

炎症制御をターゲットにした脳梗塞急性期治療薬開発の現状と展望

島村 宗尚¹⁾²⁾ 中神 啓徳²⁾ 佐々木 勉¹⁾ 森下 竜一³⁾ 望月 秀樹^{1)*}

要旨：我々は脳梗塞急性期における RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) /RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) シグナルを介した TLR (toll-like receptor) 関連炎症を抑制する RANKL 部分ペプチドを開発してきた。本ペプチドは tPA との併用も可能な脳梗塞治療薬になりうる可能性があり、臨床応用への検討を重ねている。多くの治験薬の失敗から脳梗塞急性期治療薬への企業ニーズは低い、齧歯類とヒトでの炎症・免疫反応の相違を克服するためにサルモデルでの検討を行うこと、企業の重点領域に含まれる他疾患でも薬効を検討すること、血管内治療の発展に伴う脳梗塞急性期臨床試験の環境変化について説明することを通して、企業との連携を目指しながらトランスレーショナル・リサーチの実践に取り組んでいる。

(臨床神経 2020;60:253-259)

Key words：脳梗塞, toll-like receptor, 炎症, トランスレーショナル・リサーチ

はじめに

脳梗塞急性期の治療薬の開発は、エダラボンを除く全ての治験薬が成功に至っておらず、現在、製薬企業の研究開発の重点領域には含まれていない。一方で、慢性期については重点領域には含まれていないものの興味を示す企業もあり、いくつかの臨床試験も進んでいるが、期待されていたサンバイオ社による細胞医薬品の第 IIb 相試験の結果は芳しくなく、細胞療法についても対照群を設定した上での開発の必要性が改めて求められているのが現状である。このような背景のなか米国では、臨床試験失敗の原因の一つとされる閉塞血管および再開通の有無が不明な患者群による不均一性を克服するために、血管内治療の患者を対象にした急性期治療薬の臨床試験が開始されており¹⁾、脳梗塞急性期治療薬の開発状況は大きく変化してきている。本稿では、炎症制御を標的とした脳梗塞治療薬の開発の現状と、我々の炎症制御ペプチドを用いたトランスレーショナル・リサーチへの取り組みから経験した脳梗塞急性期治療薬の創薬における課題と今後の展望について概説する。

炎症制御を目的とした脳梗塞治療薬開発の現状

齧歯類の中大脳動脈閉塞モデルを用いた解析では、虚血 30 分後にはミクログリアが活性化されるとともに好中球が浸潤

し²⁾³⁾、そのピークは 1~4 日後であることが報告されている。その後、T 細胞、B 細胞が浸潤するが、浸潤 T 細胞は MHC class II 拘束性 CD4 陽性細胞優位である⁴⁾。このような炎症過程を制御する代表的な臨床試験として、ミノサイクリンによりミクログリアの活性化を抑制する NeuMAST (Neuroprotection With Minocycline Therapy for Acute Stroke Recovery Trial) 試験や組換え好中球抑制因子 (UK-279, 276) により好中球の浸潤を抑制する ASTIN (Acute Stroke Therapy by Inhibition of Neutrophils) 試験も行われたが、げっ歯類での良好な結果にも関わらず、臨床試験では明らかな効果が認められなかった⁵⁾。また、好中球以外の白血球細胞膜表面に発現している $\alpha 4$ インテグリンに対するヒト化モノクローナル抗体である ナタリズマブによる ACTION (Effect of Natalizumab on Infarct Volume in Acute Ischemic Stroke) 試験でも、臨床試験では明らかな効果が認められなかった⁶⁾。炎症性サイトカインを抑制する試験として齧歯類で良好な結果が報告されていた IL1 受容体拮抗薬についても、脳梗塞発症 5 時間目からの IL1 受容体拮抗薬 (anakinra) を皮下投与する SCIL-STROKE (Phase II) での主要評価項目を満たすことができなかった⁷⁾。一方で、マウスモデルにおいてリンパ球の循環抑制による炎症性血栓形成および血管炎症抑制機序を介した治療効果が報告されたフィンゴリモド⁸⁾については、発症後 4.5 から 6 時間後でのアルテプラザーとフィンゴリモドの併用投与と 3 日間のフィンゴリモド投与にて、マウスモデルと同様の機序での良好な

*Corresponding author: 大阪大学医学部附属病院神経内科・脳卒中科 [〒 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2]

¹⁾ 大阪大学医学部附属病院神経内科・脳卒中科

²⁾ 大阪大学大学院医学系研究科健康発達医学

³⁾ 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学

(Received December 11, 2019; Accepted December 26, 2019; Published online in J-STAGE on March 31, 2020)

doi: 10.5692/clinicalneurology-001401

結果が 46 名の症例の検討で報告されている⁹⁾。このことから、作用機序によっては齧歯類だけの検討でも十分である可能性も残されているが、一般的には齧歯類と臨床試験での結果が乖離しており、その原因として、前述の患者背景の不均一性に加えて、脳梗塞後における炎症および免疫機構が齧歯類とヒトでは大きく異なることも関与している可能性が近年報告されている。

例えば齧歯類とヒトでは、脳梗塞発症前の正常脳においてもミクログリアの表現形が異なっている。齧歯類ではミクログリアは P2RY12 を発現している一方で p22phox や Mac3 は発現しておらず休止型であるが、ヒトでは p22phox, CD68, TLR (class II), MHC class I, MHC class II など炎症に関連する分子を多く発現しており、脳梗塞前からすでに前活性化状態であることが報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。また、脳梗塞患者での浸潤 T 細胞数は多発性硬化症などの炎症性疾患に比較すると非常に少なく¹²⁾、齧歯類の脳梗塞モデルに比較しても非常に少ない⁴⁾¹³⁾。齧歯類の脳梗塞と異なり、浸潤 T 細胞のほとんどは CD8 陽性細胞であり、数少ない CD4 陽性細胞も増殖マーカーを発現していないことから病態への関与の可能性は低いことが報告されている¹²⁾。一方で、ミクログリア・マクロファージはヒト脳梗塞後において強く活性化されることから、ミクログリア・マクロファージをターゲットとした治療が妥当である可能性が示唆されている¹²⁾。このように、齧歯類とヒトでは脳梗塞後の炎症の過程が異なっており、臨床への外挿性という点からは齧歯類だけの検討では十分ではないと考えられる。

実際に updated STAIR (Stroke Therapy Academic Industry Roundtable) では、第 1 段階ではげっ歯類カウサギ、第 2 段階として脳の構造がヒトに近い齧歯類のサル (カニクイザルなど) あるいは猫での検討が推奨されており、また、多施設での検討が提唱されている¹⁴⁾。現実的にはアカデミアベースでは多施設での検討は困難であるため、第 2 段階を非臨床試験受託機関 (非臨床 CRO) にて客観的な評価を実施することが、一つの解決策となり得るのではないかと考えている。本邦では猫での脳梗塞モデルを行う非臨床 CRO はなく、カニクイザルを取り扱う非臨床 CRO は数施設あるが、一部ではモデルの安定化のためにステロイドを使用する施設もあるため、炎症をターゲットにした実験を依頼する際には十分な注意が必要である。一方で、平成 28 年に発出された「脳梗塞の細胞治療に関する開発ガイドライン」(薬生機審発 1122 第 4 号) では、大型動物での実施は必ずしも求められていない。しかし、前述の経緯から齧歯類の結果だけでは説得力に欠けており、カニクイザルでの Proof of Concept の確立は重要であると考えられる。

また、齧歯類の永久閉塞モデルで効果があったとしても、脳のサイズが大きいヒトにおいては非閉塞の場合には薬剤が梗塞部位に到達できず、齧歯類と同じような効果が発揮されないことも報告されている¹⁾。このような背景から PSD95 阻害効果を有するペプチド製剤 NA-1 の臨床試験では、ラットおよびサルでの効果を確認の上で¹⁵⁾、血管内治療において再

開通が期待できる患者を対象にした多施設ランダム化二重盲検偽薬対象試験が行われている (ESCAPE-NA1)¹⁾。本試験では、血管造影検査あるいは CTA で ICA T/L, M1 の閉塞が確認でき、CT から鼠径部穿刺まで 60 分以内、最初の再灌流 (中大脳動脈の血流再開) までは 90 分以内と予想できる血管内治療患者 1,120 人を対象にしている。対象患者数は ESCAPE (Endovascular Treatment for Small Core and Anterior Circulation Proximal Occlusion) 試験の結果をもとに、90 日後の mRS が 0~2 となる患者が偽薬群で 52%, NA-1 併用群で 60.7% となることを想定した上で算出されている。このように、脳梗塞急性期における血管内治療の発展は、急性期治療薬開発の分野にも新たな展開をもたらしている。

RANKL/RANK シグナルと脳梗塞

このような背景のなか、我々は既存のシグナルとは異なる炎症抑制シグナルとして、活性化ミクログリア・マクロファージにおける RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand)/RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) シグナルを標的にした創薬を試みてきた。RANKL/RANK は骨粗鬆症の原因のシグナルとして有名であるが、受容体 RANK やリガンド RANKL はマクロファージや T 細胞、B 細胞にも発現しており、免疫系の制御にも関連している¹⁶⁾。骨髄由来マクロファージでは、RANKL の pre-treatment にて TLR4 および TLR9 による IL6, TNF α の発現が強力に抑制されることが報告されており¹⁷⁾、我々も一過性中大脳動脈閉塞モデルで検討したところ、RANKL および RANK の mRNA は虚血 4 時間後から梗塞部位での発現が増加し、脳梗塞周辺部の活性化マクロファージ・ミクログリアがこれらの分子を発現していた (Fig. 1)¹⁸⁾。生体内では RANKL のデコイレセプターである OPG (osteoprotegerin) が、RANKL による破骨前駆細胞の分化を抑制しているが、この OPG が欠損し、RANKL/RANK シグナルが増強されている OPG ノックアウトマウスの検討では、脳梗塞体積の減少と炎症性サイトカインの発現が抑制されており、脳室内に RANKL を投与した実験でも同様の結果が確認された。また、RANKL の中和抗体投与では脳梗塞体積が増加し、ニューロン・グリア混合初代培養細胞においては RANKL が LPS による IL6 や TNF α の発現抑制を介して神経細胞死を抑制することが明らかとなった。以上の結果から、脳梗塞急性期には活性化ミクログリア・マクロファージから放出された RANKL が RANK に作用し、TLR を介した炎症機転を抑制する方向に作用することが明らかとなった¹⁸⁾ (Fig. 2)。

RANKL ペプチド MHP1 の開発

これらの結果から、リコンビナント RANKL による脳梗塞治療が考えられたが、RANKL の全身投与では骨密度低下を引き起こす可能性があること、また、物質特許では無く用途特許となるために開発の継続が難しいことから、TLR 関連炎症を抑制できる作用を持ちながらも破骨前駆細胞には作用し

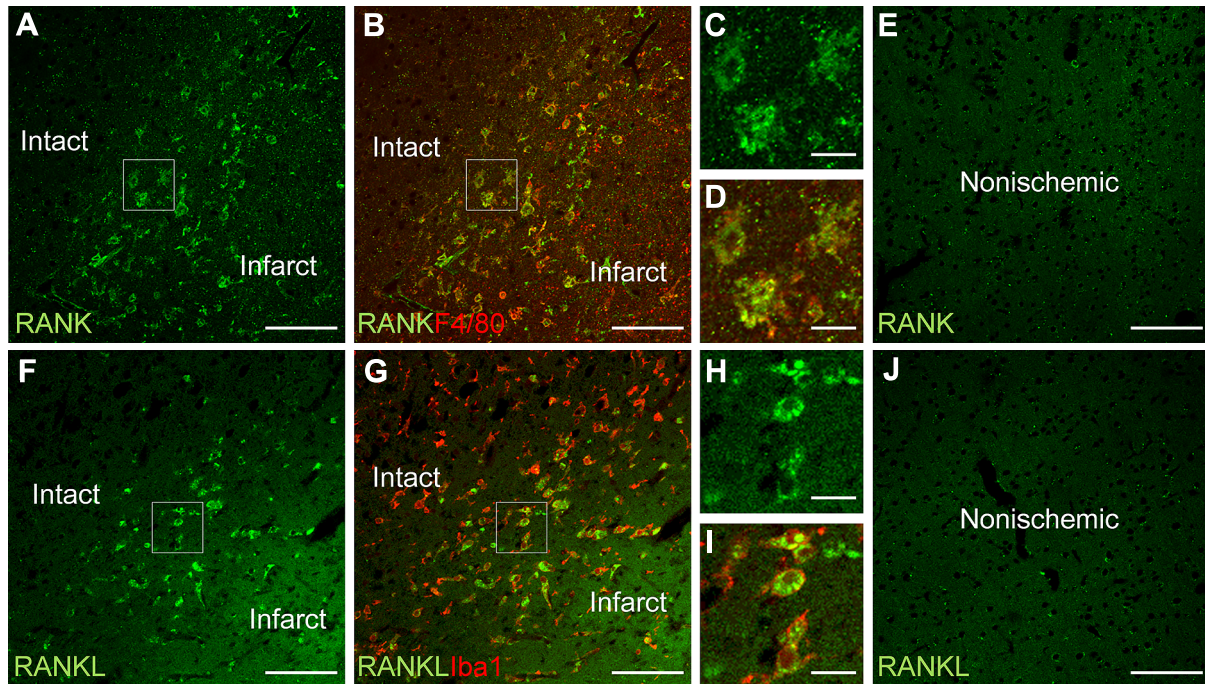


Fig. 1 Expression of RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) or RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) in the ischemic brain at 48 h after middle cerebral artery occlusion in mice.

Although RANK and RANKL were not expressed in intact regions in ischemic cortex (A, F) as well as nonischemic cortex (E, J), these molecules were expressed in F4/80-positive (A–D) or Iba-1-positive (F–I) activated microglia/macrophages (M/M) in the border zone between the intact and infarct region. (cited from our previous paper¹⁸⁾)

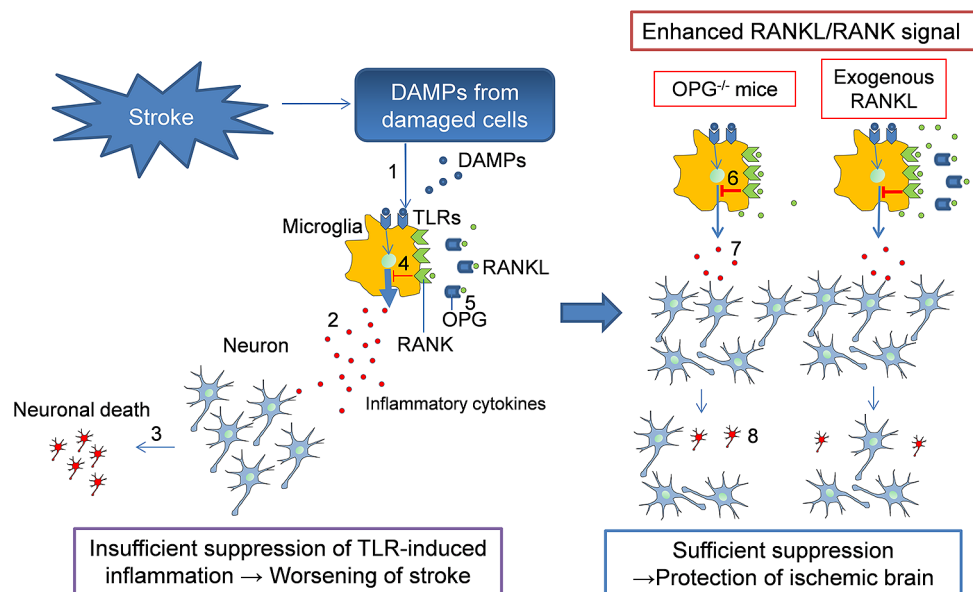


Fig. 2 A schematic diagram of RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B)/RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) signaling in the ischemic stroke.

DAMPs (damage-associated molecular patterns) are released from damaged cells after stroke (1). DAMPs subsequently induced inflammatory cytokines through TLR (toll-like receptors) in the microglia (2). This resulted in neuronal death and expansion of the infarct area (3). Although RANKL/RANK signal suppress the TLR-induced inflammation (4), OPG (osteoprotegerin) blocks this inhibition (5) in WT mice. In *OPG*^{-/-} mice or mice treated with exogenous RANKL, the augmented RANKL/RANK signaling suppress TLR-related inflammatory cytokines (6, 7), resulting in prevention of neuronal death (8).

ない新規のRANKL部分ペプチドの開発を試みてきた。RANKLと受容体のRANKの結合部位には、AA, CD, DE, EFループがあり、前者二つは破骨前駆細胞の分化に関連している。したがって、DE, EFループのみを持つRANKL部分ペプチドを作成しスクリーニングした結果、もっとも抗炎症作用の強いMHP1を見いだした¹⁹⁾。MHP1は、破骨前駆細胞の分化を促進せず、むしろRANKLによる破骨前駆細胞への作用を抑制する作用も併せ持つ。さらに安定性を増すために改変を試み、N末端にアセチル化とC末端側にアミド化を施したMHP1-7(別名MHP1-AcN)を作成した。本ペプチドは易水溶性であり水溶液の状態で4度保管した場合に半年後でも活性が保たれている。1回の静脈注射での半減期はマウスでは47.5分、カンクイザルでは79.4分であり、ペプチドとしては半減期が長い。また、分解産物には抗炎症作用の活性部位が含まれている物もあり、半減期を超えた作用も期待できると考えられた。また、MHP1の抗TLR関連炎症抑制はRANK依存性であるが、抗炎症作用の発現が速効性である点がRANKLと異なっており、RANK以外のシグナルも抗炎症作用に関連している。実際にマウス一過性中大脳動脈閉塞モデルでは、静注にて脳梗塞領域にのみ本ペプチドが浸潤し、さらに持続静注を行うことによって、虚血8時間後までは神経症状が改善することが示された(Fig. 3)。また、tPAによる血栓溶解作用へのMHP1の影響を検討するために、マウス塩化鉄頸動脈血栓閉塞モデル²⁰⁾を用いてtPAとMHP1-AcNの併用投与を行ったところ、tPAによる血栓溶解作用にMHP1が影響を与えることはなかった(Fig. 4)。さらに、虚血6時間後に再灌流直後にtPAを投与し24時間後には脳出血が観察されるモデルにおいては、MHP1-AcNの同時投与により、24時間後の出血が抑制されていた²¹⁾(Fig. 4)。TLR4^{-/-}マウスでは血管壁におけるMMP9の発現が抑制されることによりtPAによる脳出血が抑制されること²²⁾、ミクログリアにおけるTLR4による炎症が内皮細胞を活性化すること²³⁾を考慮すると、MHP1による抗TLR関連炎症抑制を介したミクログリアの活性抑

制が、内皮細胞におけるMMP9の発現を抑制し、tPAによる脳出血を抑制したことが推察された。ただ、中大脳動脈血栓永久閉塞モデルでの検討では治療効果に乏しかったことから、MHP1の対象疾患としては、tPAおよび血管内治療により再灌流が期待できる患者になると想定しており、前述のESCAPE-NA1を参考にした臨床試験を考案している。

トランスレーショナル・リサーチにおける 取り組みと今後の展望

このような基礎研究を進めると同時に、医師主導治験を目指して、知財の確保、MHP1の測定系の確立とバリデーション、薬物動態、PMDAとの相談などを行ってきた。今後のさらなる研究のステップアップのためには製薬企業との連携が最も重要であることを痛感しているが、脳梗塞の治療薬開発は企業の研究開発重点領域に含まれていないことが大きな壁となっている。特に急性期治療薬については、前述のごとくエダラボン以外の治験薬が全て失敗してきた点、臨床試験が複雑で組みにくい点、齧歯類の結果だけでは不十分である点が指摘されてきた。

対応策として、サルモデルでの検討を開始するとともに、前述のESCAPE-NA1に基づいた臨床試験プロトコルを考案して企業に提示し、さらにMHP1のバリューを高めるために企業の重点領域に含まれるテーマにあわせた疾患への応用も検討してきた。その一つの取り組みとして、乾癬での治療効果を明らかにしている。乾癬では、TLR7, TLR8を発現する皮内のマクロファージ、ランゲルハンス細胞からのIL-23, IL-6の刺激により $\gamma\Delta T$ 細胞からのIL-17産生が増加し、さらにIL-17がケラチノサイトに作用してケラチノサイトの過増殖を引き起こすことが症状の悪化を引き起こす。MHP1はTLR7, TLR8関連炎症抑制作用も有しており、1日1回の皮下注にて皮膚および血清中のIL-6, IL-23, IL-17の上昇を抑制し、乾癬の進行が抑制されることを見いだした²⁴⁾。乾癬で

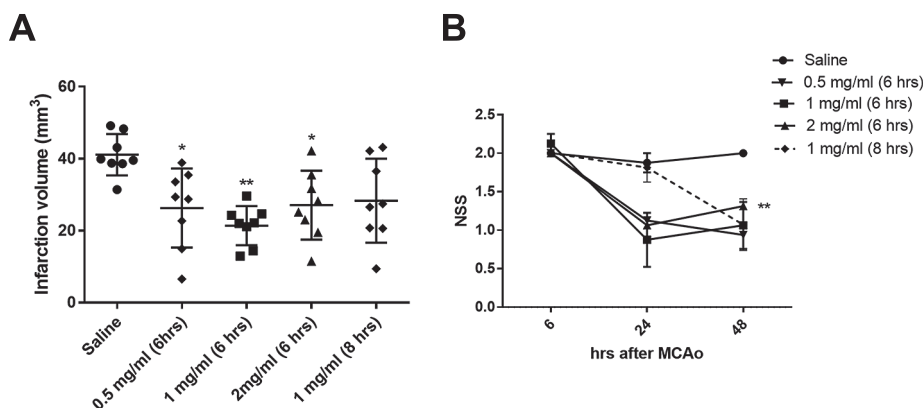


Fig. 3 Therapeutic effects of MHP1-AcN after transient middle cerebral artery occlusion.

MHP1-AcN was intravenously injected with Alzet pump from 6 or 8 h post-ischemia. (A) The infarct volume was lower in the mice treated with MHP1-AcN. (B) Temporal changes of neurological severity score after ischemic stroke. The treated mice showed better outcome. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs saline-treated mice. (cited from our previous paper²¹⁾)

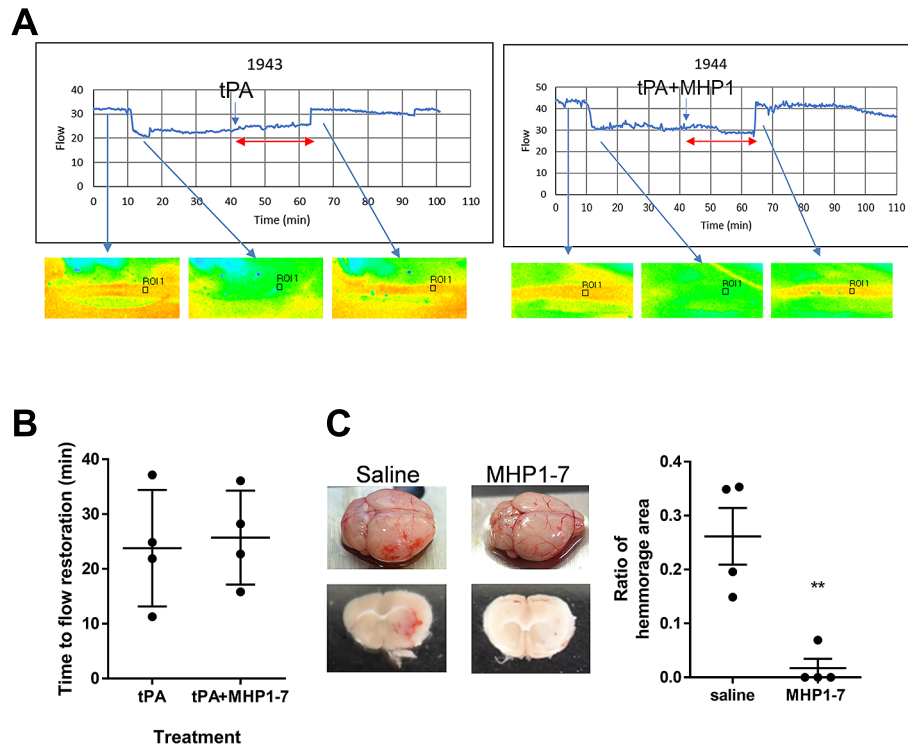


Fig. 4 Influences of MHP1-AcN (MHP1-7) on the effects of tPA-induced thrombolysis and hemorrhage.

(A) Typical flowmetry (upper) and laser speckle images (down) of FeCl₃-induced thrombosis model in common carotid arteries (CCA). A filter paper soaked with FeCl₃ on the CCA caused CCA occlusion. tPA or combination of tPA and MHP1-AcN began 30 min after occlusion recovered blood flow. (B) The duration between starting of tPA and recanalization was measured and quantified. MHP1-AcN did not prolong the time to recanalization. (C) Typical images of tPA-induced hemorrhage and quantitative analysis of hemorrhagic region. MHP1-AcN reduced tPA-induced hemorrhage.

** $P < 0.01$ vs saline. (cited from our previous paper²¹⁾)

の実験結果から、持続静注でなくても効果が得られることや、IL-17への作用も明らかになったことは、今後の脳梗塞研究にも応用することができ、研究の幅を広げるという観点からも、他疾患への応用研究は重要であると考えられる。

また、知財の確保と学会・論文発表、それに合わせた研究費の獲得についてのタイミングは非常に重要である。我々が申請した特許はすでに一部の国では成立しているが、その過程におけるPCT出願、各国移行では高額費用が必要であり、JSTからの支援がなければ厳しいのが現状である。特に、進歩性と新規性、企業との連携が求められるので、学会等での発表のタイミングに注意するとともに既存薬との比較を行い、さらに早期に企業との連携に向けて動き始める必要がある。

前述の非臨床CROでのサルの脳梗塞実験についても留意すべき点がある。通常、実験費用は高額なために大学であれば入札となるが、その一方で、倫理委員会への申請も必要である。施設により手続きは異なるが、CROとの打ち合わせでプロトコルを作成した後に大学で入札し、入札後に倫理委員会に申請を行う手続きだけでも4~5か月ほどかかり、また、時期によっては予定している数の動物の確保が難しいこともあるため、実施に当たっては、綿密な計画作成が必要である。

以上のように脳梗塞急性期の創薬は厳しい状況ではあるが、ADLを著しく損ない、また、患者数も多い脳梗塞を克服するためには研究の継続が必要であると考えている。MHP1の臨床応用に向けては、サルでの効果確認、非臨床安全性試験、GMPレベルでの製剤作成など、解決すべき課題が多く残されている状況ではあるが、大学発新産業創出プログラム(START)にてベンチャーであるMHペプチドも起業しており、今後、積極的な展開を進めていきたいと考えている。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業・組織や団体

○開示すべきCOI状態がある者

森下竜一：企業などが提供する寄付講座：日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、塩野義製薬株式会社、アンジェス株式会社、株式会社グレースラボ、株式会社ファンケル、森下仁丹株式会社、株式会社わかさ生活、ロート製薬株式会社

島村宗尚、中神啓徳：企業などが提供する寄付講座：ファンベップ株式会社、アンジェス株式会社、ダイセル株式会社

○開示すべきCOI状態がない者

佐々木勉、望月秀樹

本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業、組織、団体はいずれもありません。

文 献

- 1) Tymianski M. Combining neuroprotection with endovascular treatment of acute stroke: is there hope? *Stroke* 2017;48:1700-1705.
- 2) Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol* 2010;87:779-789.
- 3) Schilling M, Besselmann M, Leonhard C, et al. Microglial activation precedes and predominates over macrophage infiltration in transient focal cerebral ischemia: a study in green fluorescent protein transgenic bone marrow chimeric mice. *Exp Neurol* 2003;183:25-33.
- 4) Liesz A, Zhou W, Mracskó É, et al. Inhibition of lymphocyte trafficking shields the brain against deleterious neuroinflammation after stroke. *Brain* 2011;134:704-720.
- 5) Krams M, Lees KR, Hacke W, et al. Acute stroke therapy by inhibition of neutrophils (ASTIN): an adaptive dose-response study of UK-279,276 in acute ischemic stroke. *Stroke* 2003;34:2543-2548.
- 6) Elkins J, Veltkamp R, Montaner J, et al. Safety and efficacy of natalizumab in patients with acute ischaemic stroke (ACTION): a randomised, placebo-controlled, double-blind phase 2 trial. *Lancet Neurol* 2017;16:217-226.
- 7) Smith CJ, Hulme S, Vail A, et al. SCIL-STROKE (subcutaneous interleukin-1 receptor antagonist in ischemic stroke): a randomized controlled phase 2 trial. *Stroke* 2018;49:1210-1216.
- 8) Kraft P, Göb E, Schuhmann MK, et al. FTY720 ameliorates acute ischemic stroke in mice by reducing thrombo-inflammation but not by direct neuroprotection. *Stroke* 2013;44:3202-3210.
- 9) Tian DC, Shi K, Zhu Z, et al. Fingolimod enhances the efficacy of delayed alteplase administration in acute ischemic stroke by promoting anterograde reperfusion and retrograde collateral flow. *Ann Neurol* 2018;84:717-728.
- 10) Wimmer I, Zrzavy T, Lassmann H. Neuroinflammatory responses in experimental and human stroke lesions. *J Neuroimmunol* 2018;323:10-18.
- 11) Galatro TF, Holtman IR, Lerario AM, et al. Transcriptomic analysis of purified human cortical microglia reveals age-associated changes. *Nat Neurosci* 2017;20:1162-1171.
- 12) Zrzavy T, Machado-Santos J, Christine S, et al. Dominant role of microglial and macrophage innate immune responses in human ischemic infarcts. *Brain Pathol* 2018;28:791-805.
- 13) Gelderblom M, Leypoldt F, Steinbach K, et al. Temporal and spatial dynamics of cerebral immune cell accumulation in stroke. *Stroke* 2009;40:1849-1857.
- 14) Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke* 2009;40:2244-2250.
- 15) Cook DJ, Teves L, Tymianski M. Treatment of stroke with a PSD-95 inhibitor in the gyrencephalic primate brain. *Nature* 2012;483:213-217.
- 16) Ferrari-Lacraz S, Ferrari S. Do RANKL inhibitors (denosumab) affect inflammation and immunity? *Osteoporos Int* 2010;22:435-446.
- 17) Maruyama K, Takada Y, Ray N, et al. Receptor activator of NF-kappa B ligand and osteoprotegerin regulate proinflammatory cytokine production in mice. *J Immunol* 2006;177:3799-3805.
- 18) Shimamura M, Nakagami H, Osako MK, et al. OPG/RANKL/RANK axis is a critical inflammatory signaling system in ischemic brain in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:8191-8196.
- 19) Kurinami H, Shimamura M, Nakagami H, et al. A novel therapeutic peptide as a partial agonist of RANKL in ischemic stroke. *Sci Rep* 2016;6:38062.
- 20) Kim YD, Nam HS, Kim SH, et al. Time-dependent thrombus resolution after tissue-type plasminogen activator in patients with stroke and mice. *Stroke* 2015;46:1877-1882.
- 21) Shimamura M, Nakagami H, Shimizu H, et al. Development of a novel RANKL-based peptide, microglial healing peptide1-AcN (MHP1-AcN), for treatment of ischemic stroke. *Sci Rep* 2018;8:17770.
- 22) García-Culebras A, Palma-Tortosa S, Moraga A, et al. Toll-like receptor 4 mediates hemorrhagic transformation after delayed tissue plasminogen activator administration in in situ thromboembolic stroke. *Stroke* 2017;48:1695-1699.
- 23) Zhou H, Lapointe BM, Clark SR, et al. A requirement for microglial TLR4 in leukocyte recruitment into brain in response to lipopolysaccharide. *J Immunol* 2006;177:8103-8110.
- 24) Ju N, Shimamura M, Hayashi H, et al. Preventative effects of the partial RANKL peptide MHP1-AcN in a mouse model of imiquimod-induced psoriasis. *Sci Rep* 2019;9:15434.

Abstract**Current status and perspectives in the development of therapeutic agents targeting post-ischemic inflammation in the acute stage of stroke**

Munehisa Shimamura, M.D., Ph.D.^{1,2)}, Hironori Nakagami, M.D., Ph.D.²⁾,
Tsutomu Sasaki, M.D., Ph.D.¹⁾, Ryuichi Morishita, M.D., Ph.D.³⁾ and Hideki Mochizuki, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurology, Osaka University

²⁾Department of Health Development and Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University

³⁾Department of Clinical Gene Therapy, Graduate School of Medicine, Osaka University

We have developed a partial peptide of RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) that suppresses TLR (toll-like receptor)-related inflammation via RANKL/RANK (receptor activator of nuclear factor- κ B) signals in the acute phase of ischemic stroke. This peptide has been found to be a therapeutic agent for ischemic stroke that can be used in combination with tPA in a mouse model. Based on the findings, we are working on translational research to aim for clinical application of this peptide through collaboration with pharmacy companies. However, the problem is that the need for development of medication in the acute stage of ischemic stroke is currently low in pharmaceutical companies due to the failure of many investigational drugs in the past. To overcome the problem, we are examining the effects of this peptide in other diseases included in the company's priority areas and explaining the environmental changes in the clinical trials due to the development of endovascular treatment in the acute stage of ischemic stroke.

(Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol) 2020;60:253-259)

Key words: ischemic stroke, toll-like receptor, inflammation, translational research
