

マウス生体脳内における 4 次元免疫細胞追跡の検討について [大会長賞記録]

森 勇樹^{1,2}, Daniela Martinez de la Mora^{1,2}, 田下徳起³, 小橋昌司³,
黄田育宏², 畑 豊⁴, 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兵庫県立大学大学院工学研究科 ⁴同シミュレーション学研究科

背景と目的

近年、脳病変の進行や治癒に免疫細胞が関与していることを示す報告が散見される。病態の進行に応じた免疫細胞動態を把握することは免疫系の関与を理解する上で重要である。しかしながら、生体内環境を維持したまま、非侵襲的に脳内の免疫細胞動態を細胞レベルで検出・追跡することは難しく、病態形成や治癒に免疫細胞がどのように作用しているかはいまだよくわかっていない。イメージング技術の改良に伴い、生体内部における細胞追跡が実現しつつあるが、非侵襲的に生体内を観察するには、MRI による細胞追跡を実現させることが理想的である。我々は、これまでに小動物用 11.7T MRI 装置と超常磁性酸化鉄ナノ粒子 (SPIO) を用いることで、生体内の免疫細胞動態観察が可能であることを示し、タイムラプス動画 (Time-lapse MRI) を用いた解析によって、生体内のダイナミックな細胞動態が観察可能であることを報告した^{1),2)}。本研究では、時空間分解能の向上をはかり、生体マウス脳内における 1 細胞レベルの免疫細胞動態を 3 次元空間+時間軸 (4 次元追跡) で視覚化し、さらに移動スピードや動態パターンを定量評価することの可能性について検討を行った。

方 法

片側半球の脳虚血障害モデル動物における免疫細胞動態の違いについて正常側と障害側 (脳梗塞部位) で比較検討を行った。雄性 C57BL/6 マウスを側頭骨より開頭、中大脳動脈遠位枝を 10-0 ナイロン糸で結紮し、永久脳虚血モデルとした³⁾。生体内に内在する貪食細胞 (主にマクロファージ) を標識するために、マウス手術 6 時間前に SPIO を静脈内投与した。SPIO 投与から 24 時間後より T₂*強調 3D-FLASH (TR = 42 ms, TE = 4.6 ms, 空間分解能 = 59 μm \times 59 μm \times 100 μm) を連続的に撮像した。1 フレームの撮像に要する時間は 6 分で、100 フレーム (10 時間) の撮像を行い、高精細 3D/4D 画像解析ソフトウェア IMARIS で、10 時間分の 4 次元動画を作成した。得られたデータセットから、正常半球皮質と、T₂強調像で高信号域に描出された脳梗塞巣領域における標識細胞の移動パターンの違いを比較した。MRI システムは Bruker 社製 11.7T、高島製作所製内径 15 mm ボリュームコイルを用いた。

結果と考察

従来までの報告では、1 スライス内の細胞動態解析にとどまっていたが¹⁾、今回の検討により全脳を 4 次元解析することが可能になり、また時間分解能の改善により、詳細かつ正確な

キーワード high-field magnetic resonance imaging (MRI), micro-imaging, cellular tracing, macrophage, mouse brain

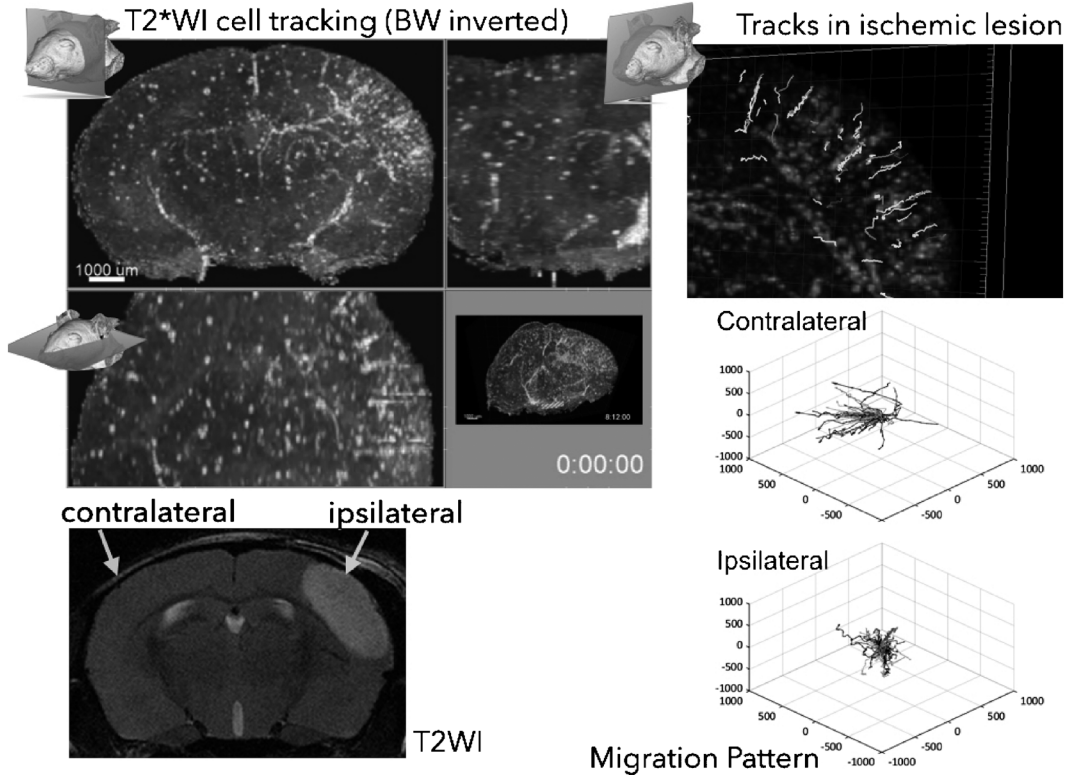


Fig. 1. MR images of the 4D distribution of SPIO-labeled monocytes/macrophages in the mouse brain. Image intensity was inverted so that white dots represent SPIO-labeled monocytes/macrophages (Left top MPR images). The quantification analysis for trajectory of the cells in the ischemic lesion (right top image) showed losing straightness while most cells on the contralateral side migrated along the venous streams so that they moved straight.

細胞動態解析が実現した。正常半球に比べ、虚血障害領域内における免疫細胞は、細胞数が増加していたことに加えて、細胞移動スピードの低下および移動方向性の違いが観察された。正常半球ではMRIで検出できる免疫細胞は主に静脈血管走行に沿って移動していることが考えられた。一方で、脳梗塞巣内に存在していた免疫細胞は、正常時とは異なった経路を経て障害領域に移動する可能性が考えられた (Fig. 1)。

結 論

脳組織全体を対象とした細胞動態の視覚化によって、生体内における細胞の集積や障害に対する免疫反応の影響をより詳細に評価すること

が可能になり、MRIを使った4次元細胞動態追跡技術は、病態形成機序、治療における免疫細胞の作用機序を解明する新しい情報を提供することが期待できる。同時に、正常時の免疫細胞の役割を理解することにもつながる新しい技術である。

文 献

- 1) Mori Y, Chen T, Yoshida S, Kobashi S, Hata Y, Yoshioka Y. Non-invasive single cell-tracking in mouse brain by using time-lapse MRI. 42nd JSMRM 2014, O-2-246
- 2) Mori Y, Chen T, Fujisawa T, Kobashi S, Ohno K, Yoshida S, Tago Y, Komai Y, Hata Y, Yoshioka Y: From cartoon to real time MRI: *in vivo*

- monitoring of phagocyte migration in mouse brain. *Sci Rep* 2014 ; 4 : 6997
- 3) Welsh FA, Marcy VR, Sims RE : NADH fluorescence and regional energy metabolites during focal ischemia and reperfusion of rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991 ; 11 : 459-465

Four-dimensional *In Vivo* MR Imaging for Tracking Individual Immune Cells in Mouse Brain [Presidential Award Proceedings]

Yuki MORI^{1,2}, Daniela Martinez de la MORA^{1,2}, Atsuki TASHITA³,
Syoji KOBASHI³, Ikuhiro KIDA², Yutaka HATA⁴,
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*Graduate School of Engineering, University of Hyogo*

⁴*Graduate School of Simulation Studies, University of Hyogo*

Improved imaging techniques are being used to broaden the scope and understanding of the intricate interactions of cells in the body. Previously, we reported that magnetic resonance imaging (MRI) might enable time-lapse tracking of individual monocytes/macrophages in the living mouse brain (Mori, 2014). To perform *in vivo* three-dimensional analysis of a whole-brain sample over time (four dimensional or 4D imaging), we used MRI and superparamagnetic iron oxide particles (SPIO) to create a 4D cellular tracking dataset in the living mouse brain, and conducted quantitative analysis of individual cells by using this dataset. To label the intrinsic monocytes/macrophages, SPIO was injected intravenously. In this model, we could successfully monitor the dynamic migration of infiltrating monocytes/macrophages in the living mouse brain with a time resolution of 6 min/frame and a 3D spatial resolution of $59 \mu\text{m} \times 59 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$. In addition, we found a significant difference in the velocity and migration patterns between the contralateral and ipsilateral cortexes in a mouse model of stroke. Our novel MRI technique offers a new approach for understanding the interactions of immune cells in the healthy and diseased brain.