

多面的保護効果を有するプログラニュリンによる新規脳梗塞治療法の開発

金澤雅人

新潟大学脳研究所 神経内科

【研究の背景】

脳梗塞急性期の内科的血栓溶解薬「組織プラスミノゲン・アクチベーター(tPA)」の静注療法は、発症から 4.5 時間までのきわめて短い治療可能時間に制限されている。そのため、治療の恩恵を受ける患者数は全脳梗塞患者数のわずか 5%と少なく、治療可能時間を延長するような新規療法の開発は喫緊の課題である。治療可能時間を越えての tPA 投与は、血管破綻により、脳出血を合併する。さらに、tPA 自体は神経細胞毒性を有し、再還流後に惹起される炎症は神経障害を拡大させる。複数の病態に関与する薬剤の開発が tPA 療法の治療の恩恵にあずかる症例の増加に不可欠である。

今回、神経細胞、血管、炎症にも関わる分子として分泌型成長因子プログラニュリン (progranulin, PGRN) に注目した。PGRN は、神経保護効果を持ち、血管新生、炎症の抑制にかかわることが示されている。

【目的】

神経細胞、血管、炎症すべてに関わる PGRN を標的とした新規脳梗塞治療薬の開発を目指した。

【方法】

ラットとマウス再還流一過性局所脳虚血モデルを用いた免疫染色、ウエスタンプロットにより、PGRN の虚血後の発現を確認した。また、初代培養細胞(神経細胞、ミクログリア、アストロサイト)を用いて、低酸素低グルコース刺激を行い、細胞由来の PGRN や各種サイトカイン、血管破綻に関する血管内皮増殖因子(VEGF)の産生に関して、メッセンジャーRNA 量を PCR 法、分泌に関しては、ELISA にて評価した。また、PGRN 欠損マウスを用いて、PGRN 欠如による影響を確認した。最後に、遅延した tPA 投与で、脳出血合併をきたすラット脳塞栓モデルに組み替え PGRN を tPA と同時投与することで、予後を改善させるかを検証した。

【結果】

脳梗塞後、PGRN は虚血再灌流 24 時間後から増え始め、72 時間後には著増していた。また免疫組織学的検討では、PGRN は非虚血時では大脳皮質の神経細胞にのみ顆粒状に発現していたが、虚血再灌流 24 時間後、虚血中心の神経細胞で PGRN の発現は消失する一方、虚血ペナンブラで PGRN 陽性神経細胞が増加し、発現分布もびまん性に変化していた。また非虚血時にはミクログリアでは PGRN の発現を認めなかつたが、再灌流 24 時間後から PGRN 陽性ミクログリアが増え始め、72 時間後に著増した。さらに PGRN は、再灌流 24 時間後の血管内皮細胞でも発現を認めるようになった。

我々は、脳虚血後、核蛋白 TAR DNA 結合蛋白-43(TDP-43)が限定分解され、神経細胞核から細胞質に異常局在することで神経細胞死に関与する可能性を報告している。TDP-43 の切断酵素である caspase-3 の活性化を PGRN が抑制することも報告されており、PGRN が TDP-43 の維持を介して神経細胞死を抑制する可能性を考え検証を行った。まず初代培養神経細胞を用いた低グルコース低酸素実験で、PGRN の添加で虚血性神経細胞死は有意に抑制された。また、その経路に TDP-43 が関与していることを明らかにした(図1)。

PGRN の血管保護の可能性については、虚血後の血液脳関門破綻を強力に惹起する血管内皮増殖因子(VEGF)に注

目し検討を行ったところ、PGRN 欠損マウスの局所脳虚血モデルにおいて、VEGF 発現が野生型より有意に増加していることを見出した。すなわち、PGRN は VEGF を抑制することで血管保護作用を有する可能性が示唆された(図1)。

また脳虚血後に惹起される炎症に関しては、初代培養ミクログリアを用いて各種サイトカインを測定した。炎症性サイトカインである腫瘍壞死因子(TNF)- α 、抗炎症性サイトカインであるトランスフォーミング因子(TGF)- β とインターロイキン-10(IL-10)のメッセンジャーRNA 量と蛋白分泌量を比較したところ、虚血条件下において、野生型と PGRN 欠損ミクログリアの TNF- α と TGF- β の量に差はなかったものの、PGRN 欠損ミクログリアの IL-10 量は野生型に比べ有意に減少していた。この結果は、PGRN は IL-10 分泌を介した炎症抑制により、脳虚血に対し保護効果をもたらすものと考えた(図1)。

最後に、ラット脳塞栓モデルを用いて、PGRN の tPA との併用効果について検討を行った。

このモデルは tPA で再灌流を行い、ヒトの脳梗塞に類似した治療可能時間を有するモデルである。治療可能時間を越えた虚血 4 時間の時点で、tPA と組み換え PGRN 蛋白を同時に投与すると、脳浮腫や脳出血合併症は軽減し、さらに梗塞病変も縮小した。前者は血管保護、後者は神経細胞保護や炎症抑制による効果と考えられた。さらに、機能予後、生命予後も有意に改善した。

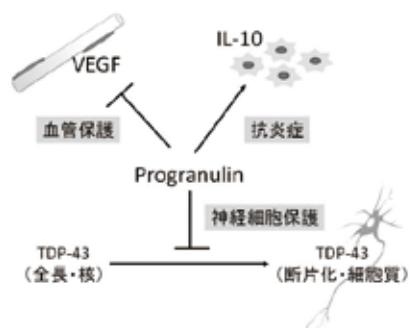


図 1 プログラニュリンによる脳保護効果

【考 察】

PGRN は脳梗塞に対し、多面的な保護作用を有すること、さらに脳保護療法を実現する治療標的分子として有望であることを示した。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

PGRN 併用の tPA 療法により、tPA の治療可能時間は今の 4.5 時間から 6~8 時間に延長し、tPA 投与の適応可能症例は今の 3 倍ほどになることが期待できる。これにより、脳梗塞の症状改善、さらに寝たきり患者の減少、医療費の抑制に貢献できる可能性がある。産学官連携を通して、この創薬シーズを発展させ、日本発の臨床試験を目指したいと考えている。

【参考・引用文献】

Kanazawa M, Kawamura K, Takahashi T, Miura M, Tanaka Y, Koyama M, Toriyabe M, Igarashi H, Nakada T, Nishihara M, Nishizawa M, Shimohata T. Multiple therapeutic effects of progranulin on experimental acute ischaemic stroke. Brain. 2015;138:1932-48.