

磁性粒子を用いた炎症モデルマウスの免疫細胞動態の描出 [大会長賞記録]

森 勇樹¹, 朱 大松^{1,2}, 駒井 豊³,
Punniyakoti Thanikachalam Veeraveedu³, 福永雅喜¹, 吉岡芳親¹

¹大阪大学免疫学フロンティア研究センター生体機能イメージング ³同1細胞1分子イメージング
²Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences

目 的

皮下の免疫細胞は、リンパ組織内へ移動し免疫情報の受け渡しを行っていると考えられるが、体全体としての免疫細胞の動きやその動きに影響を及ぼす因子については不明点が多い。免疫細胞の体内動態を明確にするため、非侵襲かつ経時的に評価可能なMRIの応用が期待される。リンパ節内部の構造や細胞の動きを追跡するために超磁性酸化鉄ナノ粒子(superparamagnetic iron oxide particle : SPIO)などが用いられる^{1)~3)}。我々は、粒子径の最適化を行う検討の中で、ミクロンサイズの磁性酸化鉄粒子(micron-sized particle of iron oxide : MPIO)をマウス足底皮下に投与すると、粒子自体が直接リンパ管を通過できず、その代わりに末梢皮下に存在する貪食細胞がその粒子を捕食し、所属リンパ節に到達することで、簡便に生体内の免疫細胞をラベルし、MRIで描出、追跡可能であることを過去に報告した⁴⁾。これら末梢に存在する貪食細胞は、炎症反応によって体内動態が変わることが考えられ、病態変化に重要な役割を果たしていることが考えられる。本研究では、リポ多糖(LPS)により誘発された炎症モデルマウスにおける貪食細胞の移動をMRIで非侵襲的に視覚化し、炎症反応の有無による細

胞動態の違いを経時的に追跡することを目的とした。

方 法

膝窩リンパ節のMRI信号強度変化を指標に、LPS投与群と非投与群における所属リンパ節へのMPIO到達時間と分布を追跡した。MRI測定後にリンパ節を摘出、染色を行い、MRIと比較した。C57BL6マウスを対象に、LPS投与群には0.2 $\mu\text{g/gBW}$ のLPSを足底皮下に投与した。LPS投与から3日後、同部位に平均粒径1 μm のMPIO分散液(20 mg iron/mL)を10 μL 投与した。LPS非投与群はMPIO投与のみを行った。測定装置は局所分解能向上を図るため、11.7T高磁場MRI装置(Bruker AVANCE 500WB)および内径12 mmの自作表面コイルを用いた。MPIO投与後24~60時間にかけて、膝窩リンパ節のFLASH画像を撮像した。

結果と考察

リンパ節の信号変化は、LPS非投与群ではMPIO投与後48~60時間を要した(Fig. 1A)。それに対しLPS投与群では、MPIO投与後24

キーワード high-field magnetic resonance imaging (MRI), microimaging, lymphography, micron-sized particle of iron oxide (MPIO), inflammation

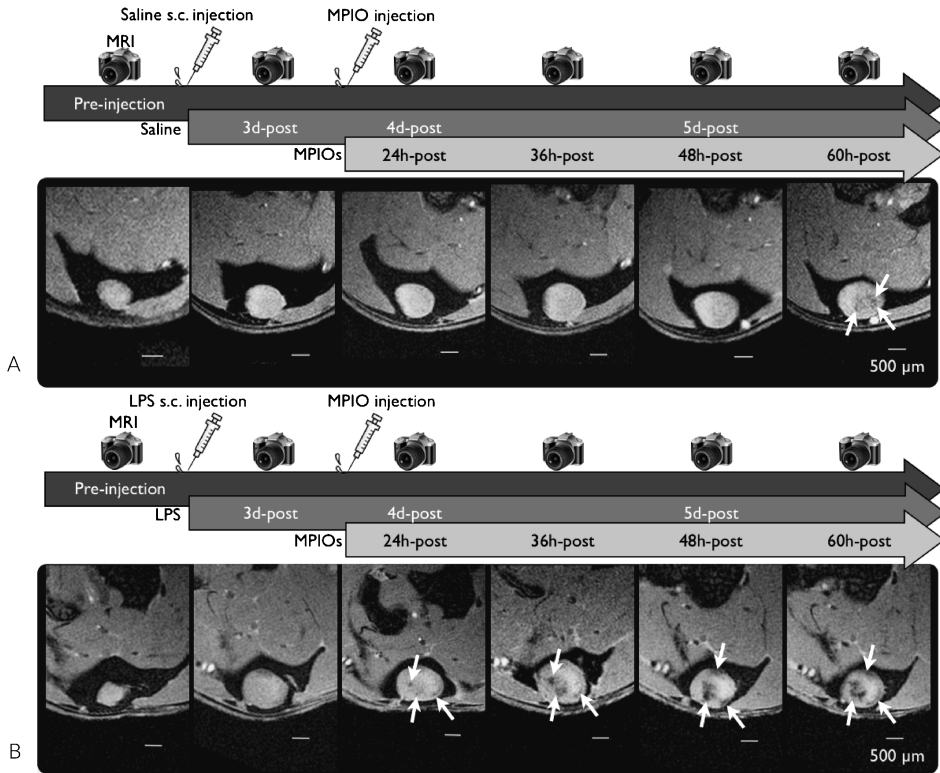


Fig. 1. The time-dependent MR signal changes in the popliteal lymph node after administration of MPIOs. Micron-sized particles are considered physically incapable of entering the lymphatic channels because of the size limit of the interstitium and the initial lymphatic wall, so identification of these particles in the regional lymph nodes requires the active process of phagocytes. In control group, particles produced the dot-like hypointensity in the inner portion of the lymph node at 60 hours post administration (A). LPS-induced inflammation accelerates the delivery of particles toward regional lymph node (B), and this phenomenon of spatiotemporal MR signal changes might have contributed to the activity of immune cells at the inflammatory conditions.

時間時の撮像においてリンパ節辺縁部から傍皮質にかけた信号低下が観察され、その後リンパ節の中央に向かって広範囲な信号低下がみられた (Fig. 1B)。MRI の信号低下部位と組織像による粒子の分散は一致していた。皮下に注入されたミクロンサイズの粒子は末梢リンパ管壁を物理的に透過できない^{5)~7)}。よって MRI で観察できる MPIO の移動は、免疫細胞の移動と考えることができる⁴⁾。高分解能 MRI と

MPIO の併用により、炎症局所から所属リンパ節への食細胞の到達が、炎症反応の有無に応じて異なることを生体で描出することに成功した。本法は炎症時の免疫細胞動態にかかわる因子の解析に有用な手段であると考えられる。

文 献

- 1) Elias A, Tsourkas A: Imaging circulating cells

- and lymphoid tissues with iron oxide nanoparticles. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009 ; 720-726
- 2) Hamm B, Taupitz M, Hussmann P, Wagner S, Wolf KJ : MR lymphography with iron oxide particles : dose-response studies and pulse sequence optimization in rabbits. *AJR Am J Roentgenol* 1992 ; 158 : 183-190
 - 3) Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Lee AS, Josephson L, Brady TJ : Ultrasmall superparamagnetic iron oxide : an intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging. *Radiology* 1990 ; 175 : 494-498
 - 4) Mori Y, Umeda M, Fukunaga M, Ogasawara K, Yoshioka Y : MR contrast in mouse lymph nodes with subcutaneous administration of iron oxide particles : size dependency. *Magn Reson Med Sci* 2011 ; 10 : 219-227
 - 5) Ikomi F, Hanna GK, Schmid-Schönbein GW : Mechanism of colloidal particle uptake into the lymphatic system : basic study with percutaneous lymphography. *Radiology* 1995 ; 196 : 107-113
 - 6) Swartz MA : The physiology of the lymphatic system. *Adv Drug Deliv Rev* 1995 ; 50 : 3-20
 - 7) Swartz MA, Berk DA, Jain RK : Transport in lymphatic capillaries : I. macroscopic measurements using residence time distribution theory. *Am J Physiol* 1996 ; 270 : H324-329

***In Vivo* MR Imaging of Immune Cell Behavior and Inflammation in Mice using Iron Oxide Particles [President Award Proceedings]**

Yuki MORI¹, Zhu DASONG^{1,2}, Yutaka KOMAI³,
Punniyakoti Thanikachalam Veeraveedu³, Masaki FUKUNAGA¹, Yoshichika YOSHIOKA¹

¹*Biofunctional Imaging and* ³*Single Molecule Imaging, World Premier International Immunology Frontier Research Center (WPI IFReC), Osaka University*

1-3 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

²*Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen, China*

Interstitial immune cells, such as macrophage and dendritic cells, may migrate toward lymphatic tissues to deliver and manage immune information. However, little is known of the mechanisms that underlie their migration and action over the entire body. Iron oxide particles are commonly used as contrast agents in magnetic resonance (MR) imaging. The particles disturb the homogeneous magnetic field and generate dark spots on MR imaging that reveal where they are harbored by phagocytic immune cells. Contrast-enhanced MR lymphography with iron oxide particles is in the spotlight for visualizing lymphatic structures and the migration of immune cells *in vivo*. We previously demonstrated the potential of micron-sized particles of iron oxide (MPIOs) to reveal the migration of phagocytes with MR imaging noninvasively, without *ex vivo* cell labeling. Within an inflammatory condition, immune cells would behave differently from in a normal environment. In our current study, we evaluated the efficacy of cellular tracking in subcutaneous tissue with and without inflammation. In control mice, we observed areas of hypointensity at 48 or 60 hours after administration of MPIOs. In contrast, lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation accelerated the delivery of particles in the popliteal lymph node and showed different spatiotemporal distribution of areas of hypointensity, and their differing contrasts reflect the cell activity in the inflammatory environment. Heretofore individual differences in immune cell behavior in the presence of inflammation may have prevented investigation *in vivo*, high-resolution MR lymphography allows the noninvasive assessment of immune cell behavior and pathological conditions related to inflammation.