

多発性硬化症モデルマウス下位腰髄における 急性期病態変化の評価 [国際飛躍賞記録]

森 勇樹^{1,2}, 村上正晃^{3,4}, 有馬康伸^{3,4}, 朱 大松¹,
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大阪大学大学院生命機能研究科/医学系研究科発生免疫学

⁴大阪大学免疫学フロンティア研究センター発生免疫学

背景と目的

中枢神経系の難病である多発性硬化症の診断に MRI が広く用いられ^{1,2)}、動物モデルを用いた研究では、病態形成機序の解明にも MRI は寄与すると期待されているが、急性期の病態変化と一致する MRI 所見についてその関連性は未だ明確になっていない³⁾。病態の発生、進行には、T 細胞など免疫系が深く関与していることが知られている⁴⁾。最近、我々は多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) マウスを用いた研究から、病原性の T 細胞が中枢神経系に侵入するゲートが第 5 腰椎の背側血管に存在することを発見した⁵⁾。ゲートが存在する下位腰髄付近の変化を非侵襲的かつ経時的に観察することで、急性期病態と一致する変化をとらえることが期待できる。また、病態の早期検出マーカーの発見や進行機序の理解に重要な知見をもたらす可能性がある。

本研究では、小動物用 11.7T 高磁場 MRI 装置および自作の高感度プローブコイルを用い、EAE マウス下位腰髄における急性期病態を検出することを目的に、脊髄および周囲血管の形態的变化を発症前から急性期の増悪、寛解まで

経時的に追跡した。

方法

動物モデルは、EAE を発症したマウスから病原性 T 細胞を単離し、正常マウス血管内に移入する passive transfer モデル^{5),6)} を使用し、体重変化および四肢麻痺の程度変化を毎日記録した。MRI は Bruker 社製 11.7T MRI 装置と脊髄測定に最適な表面 RF コイル (直径 12 mm) を自作し、病態変化に合わせて T 細胞移入後 5~14 日目に測定した。測定関心領域は、第 3 から第 6 腰椎レベル (L3~L6) とし、脊髄および周囲血管の形態的变化を T₂ 強調画像、拡散強調画像および非造影血管画像 (MRA) を撮像した。

結果と考察

T₂ 強調画像による形態変化の観察では、特に L4, L5 に症状の進行、寛解と一致した有意な腫脹が観察された (Fig. 1)。信号強度も同様の推移を示した。脊髄では症状と一致して、一過性の浮腫様の変化が起こっていることが考えられる。拡散強調画像では、脊髄背側の白質

キーワード high-field Magnetic Resonance Imaging (MRI), micro-imaging, EAE model mouse, spinal cord

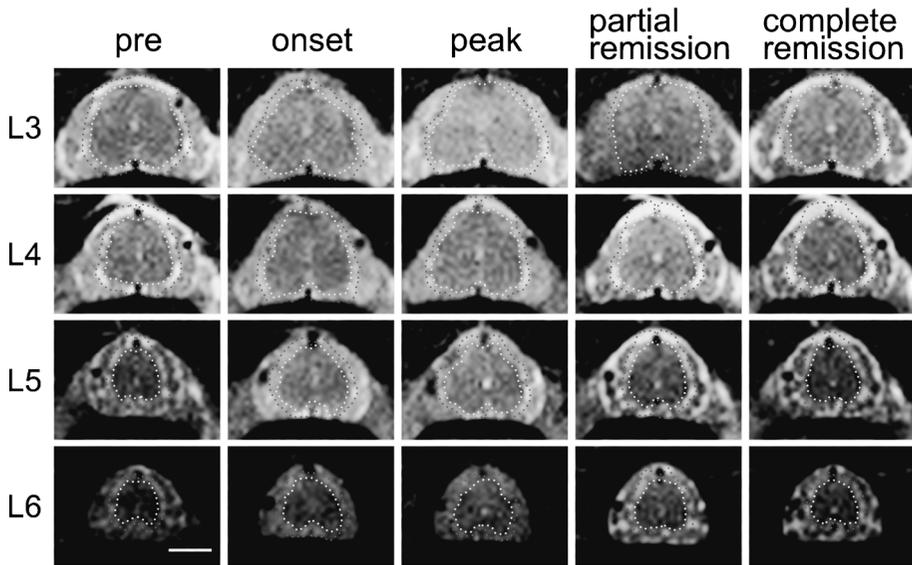


Fig. 1. MRI images of lesions in the spinal cord (L3-L6) at different stages of EAE. The images show T₂WI signals. The spinal bodies at each stage are shown inside the dotted polygons. Scale bar equals 500 μ m. The top of each image shows the dorsal side.

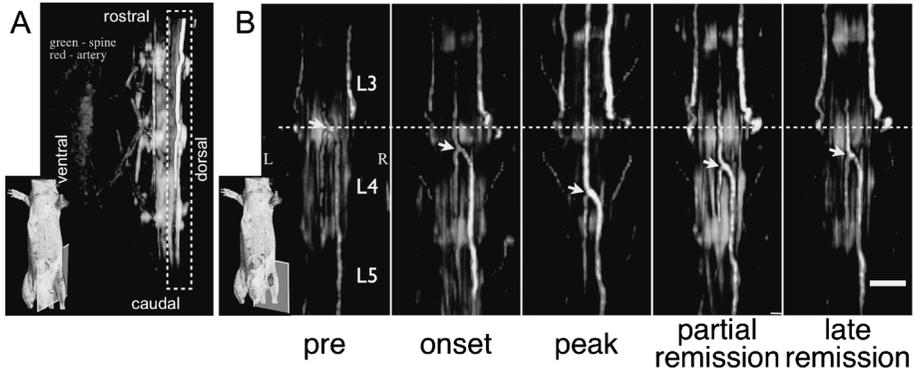


Fig. 2. Angiographic images of the dorsal spinal artery in an EAE mouse. (A) The sagittal plane of the vasculature in the lower lumbar cord. The region of interest is defined around the dorsal blood vessels by the dotted line. (B) Temporal alterations of the dorsal spinal artery in the coronal plane. The level of the spinal cord was registered using anatomical signals of the interspinal disks. The position of bifurcation in the spinal vessels is shown with the arrows. Dislocation of the bifurcation from the baseline (dotted line) was seen, and the lengths of the dislocation were correlated with the severity of the clinical scores. Scale bar equals 1 mm.

に症状と一致する変化を検出した。この変化は病態初期に L5, L4 で検出され、次第に上位に広がる傾向が見られた。MRA でとらえた背側の脊髄動脈に注目すると、症状の進行および寛解と一致する長軸方向への形態変化が観察された (Fig. 2)。さらにピーク時には血管の一時的な閉塞と怒張を観察した。このような血液動態の変化は、生体で経時的に追跡出来る MRI を用いて初めてとらえられるものである。

T 細胞の浸潤がみられるマウスの下位腰髄とその周囲血管は非常に小さい。そのため、従来、その形態的变化を非侵襲的にとらえることは難しく、十分な知見が得られていなかった。高磁場 MRI 装置と最適化したプローブコイルによって高感度化を図ることで、100 μm 厚程度の下位腰髄白質や血管の微細な変化を経時的に追跡し、症状と一致した形態的变化をとらえることが出来たものと考えられる。

結 論

EAE マウスの下位腰髄において、急性期病態変化と一致した形態変化を *in vivo* MRI で検出することに成功した。病態変化に血管変性が関与していることを視覚的に示した最初のデータである。またマウス下位腰髄を観察するためには、微細な構造を描出する高感度技術が必須であることが示された。本研究で得られた結果は、EAE の発症、増悪および寛解機序の理解・解明に新たな視点を与えるものである。

本研究成果は、2014 年 1 月発行の *International Immunology* 誌に掲載された。(Mori Y, et al. Early pathological alterations of lower lumbar cords detected by ultrahigh-field MRI in a mouse multiple sclerosis model. *Int Immunol* 2014 ; 26 : 93–101.)

文 献

- 1) Ceccarelli A, Bakshi R, Neema M : MRI in multiple sclerosis : a review of the current literature. *Curr Opin Neurol* 2012 ; 25 : 402–409
- 2) Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. : Diagnostic criteria for multiple sclerosis : 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011 ; 69 : 292–302
- 3) Nijeholt GJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, et al. : Brain and spinal cord abnormalities in multiple sclerosis. Correlation between MRI parameters, clinical subtypes and symptoms. *Brain* 1998 ; 121 : 687–697
- 4) International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Wellcome Trust Case Control Consortium 2 : Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011 ; 476 : 214–219
- 5) 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
- 6) Ogura H, Murakami M, Okuyama Y, et al. : Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction. *Immunity* 2008 ; 29 : 628–636

Temporal Changes in Lower-Lumbar Spinal Cord in EAE Mouse
[Proceedings of the 2013 Young Investigator Award]

Yuki MORI^{1,2}, Masaaki MURAKAMI^{3,4}, Yasunobu ARIMA^{3,4},
Dasong ZHU¹, 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*Developmental Immunology, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University*

⁴*Developmental Immunology, WPI Immunology Frontier Research Center (IFReC), Osaka University*

Magnetic resonance imaging (MRI) is widely employed for the diagnosis of multiple sclerosis (MS). We recently showed autoreactive T cells accumulate in the fifth lumbar cord (L5) to pass the blood-brain barrier and cause inflammation in the central nervous system of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice, an MS model. Non-invasive monitoring of the spinal cord before/after neuro-inflammation may lead to an understanding of the injury and repair of CNS. MRI of the lower-level spinal cord of mice is challenging because its structure is too thin to visualize *in vivo*. This study explored the temporal and spatial profiles monitored by T₂-weighted, diffusion-weighted MRI and MR angiography (MRA) at the lumbar code of EAE mice. The lumbar spinal cord swelled gradually up to 2–3 times larger than in a precritical period. This alteration in size was correlated with clinical score and inversely correlated with animal weight loss. In addition, DWI shows signal reduction in dorsal white matter of the lower level of lumbar code in the early phase of EAE. This increasing of diffusion reverted to almost normal in the remission phase. Moreover, MRA of dorsal spinal artery showed branch positions of the blood vessels in the lower lumbar cords were significantly altered. These results suggest that inflammation-mediated alterations in the lower lumbar cord change the homeostasis of the spinal cord and demonstrate that ultrahigh-field MRI enables the detection of previously invisible pathological alterations in EAE.