

Rspondin3/LGR4 をターゲットにした新規脳梗塞炎症制御療法の開発

島村宗尚

大阪大学大学院医学系研究科 健康発達医学講座

【研究の背景】

近年、Wnt/ β カテニンシグナルの活性化が脳梗塞における神経・血液脳関門保護や神経突起伸張を促進し、間葉系幹細胞移植による治療効果にも、Wnt シグナルの活性化が大きく関与していることが報告されている¹⁾。したがって、Wnt シグナルの活性化は重要な治療戦略である。このような背景から我々は、Wnt の受容体である Frizzled の分解を抑制することにより Wnt/ β カテニンシグナルを促進し、再生促進や TLR 炎症を抑制することが腸や肺で報告されている R-spondin (RSPO) / LGR4 シグナル²⁾に注目し、脳梗塞での研究を続けてきた。申請時点で、脳梗塞部位では RSPO3 は血管内皮細胞に、LGR4 が活性化ミクログリア・神経細胞に発現しており、TLR2、TLR4 リガンド刺激によるミクログリア細胞株からの IL1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカイン発現がリコンビナント RSPO3 により抑制されることを見いだしていたが、RSPO3 の治療効果や神経細胞への作用については明らかとはなっていなかった。

【目 的】

本研究では RSPO3 の脳梗塞モデルにおける治療効果、M1/M2 フェノタイプへの作用、神経突起伸張への作用を検討することにより、脳梗塞における RSPO3/LGR4 の機能を明らかにすることを目的とした。

【方 法】

マウス中大脳動脈および総頸動脈永久閉塞モデルにおいて、脳梗塞 1、2 日目に RSPO3 を脳室内に投与した。3、9 日目の脳梗塞組織における炎症性サイトカインおよび神経突起伸張に関わる mRNA の発現および神経機能を評価した。ミクログリアへの作用については、ミクログリア細胞株 MG6 細胞と初代グリア神経混合培養にて、また、神経細胞への作用については、マウス P1 からの初代神経細胞培養を用いて検討した。

【結 果】

脳梗塞 1,2 日目にリコンビナント RSPO3 脳室内投与では、9 日目での脳梗塞サイズには差がないものの、3 日目における *Il1 β* 、*Il6* mRNA の発現低下、9 日目では *Gap43* mRNA の発現上昇を認め、hanging-wire 試験での神経機能が改善していた。しかし、M1/M2 に関わる *Cd86/Cd206* 比、*inos/Arg1* 比については、治療群と非治療群間での差異を認めなかった。MG6 細胞を用いた検討では、TLR9 による炎症も抑制できる一方で、TLR7 による炎症は抑制しなかった。また、脳梗塞モデルと同様に、*Cd86/Cd206* 比、*inos/Arg1* 比には差異を認めなかった。グリア神経混合培養細胞では、LPS による炎症性サイトカインの発現と炎症性サイトカインによる神経細胞死を RSPO3 が抑制するとともに、RSPO3 を中和する LGR4 Fc キメラを投与することにより、炎症性サイトカインの発現が増強した。初代神経細胞への RSPO3 刺激では、神経突起の伸張が促進された。

【考 察】

以上の結果から、RSPO3 は急性期の炎症性サイトカインの発現抑制と慢性期における神経突起伸張を促進し、脳梗塞後の神経機能障害を抑制することが明らかとなった。また、グリア神経混合培養の結果からは、内因性の RSPO3 も炎症性サイトカインの発現を抑制していることが示唆された。RSPO3/LGR4 が肺 Mφにおいて M2 への分化を促進することが報告されている過去の論文とは異なり²⁾、脳においては、明らかな M1/M2 フェノタイプへの作用は明らかではなく、その抑制メカニズムについては、さらなる解析が必要であると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

既存のシグナルとは異なる分子で、脳梗塞後の炎症抑制・神経突起伸張の促進が可能であることが明らかとなった。脳梗塞 1 日目からの投与でも治療効果があることから、ペプチド化や低分子化合物への変換によって、RSPO3 は新たな医薬品としての標的分子となり得ることが示唆された。

【参考・引用文献】

1. Bang OY, et al. Circulating Extracellular Vesicles in Stroke Patients Treated With Mesenchymal Stem Cells: A Biomarker Analysis of a Randomized Trial. *Stroke*. 2022;53:2276-2286.
2. Zhou B, et al. The angiocrine Rspodin3 instructs interstitial macrophage transition via metabolic-epigenetic reprogramming and resolves inflammatory injury. *Nat Immunol*. 2020;21:1430-1443.