

mentan la expresión de RAGE en la superficie celular, con posterior aumento del proceso inflamatorio (19, 20). La clave de la activación de NF- κ B es la fosforilación de su inhibidor (I κ B), que mantiene retenido al NF- κ B en el citoplasma. I κ B es fosforilado por el complejo de cinasas llamadas IKK signalsomal (21) y después de fosforilado el inhibidor es degradado por un proteosoma (22). Aunque los estímulos para RAGE pueden ser variables, todos convergen en el IKK que sirve como unión común para activar al NF- κ B (23) (Fig. 2).

RAGE comparte ciertos ligandos con los TLRs como las HMGB1, pero a diferencia de ellos, no se ha reportado en los TLRs interacción con otros ligandos de RAGE como los CGA, S100 y los péptidos amilo-

des β . La interacción de RAGE con sus ligandos puede inducir señalización por diferentes vías. Así, por ejemplo, en la interacción con las proteínas S100B o S100A6, una puede activar la vía de la cinasa PI3/AKT y la otra la vía de JNK, a pesar de que los ligandos pertenecen a la misma familia y son estructuralmente idénticos (14). También se ha demostrado que RAGE y TLRs tienen diferente afinidad por un ligando común. Los ligandos endógenos pueden tener una constante de disociación más baja cuando interactúan con RAGE que cuando lo hacen con los TLRs, sin embargo los ligandos originados por patógenos, se unen más estrechamente a TLRs que a RAGE. Esta afinidad entre ligando y receptor puede determinar la fuerza de la señal y

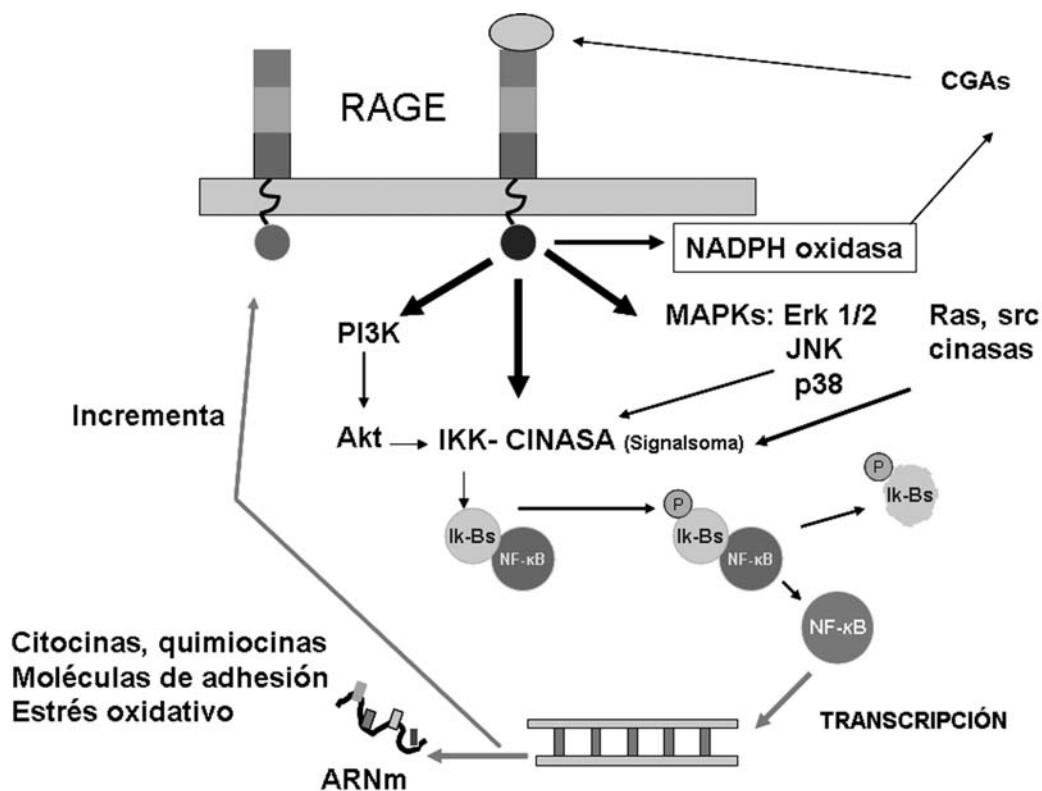


Fig. 2. Esquema de señalización de la activación del receptor para los compuestos de glicosilación avanzada (RAGE). Luego de la activación de RAGE por alguno de sus ligandos (CGAs), el componente citosólico de la molécula activa una red de sistemas de señalización compuesta principalmente por las cinasas del fosfoinosítido-3 o protein cinasa -B (PI3K), la protein cinasa activadas por mitógenos (MAPKs compuesta por: la cinasa Terminal Jun-N (JNK), p38 y las cinasas reguladas por signos extracelulares: ERK) y el Ras. Estas señalizaciones convergen en el complejo de cinasas llamadas IKK signalsomal que fosforilan al inhibidor del factor de transcripción NF- κ B en el citoplasma (Ik-Bs); éste deja libre al NF- κ B y posteriormente es degradado. El NF- κ B se transloca al núcleo induciendo al ADN a codificar para varios factores proinflamatorios como la expresión de moléculas de adhesión, citoquinas, quimiocinas y el estrés oxidativo. A su vez el ADN codifica para la neoexpresión de RAGE, actuando como un mecanismo de retroalimentación y aumentando el proceso inflamatorio. *Per se*, la activación de RAGE puede directamente influir en el estrés oxidativo al aumentar la expresión de la oxidasa del NADPH y originar aumento del contenido de anión superóxido.

la vía de señalización (24). Aunado a esto, las citoquinas como la IL-4 y la 13 pueden influenciar la especificidad de las señalizaciones celulares al formar diversos complejos de señalización con diversos ligandos (24). A diferencia de los TLRs, RAGE posee en su estructura un dominio citosólico que no tiene homología con los de los TLRs, lo que podría generar distintas vías de señalización y de regulación.

No se sabe cómo las señalizaciones originadas en RAGE pueden originar un estado de inflamación aguda o crónica. Al respecto existen dos hipótesis: 1) Los ligandos de RAGE deben estar polimerizados (oligomerizados) para tener una adecuada interacción con RAGE. Se ha determinado que la forma tetramérica de la S100B es más efectiva en generar sobrevivencia celular que las formas diméricas (25). Adicionalmen-

te se ha demostrado que solo las formas multiméricas de la familia de las S100 pueden activar señalizaciones de RAGE y eventos celulares (26, 27). Sin embargo, estos experimentos no se han realizado para determinar la diferencia entre inflamación aguda y crónica. 2) Alternativamente, el origen de los ligandos pudiese estar relacionado con la inducción de la inflamación aguda o crónica. A este respecto, se ha reportado que RAGE y los TLRs se pueden combinar para generar una respuesta inflamatoria aguda en respuesta a patógenos (28); sin embargo, los ligandos de origen endógeno con una constante de disociación baja, pueden originar inflamación crónica. Se requieren estudios de la cinética de interacción de RAGE y sus ligandos y la duración de las señalizaciones para poder sustentar estas dos hipótesis y entender los mecanismos regulatorios críticos.

La evidencia experimental sugiere que la señalización inducida por RAGE resulta en inflamación (29, 30); sin embargo, y a diferencia de los TLR, la señalización generada por RAGE es también importante para la maduración de los osteoblastos y para el desarrollo pulmonar (31, 32).

PAPEL DE RAGE EN LA INFILTRACIÓN LEUCOCITARIA

Además de los efectos producidos por la activación de RAGE, esta molécula puede actuar como un receptor de adhesión en los leucocitos y permitir la extravasación de estas células cruzando la barrera endotelial (5, 6). Experimentos en ratones *AGER*^{-/-} muestran que la infiltración leucocitaria está disminuida al estímulo inflamatorio, efecto que es revertido al inducir la expresión de RAGE (5). Estos experimentos sugieren la importancia de RAGE en la infiltración tisular por los leucocitos. El reclutamiento y la infiltración de leucocitos a través del endotelio es un proceso primario

en la inflamación y también uno de los pasos tempranos de la aterogénesis (33). Experimentos *in vitro* han demostrado que RAGE se une a las células del endotelio mediante la interacción con la beta integrina Mac-1, acción que es aumentada por el ligando de RAGE S100B. De esta manera RAGE representa una alternativa para moléculas como la molécula de adhesión intercelular -1 (ICAM-1) en la infiltración leucocitaria (34). Estudios *in vivo* han demostrado que la administración de HMGB1 induce adhesión de neutrófilos al endotelio, dependiente de ICAM-1 o fibrinógeno (6). Aunque S100B y HMGB-1 promueven interacciones entre RAGE y Mac-1, para que S100B induzca reclutamiento de leucocitos se requiere de la expresión de RAGE en la célula endotelial (Trans dimerización de RAGE y Mac-1 entre la célula endotelial y el leucocito). En el caso de HMGB1, se requiere la expresión de RAGE y Mac-1 en el neutrófilo, pero no en la célula endotelial (Cis dimerización de RAGE y Mac-1 en el leucocito) (5, 6). Los mecanismos de esta estrategia de unión, no están claros. Al parecer HMGB1 forma un puente entre RAGE y Mac-1 para la unión a la célula endotelial, además de la simple activación de RAGE, que si bien puede aumentar la expresión de ésta, RAGE no puede aumentar la interacción Trans entre RAGE y Mac-1 (5). También es posible que HMGB1 pueda aumentar el proceso inflamatorio vía la activación de los TLRs 2 y 4 induciendo la expresión de moléculas de adhesión en leucocitos y endotelio (35, 36).

RELACIÓN DE RAGE CON LAS ENFERMEDADES ARTERIALES Y EL ENVEJECIMIENTO

Estudios tanto en humanos como en animales han demostrado la asociación entre alteraciones arteriales y CGA (37-39). Se ha reportado que la pared arterial durante la vejez tiene un perfil proinflamatorio

con elevación de proteínas de la matriz extracelular y aumento de quimiocinas como la proteína quimiotáctica para monocitos-1 (MCP-1) (40). El aumento de estas proteínas puede conducir a la enfermedad cardiovascular. Tanto RAGE como sus ligandos pueden contribuir a este proceso. HMGB1, además de interactuar con RAGE para inducir un proceso proinflamatorio, tiene actividad quimiotáctica facilitando el paso de leucocitos a los tejidos (41, 42). Es probable que la activación de RAGE, además de inducir inflamación, intervenga en la remodelación de los tejidos, eventos que pueden inducir proliferación anormal de células vasculares y formación de placas ateroscleróticas con el consecuente aumento del grosor de las arterias y la enfermedad arterial (41, 43-45). Por otro lado, los CGA pueden adherirse a la matriz extracelular, y ser estos puntos lugares de interacción con las células que expresan RAGE, lo que llevaría a la alteración de la integridad estructural de la pared vascular y de la membrana basal (29).

Existen varios hallazgos experimentales que relacionan a la expresión de RAGE con eventos inflamatorios pro arterioescleróticos. En ratones diabéticos, deficientes de apolipoproteína E, la señalización de RAGE media la inflamación vascular aumentando la expresión de la molécula de adhesión vascular celular-1 (VCAM-1) y de factores tisulares. Además, en estos ratones, el bloqueo de RAGE estabiliza la placa aterosclerótica (46, 47). Por otro lado, además de la señalización de RAGE, la capacidad de este receptor de interactuar con las moléculas de adhesión, facilita el infiltrado de leucocitos al tejido vascular y el consecuente daño y remodelación (5, 6, 33, 34).

La señalización de RAGE puede estar conectada a otras señalizaciones que pueden influir en la inflamación vascular. A este respecto, tanto el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y el 17β -estradiol pue-

den aumentar la expresión de RAGE en la célula endotelial humana, probablemente activando al NF- κ B (48). Los CGA también pueden inducir la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en el endotelio, induciendo eventos de señalización adicionales inductores de angiogénesis in vivo (49). La utilización del fármaco Alagebrium (ALT7-11), que rompe los enlaces en los CGA, mejora tanto la función ventricular como la arterial en humanos y animales. Aunado a esto, este fármaco reduce la expresión de RAGE y la acumulación de colágeno en el tejido arterial (50, 51). Recientemente se ha demostrado que la utilización de Alagebrium mejora la función endotelial en pacientes con hipertensión sistólica, efecto que está relacionado a una disminución de marcadores de inflamación (52).

RAGE SOLUBLE

El gen AGER codifica para varias isoformas de RAGE. Se ha determinado que los ARNm codifican tanto para las formas truncadas N- y C-terminal de RAGE en células endoteliales, pericitos y pulmón (53, 54). La forma N-terminal del RAGE truncado, pierde el dominio V en su porción extracelular, por lo tanto no puede unirse a los CGA, lo que trae como consecuencia el retardo en la migración de las células endoteliales que lo sobre-expresen (54). La forma truncada C-terminal, referida como RAGE endógeno secretorio, no contiene la porción transmembrana y por lo tanto es secretado al espacio extracelular como una proteína soluble. Además de la forma secretoria de RAGE, este puede ser cortado de la superficie celular por proteólisis y se llama RAGE soluble (55). Estas dos formas de RAGE (endógeno secretorio y soluble) son los que forman en el plasma el llamado RAGE soluble. No se tiene claro cuáles son los procesos ligados a un aumento de estas

formas de RAGE en el plasma. Estos pueden estar ligados a la estructura genómica del AGER o ser influenciados por otros factores. Al respecto, se ha determinado en ratas, que la inhibición de la enzima convertasa de angiotensina incrementa el RAGE soluble en el riñón, lo que está asociado a una expresión renal de RAGE disminuida (56). El incremento del RAGE soluble puede ser de importancia como maniobra terapéutica en el caso de las enfermedades mediadas por RAGE. Al respecto se ha demostrado que el RAGE soluble tiene la capacidad de unirse a los CGA evitando las señalizaciones generadas por el RAGE en la superficie celular, siendo por ende, un potencial instrumento terapéutico para las enfermedades inflamatorias como diabetes y enfermedades cardiovasculares (57, 58). En ratones diabéticos, la administración de RAGE soluble (RAGEs) suprime la formación de placas arterioescleróticas en aorta (58). Así mismo, la administración de RAGEs también previene eventos inflamatorios vasculares como la expresión de VCAM-1, el factor tisular y las metaloproteinasas de la matrix (59). RAGEs también estabiliza las placas ateroscleróticas ya formadas en ratones *apoe^{-/-}* diabéticos y no diabéticos (47). Se han realizado varios estudios clínicos para definir si los niveles de RAGEs están asociados a enfermedades cardiovasculares o metabólicas. En general se encuentran niveles bajos de RAGEs en el plasma de pacientes con hipertensión arterial, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y enfermedad renal terminal (60). Estas observaciones sugieren que el RAGEs puede ser un marcador para estas enfermedades y que puede tener un papel terapéutico o modulador de las complicaciones inflamatorias. Los niveles plasmáticos de RAGEs parecen también tener efecto en la longevidad humana. Se han asociado altos niveles de RAGEs con la alta longevidad, sugiriendo un papel anti-vejez para este receptor solu-

ble (61). No se conoce cuáles son las isoformas de RAGEs responsables de estos efectos, ya que en estos estudios se analizó el RAGEs total, no discriminando las isoformas.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Desde su descubrimiento y debido a su carácter de perpetuar la inflamación, RAGE se ha relacionado con enfermedades que tienen como etiología común la inflamación crónica. Si bien RAGE puede considerarse como un receptor de patrones moleculares al igual que los TLRs y actuar como un miembro del sistema inmunitario innato, este receptor, al responder a ligandos endógenos, puede generar daño y estrés llevando a la inflamación crónica. Esta inflamación crónica puede estar relacionada con la enfermedad arterioesclerótica y la vejez. Más recientemente, se ha descubierto el papel de RAGE en el reclutamiento y extravasación de leucocitos a través del endotelio, lo que le ha dado un papel importante en las complicaciones vasculares. La importancia del RAGE en varias patologías lo define como un blanco importante a modular en las estrategias terapéuticas.

REFERENCIAS

1. Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J, Rutledge R, Lin B, Amoscato AA, Zeh HJ, Lotze MT. RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J Transl Med* 2009; 7:17-38.
2. Bopp C, Bierhaus A, Hofer S, Bouchon A, Nawroth PP, Martin E, Weigand MA. Bench-to bedside review: The inflammation-perpetuating pattern-recognition receptor RAGE as a therapeutic target in sepsis. *Crit Care* 2008; 12:201-208.
3. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrod R, Nepper M, Przysiecki C, Shaw A. Survey of

- the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol* 1993; 143:1699-1712.
4. **Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D, Shaw A.** Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 1992; 267:14998-5004.
 5. **Chavakis T, Bierhaus A, Al-Fakhri N, Schneider D, Witte S, Linn T, Nagashima M, Morser J, Arnold B, Preissner KT, Nawroth PP.** The pattern recognition receptor (RAGE) is a counterreceptor for leukocyte integrins: a novel pathway for inflammatory cell recruitment. *J Exp Med* 2003; 198:1507-1515.
 6. **Orlova VV, Choi EY, Xie C, Chavakis E, Bierhaus A, Ihanus E, Ballantyne CM, Gahmberg CG, Bianchi ME, Nawroth PP, Chavakis T.** A novel pathway of HMGB1-mediated inflammatory cell recruitment that requires Mac-1-integrin. *EMBO J* 2007; 26:1129-1139.
 7. **Yan SF, Du Yan S, Ramasamy R, Schmidt AM.** Tempering the wrath of RAGE: An emerging therapeutic strategy against diabetic complications, neurodegeneration, and inflammation. *Ann Med* 2009; 25:1-15.
 8. **Herold K, Moser B, Chen Y, Zeng S, Yan SF, Ramasamy R, Emond J, Clynes R, Schmidt AM.** Receptor for advanced glycation end products (RAGE) in a dash to the rescue: inflammatory signals gone awry in the primal response to stress. *J Leuko Biol* 2007; 82: 204-212.
 9. **Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y, Avila C, Kambham N, Bierhaus A, Nawroth P, Neurath MF, Slattery T, Beach D, McClary J, Nagashima M, Morser J, Stern D, Schmidt AM.** RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell* 1999; 97:889-901.
 10. **Dattilo BM, Fritz G, Leclerc E, Kooi CW, Heizmann CW, Chazin WJ.** The extracellular region of the receptor for advanced glycation end products is composed of two independent structural units. *Biochemistry* 2007; 46:6957-6970.
 11. **Sugaya K, Fukagawa T, Matsumoto KI, Mita K, Takahashi EI, Ando A, Inoko H, Ikemura T.** Three genes in the human MHC class II region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene *int-3*. *Genomics* 1994; 23:408-419.
 12. **Peiser L, Mukhopadhyay S, Gordon S.** Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2002; 14:123-128.
 13. **Vlassara H, Brownlee M, Cerami A.** Novel macrophage receptor for glucose-modified proteins is distinct from previously described scavenger receptors. *J Exp Med* 1986; 164:1301-1309.
 14. **Leclerc E, Fritz G, Weibel M, Heizmann CW, Galichet A.** S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation end products) immunoglobulin domains. *J Biol Chem* 2007; 282:31317-31331.
 15. **Li JH, Huang XR, Zhu HJ, Oldfield M, Cooper M, Truong LD, Johnson RJ, Lan HY.** Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease. *FASEB J* 2004; 18:176-178.
 16. **Stern D, Yan SD, Yan SF, Schmidt AM.** Receptor for advanced glycation end-products: a multiligand receptor magnifying cell stress in diverse pathologic settings. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54:1615-1625.
 17. **Taguchi A, Blood DC, del Toro G, Canet A, Lee DC, Qu W, Tanji N, Lu Y, Lalla E, Fu C, Hofmann MA, Kislinger T, Ingram M, Lu A, Tanaka H, Hori O, Ogawa S, Stern DM, Schmidt AM.** Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature* 2000; 405:354-360.
 18. **Liu J, Lin A.** Wiring the cell signaling circuitry by the NF- κ B and JNK1 crosstalk

- and its applications in human diseases. *Oncogene* 2007; 26:3267-3278.
19. **Foell D, Wittkowski H, Roth J.** Mechanisms of disease: a 'DAMP' view of inflammatory arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007; 3:382-390.
 20. **Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D.** Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 1994; 269:9889-9897.
 21. **Hacker H, Karin M.** Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci STKE* 2006; 2006:re13. DOI: 10.1126/stke.3572006re13.
 22. **Henkel T, Machleidt T, Alkalay I, Kronke M, Ben-Neriah Y, Baeuerle PA.** Rapid proteolysis of I κ B- α is necessary for activation of transcription factor NF- κ B. *Nature* 1993; 365:182-185.
 23. **Li Q, Verma IM.** NF- κ B regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:725-734.
 24. **Zdanov A, Wlodawer A.** A New Look at Cytokine Signaling. *Cell* 2008; 132:179-181.
 25. **Ostendorp T, Leclere E, Galichet A, Koch M, Demling N, Weigle B, Heizmann CW, Kroneck PM, Fritz G.** Structural and functional insights into RAGE activation by multimeric S100B. *EMBO J* 2007; 26:3868-3878.
 26. **Kiryushko D, Novitskaya V, Soroka V, Klingelhofer J, Lukanidin E, Berezin V, Bock E.** Molecular mechanisms of Ca (2+) signaling in neurons induced by the S100A4 protein. *Mol Cell Biol* 2006; 26:3625-3638.
 27. **Xie J, Burz DS, He W, Bronstein IB, Lednev I, Shekhtman A.** Hexameric calgranulin C (S100A12) binds to the receptor for advanced glycated end products (RAGE) using symmetric hydrophobic target-binding patches. *J Biol Chem* 2007; 282:4218-4231.
 28. **Tian J, Avalos AM, Mao SY, Chen B, Senthil K, Wu H, Parroche P, Drabic S, Golenbock D, Sirios C, Hua J, An LL, Audoly L, La Rosa G, Bierhaus A, Nawroth P, Marshak-Rothstein A, Crow MK, Fitzgerald KA, Latz E, Kiener PA, Coyle AJ.** Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat Immunol* 2007; 8:487-496.
 29. **Chavakis T, Bierhaus A, Nawroth PP.** RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. *Microbes Infect* 2004; 6:1219-1225.
 30. **Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM.** The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001; 108:949-955.
 31. **Zhou Z, Immel D, Xi CX, Bierhaus A, Feng X, Mei L, Nawroth P, Stern DM, Xiong WC.** Regulation of osteoclast function and bone mass by RAGE. *J Exp Med* 2006; 203:1067-1080.
 32. **Lizotte PP, Hanford LE, Enghild JJ, Nozik-Grayek E, Giles BL, Oury TD.** Developmental expression of the receptor for advanced glycation end-products (RAGE) and its response to hyperoxia in the neonatal rat lung. *BMC Dev Biol* 2007; 7:15-23.
 33. **Hansson GK, Libby P.** The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2006; 6:508-519.
 34. **Carlos TM, Harlan JM.** Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84:2068-2101.
 35. **Park JS, Gamboni-Robertson F, He Q, Svetkauskaite D, Kim JY, Strassheim D, Sohn JW, Yamada S, Maruyama I, Banerjee A, Ishizaka A, Abraham E.** High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290:C917-C924.
 36. **Park JS, Svetkauskaite D, He Q, Kim JY, Strassheim D, Ishizaka A, Abraham E.** Involvement of tolllike receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem* 2004; 279:7370-7377.
 37. **Cerami A, Vlassara H, Brownlee M.** Glucose and aging. *Sci Am* 1987; 256:90-96.
 38. **Pepe S, Lakatta EG.** Aging hearts and vessels: masters of adaptation and survival. *Cardiovasc Res* 2005; 66:190-193.

39. Wang M, Takagi G, Asai K, Resuello RG, Natividad FF, Vatner DE, Vatner SF, Lakatta EG. Aging increases aortic MMP-2 activity and angiotensin II in nonhuman primates. *Hipertension* 2003; 41:1308-1316.
40. Wang M, Zhang J, Jiang LQ, Spinetti G, Pintus G, Monticone R, Kolodgie FD, Virmani R, Lakatta EG. Proinflammatory profile within the grossly normal aged human aortic wall. *Hipertension* 2007; 50: 219-227.
41. Rouhiainen A, Kuja-Panula J, Wilkman E, Pakkanen J, Stenfors J, Tuominen RK, Lepantalo M, Carpen O, Parkkinen J, Rauvala H. Regulation of monocyte migration by amphoterin (HMGB1). *Blood* 2004; 104:1174-1182.
42. Degryse B, Bonaldi T, Scaffidi P, Muller S, Resnati M, Sanvito F, Arrighoni G, Bianchi ME. The high mobility group (HMG) boxes of the nuclear protein HMG1 induce chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells. *J Cell Biol* 2001; 152:1197-1206.
43. Chavakis E, Hain A, Vinci M, Carmona G, Bianchi ME, Vajkoczy P, Zeiher AM, Chavakis T, Dimmeler S. High-mobility group box 1 activates integrin-dependent homing of endothelial progenitor cells. *Circ Res* 2007; 100:204-212.
44. Palumbo R, Bianchi ME. High mobility group box 1 protein, a cue for stem cell recruitment. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 1165-1170.
45. Palumbo R, Sampaolesi M, De Marchis F, Tonlorenzi R, Colombetti S, Mondino A, Cossu G, Bianchi ME. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation. *J Cell Biol* 2004; 164:441-449.
46. Kislinger T, Tanji N, Wendt T, Qu W, Lu Y, Ferran LJ Jr, Taguchi A, Olson K, Bucciarelli L, Goova M, Hofmann MA, Cataldegirmen G, D'Agati V, Pischetsrieder M, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products mediates inflammation and enhanced expression of tissue factor in vasculature of diabetic apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:905-910.
47. Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, Lu Y, Lalla E, Rong LL, Goova MT, Moser B, Kislinger T, Lee DC, Kashyap Y, Stern DM, Schmidt AM. RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. *Circulation* 2002; 106:2827-2835.
48. Tanaka N, Yonekura H, Yamagishi S, Fujimori H, Yamamoto Y, Yamamoto H. The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factor-alpha through nuclear factor- κ B, and by 17beta-estradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275:25781-25790.
49. Yamagishi S, Yonekura H, Yamamoto Y, Katsuno K, Sato F, Mita I, Ooka H, Satozawa N, Kawakami T, Nomura M, Yamamoto H. Advanced glycation end products-driven angiogenesis *in vitro*. Induction of the growth and tube formation of human microvascular endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1997; 272: 8723-8730.
50. Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroof RC, Lakatta EG. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation* 2001; 104:1464-1470.
51. Vaitkevicius PV, Lane M, Spurgeon H, Ingram DK, Roth GS, Egan JJ, Vasan S, Wagle DR, Ulrico P, Brines M, Wuerth JP, Cerami A, Lakatta EG. A cross-link breaker has sustained effects on arterial and ventricular properties in older rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:1171-1175.
52. Ziemann SJ, Melenovsky V, Clattenburg L, Corretti MC, Capriotti A, Gerstenblith G, Kass DA. Advanced glycation endproduct crosslink breaker (alagebrium) improves endothelial function in patients with isolated systolic hypertension. *J Hypertens* 2007; 25:577-583.
53. Malherbe P, Richards JG, Gaillard H, Thompson A, Diener C, Schuler A, Huber G. cDNA cloning of a novel secreted isoform of the human receptor for ad-

- vanced glycation end products and characterization of cells co-expressing cell-surface scavenger receptors and Swedish mutant amyloid precursor protein. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; 71:159-170.
54. **Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Petrova RG, Abedin MJ, Li H, Yasui K, Takeuchi M, Makita Z, Takasawa S, Okamoto H, Watanabe T, Yamamoto H.** Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem J* 2003; 370:1097-1109.
 55. **Hanford LE, Enghild JJ, Valnickova Z, Petersen SV, Schaefer LM, Schaefer TM, Reinhart TA, Oury TD.** Purification and characterization of mouse soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE). *J Biol Chem* 2004; 279:50019-50024.
 56. **Forbes JM, Thorpe SR, Thallas-Bonke V, Pete J, Thomas MC, Deemer ER, Bassal S, El-Osta A, Long DM, Panagiotopoulos S, Jerums G, Osicka TM, Cooper ME.** Modulation of soluble receptor for advanced glycation end products by angiotensin-converting enzyme-1 inhibition in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2363-2372.
 57. **Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Spessot A, Qu W, Kislinger T, Lu Y, Stern DM, Schmidt AM.** Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest* 2000; 105:1117-1124.
 58. **Park L, Raman KG, Lee KJ, Lu Y, Ferran LJ Jr, Chow WS, Stern D, Schmidt AM.** Suppression of accelerated diabetic atherosclerosis by the soluble receptor for advanced glycation endproducts. *Nat Med* 1998; 4:1025-1031.
 59. **Wendt T, Harja E, Bucciarelli L, Qu W, Lu Y, Rong LL, Jenkins DG, Stein G, Schmidt AM, Yan SF.** RAGE modulates vascular inflammation and atherosclerosis in a murine model of type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 185:70-77.
 60. **Choi KM, Yoo HJ, Kim HY, Lee KW, Seo JA, Kim SG, Kim NH, Choi DS, Baik SH.** Association between endogenous secretory RAGE, inflammatory markers and arterial stiffness. *Int J Cardiol.* 2009; 132: 96-101.
 61. **Geroldi D, Falcone C, Minoretti P, Emanuele E, Arra M, D'Angelo A.** High levels of soluble receptor for advanced glycation end products may be a marker of extreme longevity in humans. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54:1149-1150.