

磁性粒子を用いた末梢組織マクロファージの脳内浸潤の 経時的観察 [大会長賞記録]

森 勇樹^{1,2}, 陳 挺¹, 程 振宇¹, 大野 工司³,
吉田 慎一⁴, 多胡 善幸⁴, 福永 雅喜^{1,2}, 吉岡 芳親^{1,2}

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

²情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター

³京都大学化学研究所材料機能化学研究系

⁴株式会社カネカフロンティアバイオ・メディカル研究所

目 的

中枢神経系は免疫特権の器官と長く考えられてきたが、近年、多発性硬化症や脳卒中など中枢神経系疾患においても免疫細胞の関与が示唆されている^{1)~3)}。これら免疫系の作用機序を理解するためには、免疫反応や免疫細胞動態の非侵襲的可視化が必要である。我々は磁性酸化鉄粒子 (SPIO) を用い、正常・病態モデル動物における脳内細胞動態の非侵襲的観察の可能性を報告した (第 40 回日本磁気共鳴医学会大会 P-3-239)。本研究では、末梢組織マクロファージの脳内浸潤の有無を確認することを目的に、免疫細胞選択的障害枯渇法および貪食系細胞に認識されにくい新規 SPIO を用い、MRI および組織切片における SPIO 分布特性を経時的に観察した。

方 法

正常および全身性炎症モデルマウスを作成し、(1)市販の SPIO (Resovist) 尾静脈投与 (SPIO 群)、(2)クロドロン酸内包リポソーム (組織マクロファージ選択的障害枯渇剤) 投与

から 3 日後に Resovist 尾静脈投与 (Clodronate 群)、(3)貪食系細胞に認識されにくい特性をもつ濃厚ポリマーブラシ付与 SPIO (第 40 回日本磁気共鳴医学会大会 P-2-130)⁴⁾を尾静脈投与したもの (P-SPIO 群) の 3 群々の造影効果、SPIO 分布を経時的に観察、比較した。MRI システムは Bruker 社製 11.7T, m2m 社製内径 15 mm ポリウムコイルを用い、T₂* 強調 2D-FLASH を撮像した。各群の脳は免疫組織化学染色を行った。

結果と考察

SPIO 群では病態マウスのみならず、正常マウスの脳においても、SPIO 投与 24~48 時間後に脳内全域に多数のドット状の信号変化が観察された (Fig. 1)。それに対し Clodronate 群では、SPIO 投与にもかかわらず信号変化は少量に留まった (Fig. 2)。Clodronate は末梢組織マクロファージを選択的に障害、枯渇させ、脳内に常在している細胞には影響を与えないとされている。よって SPIO 尾静脈投与で起こる脳内の信号変化の多くは末梢組織マクロファージの浸潤によるものであることが示唆された。

キーワード high-field magnetic resonance imaging (MRI), micro-imaging, cell tracking, superparamagnetic particle of iron oxide (SPIO), brain

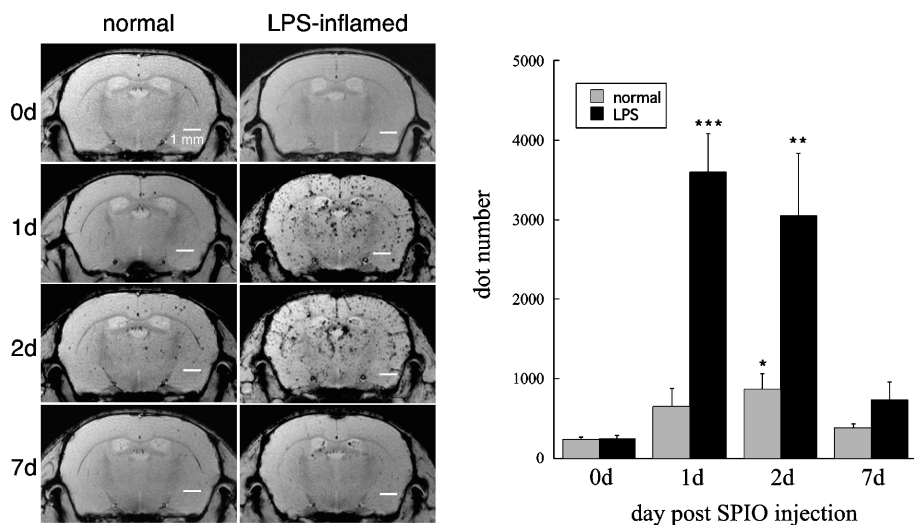


Fig. 1. Simple intravenous administration of SPIO. SPIO was injected into the tail vein at 3 days after LPS/saline administrations. Sequential MRI reveals several tiny non-specific black dots induced by SPIO even in the normal brain (arrows) as well as inflamed brain at 24 and 48 hours after SPIO injection. These spots were disappeared by 1 week.

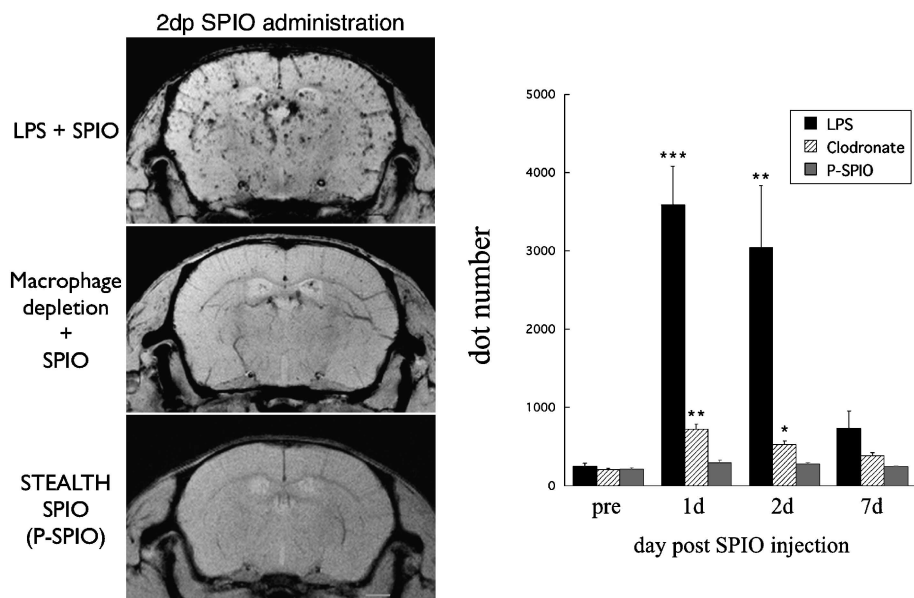


Fig. 2. Experiments of specific depletion of macrophage and STEALTH SPIO. In spite of administration of SPIO, macrophage depletion markedly reduce the black dots in the brain. In addition, STEALTH particles (P-SPIO) do not label the peripheral cells in turn any black dots were not found in the brain. These phenomena indicate that peripheral macrophages are main transporter of SPIO and the those SPIO-labeled peripheral macrophages can penetrate into the brain over the intact blood-brain barrier.

P-SPIO 群では、正常、病態マウスともに信号変化はほとんど観察されなかった (Fig. 2). 上記結果は組織染色結果と一致していた. SPIO を静脈内投与すると、血中の貪食細胞が粒子を捕食し、その細胞の動態を MRI で観察できる. 脳においては、血液脳関門の存在により、粒子が直接脳実質内に入り込むことができない^{5),6)}. しかしながら、血液中で粒子を貪食した細胞が脳内に侵入することは可能だと考えられる. 今回の結果から、病態時だけでなく正常時においても末梢貪食細胞の脳内浸潤があることが複数の方法で確認された. またその多くは末梢組織マクロファージであることが示唆された. MRI と SPIO を用いることにより、末梢組織マクロファージの脳内細胞動態を生きのまま経時的に追跡できることが示された. この方法を応用することで、神経と免疫系のクロストークを視覚的に評価することが期待される.

文 献

- 1) Arima Y, Harada M, Kamimura D, et al. : Regional neural activation defines a gateway for autoreactive T cells to cross the blood-brain barrier. *Cell* 2012 ; 148 : 447-457
- 2) Mori, Y, Murakami M, Arima Y, Zhu D, Terayama Y, Komai Y, Nakatsuji Y, Kamimura D, Yoshioka Y : Early pathological alterations of lower lumbar cords detected by ultra high-field MRI in a mouse multiple sclerosis model. *Int Immunol* 2013 ; epub ahead of print, doi : 10.1093/intimm/dxt044
- 3) Shichita T, Hasegawa E, Kimura A, et al. : Peroxiredoxin family proteins are key initiators of post-ischemic inflammation in the brain. *Nat Med* 2012 ; 18 : 911-917
- 4) Ohno K, Akashi T, Tsujii Y, Yamamoto M, Tabata Y : Blood clearance and biodistribution of polymer brush-aforded silica particles prepared by surface-initiated living radical polymerization. *Biomacromolecules* 2012 ; 13 : 927-936
- 5) Wilson EH, Weninger W, Hunter CA : Trafficking of immune cells in the central nervous system. *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 1368-1379
- 6) Owens T, Bechmann I, Engelhardt B : Perivascular spaces and the two steps to neuroinflammation. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008 ; 67 : 1113-1121

Sequential Monitoring of Peripheral Macrophage Recruitment and Migration in the Mouse Brain with MR Imaging and Superparamagnetic Particles of Iron Oxide [Presidential Award Proceedings]

Yuki MORI^{1,2}, Ting CHEN¹, Zhenyu CHENG¹,
Koji OHNO³, Shinichi YOSHIDA⁴, Yoshiyuki TAGO⁴,
Masaki FUKUNAGA^{1,2}, Yoshichika YOSHIOKA^{1,2}

¹*Biofunctional Imaging, WPI Immunology Frontier Research Center (IFReC), Osaka University
3-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871*

²*Center for Information and Neural Networks (CiNet), National Institute of Information and Communications
Technology (NICT) and Osaka University*

³*Institute for Chemical Research, Kyoto University*

⁴*Frontier Biochemical and Medical Research Laboratories, Kaneka Corporation*

For more than a century, scientists have believed that the blood-brain barrier (BBB) is a sacred and impermeable wall that maintains the homeostasis of the central nervous system (CNS) and protects the brain from harmful substances. However, recent studies have demonstrated immune cells, including macrophages and microglia, in the CNS that play an important role in such neuroinflammatory diseases as multiple sclerosis and ischemic injury. The combination of magnetic resonance (MR) imaging with nanoparticles has the potential to allow visualization of the dynamics of cells in the mouse brain. In this study, we focused on peripheral macrophages and tested macrophage depletion methods to know whether macrophages are the main transporters of superparamagnetic particles of iron oxide (SPIO) into the brain. We observed several black dots even in the healthy brain as well as lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory condition at 24 and 48 hours after SPIO administration. With selective macrophage depletion and histological analysis, we confirmed these black dots were SPIO-labeled endogenous peripheral macrophages recruited from the blood. The recruitment of peripheral macrophages into the CNS can be monitored by MR imaging with intravenous SPIO injection in normal and abnormal conditions. Our technique could contribute to the understanding of neuro-immune crosstalk and reveal the mechanisms of immune cell dynamics in the normal CNS as well as in injuries, inflammation, and diseases.