

## マンガン造影 MRI 法による中枢神経障害モデルにおける炎症反応の検出

分子機能薬学専攻 創薬化学講座（構造機能物理化学分野） 岩本 成人

**【背景】** 神経炎症は、生体防御の一つであり、中枢神経系障害の典型的病理である。炎症が発生すると、炎症性サイトカインが放出され、細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  恒常性が破綻し、慢性化すれば細胞死を引き起こす(Gleichmann M, Mattson MP (2011) *Antioxid Redox Signal* 14: 1261–1273)。塩化マンガン ( $\text{MnCl}_2$ ) は活性化した神経細胞やグリア細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルから取り込まれる陽性造影剤であり、この性質を利用して、マンガン強調 MRI (MEMRI) 法として神経線維の描出や脳賦活部位の同定など動物の脳機能 *in vivo* イメージングに用いられている(Aoki I, et al. (2002) *Magn Reson Med* 48: 927–933; Lin YJ, Koretsky AP (1997) *Magn Reson Med* 38: 378–388)。神経炎症は、 $\text{Ca}^{2+}$  恒常性の破綻を伴うことが一般的だが、MEMRI を炎症の検出に適応した例は報告されていない。

**【目的】** 本研究は、賦活化した細胞に  $\text{Mn}^{2+}$  が蓄積する性質を利用して、神経細胞の  $\text{Mn}^{2+}$  取り込みが神経炎症によって変化するかどうかを観察し、MEMRI の評価手法を確立することを目的とする。

**【方法】** 本研究では、グラム陰性細菌由来の強力な炎症インデューサーであるリポ多糖 (LPS; lipopolysaccharide) を脳室内投与して (Cai Z, et al. (2003) *Brain Res* 975: 37–47)、脳内に神経炎症を引き起こした実験的急性炎症モデル動物を用いた。左側脳室に LPS、右側脳室に生理食塩水を投与した群を LPS 投与群 (N = 4)、両側脳室に生理食塩水を投与した群を 対照群とした (N = 5)。神経炎症の検出には、典型的な MRI 測定法、MEMRI 法、免疫組織化学染色を用いた。

**【結果・考察】**  $\text{MnCl}_2$  投与前の  $T_2$  強調画像および HE 染色の結果から、LPS 投与群では

対照群に比べて脳室の拡大が確認された。一方、脳実質では LPS 投与群と対照群間で T<sub>1</sub> 強調、T<sub>2</sub> 強調画像のいずれでも顕著な差は見られなかった。

MEMRI は、LPS 投与後の脳組織の Mn<sup>2+</sup> 取り込み量の変化を評価するために行った。その結果、T<sub>1</sub> 強調 MEMRI において、LPS 投与群の海馬の CA1-CA2 領域で、LPS を投与した側の反対側（生理食塩水を投与した側）と比べて信号強度の増加が観察された。対照群では同様の信号強度差は見られなかった。

さらに、脳組織への Mn<sup>2+</sup> 蓄積を定量的に評価するため、MnCl<sub>2</sub> 投与前後で saturation recovery RARE 法を用いた T<sub>1</sub> mapping を行った。その結果、LPS を投与した側の海馬 (CA2) の MnCl<sub>2</sub> 投与前後での R<sub>1</sub> 値 (= 1/T<sub>1</sub> s<sup>-1</sup>) の増幅率は他の脳実質（視床や扁桃核）に比べて大きかった。このことは、R<sub>1</sub> 値の増加は LPS 由来の神経炎症に起因し、海馬における高い Mn<sup>2+</sup> 蓄積量を反映していると考えられた。

次に、LPS 投与によって実際に脳のどの部位で炎症が起こっているかを調べるため、免疫組織化学染色を行った。免疫組織化学染色では、Iba1 および ED1 陽性細胞が LPS 投与群の海馬に多く分布しており、活性化ミクログリアやマクロファージが海馬に集積していることが観察された。一方、astrogliosis など他の組織変性は観察されなかった（GFAP 抗体・HE 染色）。これらの結果から、活性化ミクログリアやマクロファージは LPS 由来の炎症に反応して海馬に集積することが分かった。

**【結論】** 本研究は、広範な神経変性や深刻なグリオシスが生じていない神経炎症モデルの海馬において、MEMRI を用いて神経炎症を信号強度の増加として検出した最初の報告である。さらに、MEMRI において R<sub>1</sub> 値が有意に上昇した海馬は、免疫組織化学染色において活性化ミクログリアが集積していることを明らかにした。これらのことから、MEMRI は、ミクログリアの活性化が関与する急性および慢性炎症を伴う疾病（例えば、アルツハイマー病やパーキンソン病などの中枢神経系疾患）の *in vivo* の診断手法となりうることが示された。