

## 脳梗塞後の組織修復と機能回復におけるペリサイトとマクロファージの相互作用

芝原友也

九州大学大学院医学研究院 病態機能内科学

### 【研究の背景】

脳梗塞超急性期の血栓溶解・除去による再灌流療法は劇的な進歩を遂げてきているが、未だ脳梗塞後の機能障害を改善させる有効な治療法はリハビリテーション療法以外に無く、脳梗塞は依然として寝たきりや介護の最大の要因である。神経障害を回復させる治療法の開発のためには、脳梗塞発生後の内因性機能回復機構を十分に解明しなければならない。

脳微小血管壁細胞(ペリサイト)は neurovascular unit (NVU) を構成する細胞であり、様々な生理機能に関わる。一方、脳梗塞後には PDGFR $\beta$  シグナルを介して、NVU を構築する種々の細胞群と相互作用することで、①梗塞内部の組織修復、および②梗塞周囲における神経ネットワーク再構築に関わることで、内因性機能回復に中心的な役割を果たす<sup>1-5)</sup>。近年、骨髄由来単球・マクロファージが梗塞内部の壊死組織(ミエリンデブリス)を貪食し、梗塞内部の組織修復に関与していることが示唆され、ミエリンデブリスが適切に処理されることが機能回復にも繋がる可能性が近年注目されている<sup>6,7)</sup>。

### 【目的】

我々はペリサイトが NVU を構成する細胞群のみならず、骨髄由来単球・マクロファージの局所動員や機能を制御することで梗塞内部の組織修復を完遂させ、さらに梗塞周囲領域における神経ネットワーク再構築を介して神経機能回復を誘導する可能性について検討した。

### 【方法】

8-15 週齢・雄性 C57BL/6 の野生型および *Pdgfrb* hetero knockout (以下 *Pdgfrb*<sup>+/-</sup>) マウスを用いて光凝固による中大脳動脈遠位部閉塞による脳梗塞モデルを作製した。脳梗塞後 1、7、14、28 日目における梗塞サイズ、ペリサイト・マクロファージの浸潤、梗塞内部のミエリンデブリス除去・線維性応答を免疫組織染色で評価した。また pole test、mNSS により脳梗塞後神経機能回復の有無を評価した。培養ペリサイト、マクロファージ、オリゴデンドロサイト前駆細胞を用いて、細胞間相互作用を検討した。

### 【結果】

野生型では、ペリサイトとマクロファージが梗塞内部へ経時的に浸潤し、両者は常に近接して存在した。梗塞内部のペリサイトは、マクロファージの増殖や遊走に関わる CCL2 や CSF1 を発現した。培養ペリサイトでは PDGFR $\beta$  signaling 依存性に CCL2 や CSF1 の発現が増加した。ペリサイトとマクロファージの相互作用を検証するため、培養ペリサイトの培地上清(PCM)を培養マクロファージに添加したところ、PDGF-BB で刺激した PCM が、マクロファージの細胞増殖・遊走・ミエリンデブリスの貪食を促進した。続いて、培養マクロファージではミエリンデブリス貪食後に増殖因子や脂質制御因子の発現が増加した。培養マクロファージの培地上清(MCM)を培養ペリサイトに添加すると、線維性組織修復に関与する細胞外マトリックス蛋白である fibronectin の産生が増加した。マクロファージは fibronectin に強固に接着し、fibronectin 存在下でミエリンデブリス貪食能が増加した。さらに MCM をオリゴデンドロサイト前駆細胞に添加すると、ミエリンデブリス貪食後の MCM は、オリゴデ

ドロサイトへの分化および髄鞘化反応を促進した。*Pdgfrb*<sup>-/-</sup> マウスでは、1)脳梗塞後1～14日目の梗塞サイズは野生型と同等であったが、28日目では梗塞サイズが野生型に比べて大きく、梗塞サイズの縮小化が抑制されていた。2)梗塞内部へのペリサイト浸潤だけでなく、マクロファージの浸潤も抑制された。3)梗塞内部におけるマクロファージによる壊死組織の処理が抑制され、4)ペリサイトによるfibronectinの産生が低下した。さらに、5)脳梗塞14日目以降の神経機能回復が抑制された。

## 【考 察】

ペリサイトとマクロファージの相互作用は、脳梗塞後の梗塞内部ミエリンデブリスの除去および線維性応答(Fibronectin)による梗塞内組織修復と、梗塞周囲領域におけるオリゴデンドロサイト新生による神経系ネットワーク再構築を促すことで、神経機能回復に重要な役割を果たすと考えられた。特に、両者の梗塞内部での細胞間相互作用には fibronectin が関わっており、脳梗塞後の組織修復や神経機能回復を促進するのに必要な環境を創り出している可能性が考えられた<sup>8)</sup>。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

脳梗塞超急性期において、再灌流療法によって回復が得られる患者は限られる。本研究では、脳梗塞発生後、急性期～亜急性期に起こる組織修復および内因性機能回復を促進する機序として、fibronectin を含めた細胞外マトリックス蛋白の働きが重要であることを明らかとした。本研究の進展によって組織修復・機能回復を促進する治療が可能となれば、後遺症治療のブレイクスルーとなり得る。現在、細胞外マトリックス蛋白を標的とした新規治療法開発に向けて解析を継続している。

## 【参考・引用文献】

1. Makihara N, Arimura K, Ago T, Tachibana M, Nishimura A, Nakamura K, Matsuo R, Wakisaka Y, Kuroda J, Sugimori H, Kamouchi M, Kitazono T. Involvement of platelet-derived growth factor receptor beta in fibrosis through extracellular matrix protein production after ischemic stroke. *Exp Neurol*. 2015;264:127-34.
2. Nakamura K, Arimura K, Nishimura A, Tachibana M, Yoshikawa Y, Makihara N, Wakisaka Y, Kuroda J, Kamouchi M, Ooboshi H, Kitazono T, Ago T. Possible involvement of basic FGF in the upregulation of PDGFR  $\beta$  in pericytes after ischemic stroke. *Brain Res*. 2016;1630:98-108.
3. Tachibana M, Ago T, Wakisaka Y, Kuroda J, Shijo M, Yoshikawa Y, Komori M, Nishimura A, Makihara N, Nakamura K, Kitazono T. Early Reperfusion After Brain Ischemia Has Beneficial Effects Beyond Rescuing Neurons. *Stroke*. 2017;48(8):2222-2230.
4. Komori M, Ago T, Wakisaka Y, Nakamura K, Tachibana M, Yoshikawa Y, Shibahara T, Yamanaka K, Kuroda J, Kitazono T. Early initiation of a factor Xa inhibitor can attenuate tissue repair and neurorestoration after middle cerebral artery occlusion. *Brain Res*. 2019.
5. Shibahara T, Ago T, Nakamura K, Tachibana M, Yoshikawa Y, Komori M, Yamanaka K, Wakisaka Y, Kitazono T. Pericyte-mediated tissue repair through PDGFR  $\beta$  promotes peri-infarct astrogliosis, oligodendrogenesis and functional recovery after acute ischemic stroke. *eNeuro*. 2020.
6. Cunha MI, Su M, Cantuti-Castelvetri L, Muller SA, Schifferer M, Djannatian M, Alexopoulos I, van der Meer F, Winkler A, van Ham TJ, Schmid B, Lichtenthaler SF, Stadelmann C, Simons M. Pro-inflammatory activation following demyelination is required for myelin clearance and oligodendrogenesis. *J Exp Med*. 2020;217.
7. Ting SM, Zhao X, Sun G, Obertas L, Ricote M, Aronowski J. Brain Cleanup as a Potential Target for Poststroke Recovery: The Role of RXR (Retinoic X Receptor) in Phagocytes. *Stroke*. 2020;51(3):958-966.
8. Shibahara T, Ago T, Tachibana M, Nakamura K, Yamanaka K, Kuroda J, Wakisaka Y, Kitazono T. Reciprocal Interaction Between Pericytes and Macrophage in Poststroke Tissue Repair and Functional Recovery. *Stroke*. 2020;51(10):3095-106.