



Title	Neurofluid動態におけるアクアポリン4の機能解明に関するトレーサーMRI研究
Author(s)	加藤, 大祐
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16891号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16891
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99736
Type	doctoral thesis
File Information	KATO_Daisuke_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 加藤 大祐

学 位 論 文 題 名

Neurofluid 動態におけるアクアポリン 4 の機能解明に関するトレーサーMRI 研究
(Tracer-based MRI studies of aquaporin-4 function in neurofluid dynamics)

【背景と目的】近年、脳脊髄液（cerebrospinal fluid : CSF）や脳間質液（interstitial fluid : ISF）を含む頭蓋内の液体（neurofluid）の動態が脳の老廃物除去に関わるとする glymphatic system 仮説が注目されている。水選択的チャネル-アクアポリン 4（aquaporin-4 : AQP4）はその重要な因子であり、特に CSF-ISF 交換に関わることが報告されてきたが、CSF 流出経路や頭蓋外へのクリアランス過程への寄与は不明であった。また、neurofluid 動態の解析手法の 1 つとして、トレーサーを髄腔内投与し撮像するダイナミック造影 MRI（dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging with intrathecal tracer injection : intrathecal MRI）が主に CSF-ISF 交換評価に施行されてきたが、脳実質からのクリアランス動態を直接的に評価することは困難であった。第一章では、AQP4 ノックアウト（knockout : KO）ラットに対するガドリニウム造影剤（gadolinium-based contrast agent : GBCA）を用いた intrathecal MRI により、AQP4 が CSF-ISF 交換に加えて CSF 流出経路を介した頭蓋外へのクリアランスに及ぼす影響を包括的に検証した。また、 ^{17}O 標識水を用いた intrathecal MRI の実行可能性についても予備的に検証した。第二章では、トレーサーを脳実質内に直接注入し撮像するダイナミック造影 MRI（dynamic contrast-enhanced MRI with intraparenchymal tracer injection : intraparenchymal MRI）を新たに確立し、脳実質からの溶質（GBCA）と水（ ^{17}O 標識水）のクリアランス動態を生体内で可視化し得るかを検証した。

○第一章

【対象と方法】AQP4 ノックアウトラット 6 匹（AQP4 KO 群）および野生型ラット 8 匹（コントロール群）に対し、3-Tesla MRI を用いて 50 mM に希釈調製した GBCA（Gd-HP-DO3A）髄注下に 3D T1 強調像を連続撮像した。CSF、CSF 流出経路、脳実質の複数箇所に関心領域（region of interest : ROI）を設定し、信号比の経時変化を示す時間信号曲線（time-intensity curve : TIC）を算出し、曲線下面積（area under the curve : AUC）、到達時間、ピーク時間、ピーク信号比、最大勾配を用いて比較評価した。また、野生型ラット 6 匹に対し、10 mol% ^{17}O 標識水または生理食塩水を髄注下に 2D T2 強調像を連続撮像し、CSF および脳実質の信号変化を評価した。

【結果】AQP4 KO 群ではコントロール群に比べて、CSF 流出経路である上鼻甲介の信号比が低下しており、腹側 CSF の信号比が上昇していた。TIC パラメータ解析では、AQP4 KO 群において上鼻甲介の AUC、ピーク信号比、最大勾配が有意に低下し、腹側 CSF の AUC、ピーク信号比が有意に増加していた。脳実質では、AQP4 KO 群の脳皮質体性感覚野と嗅球の信号比が有意に低下していた。また、 ^{17}O 標識水を用

いた intrathecal MRI では、トレーサーが投与された大槽以外の部位で有意な信号変化を認めなかった。

【考察】AQP4 ノックアウトラットでは、髄腔内に投与された GBCA トレーサーの CSF 流出経路への移行が減少し、CSF 内の GBCA トレーサー分布が増加しており、AQP4 欠損が CSF 流出経路を介した CSF からの溶質クリアランスを障害し得ることが示された。また、AQP4 ノックアウトラットでは CSF から脳実質への GBCA トレーサー移行が低下しており、AQP4 欠損による CSF-ISF 交換の低下が示唆された。これはマウス中心であった先行研究結果と合致しており、ラットモデルで補完したことで動物種を超えた再現性を明らかにした。 ^{17}O 標識水を用いた intrathecal MRI では、大槽以外で信号変化が検出されず、本条件下では検出感度に制約がある可能性が示唆された。

○第二章

【対象と方法】3-Tesla MRI を用い、ラットの脳に留置したガラス管からトレーサーを直接脳実質内に注入し intraparenchymal MRI を施行した。トレーサーには、1 mM に希釈調製した GBCA (Gd-HP-DO3A) または 90 mol% ^{17}O 標識水を使用した。GBCA トレーサー群では大脳深部 (n=5) または大脳皮質 (n=5) に、 ^{17}O 標識水トレーサー群では大脳深部 (n=5) に投与した (注入速度 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$, 総投与量 3.0 μL)。GBCA トレーサー群では 3D T1 マップを連続撮像し、 ^{17}O 標識水トレーサー群では 2D T2 強調像を連続撮像した。取得した MRI データから各トレーサー濃度マップを作成し、注入部位に ROI を設定してトレーサー濃度の経時変化を示す TIC を算出し、AUC, ピーク濃度, ピーク時間, 半減期を計算し比較評価を行った。

【結果】intraparenchymal MRI によって、脳実質からトレーサーが消失する過程の可視化が可能であった。GBCA トレーサー群と ^{17}O 標識水トレーサー群の比較では、 ^{17}O 標識水トレーサー群において AUC および半減期が有意に小さかった。GBCA トレーサーの大脳深部注入群と大脳皮質注入群の比較では、TIC 解析において群間に有意差を認めなかった。

【考察】脳実質からのトレーサークリアランス動態を生体内で可視化する新規的手法として、intraparenchymal MRI を確立した。本手法は、生体内での動態評価が困難であった従来の蛍光トレーサー法や放射性同位体トレーサー法の制約を補完する新たなアプローチである。また、CSF を起点とした動態評価を行う intrathecal MRI と異なり、脳実質を起点とした動態評価が可能であり、glymphatic system の本質的な役割である脳内老廃物除去機構をより直接的に捉え得る可能性も示された。さらに、GBCA と ^{17}O 標識水を用いることで、溶質と水の動態を独立して評価可能であった。 ^{17}O 標識水は GBCA に比べて速やかにクリアランスされる傾向を示し、glymphatic system における水と溶質の動態の違いを反映していると考えられた。先行研究では水動態の生体内での直接的評価は限られており、新たな知見であった。

【全体の結論】本研究では、AQP4 欠損が CSF-ISF 交換低下のみならず CSF 流出経路を介した頭蓋外への CSF 溶質クリアランスも障害し得ることを示した。さらに、GBCA と ^{17}O 標識水を組み合わせた intraparenchymal MRI を新規に確立し、脳実質からのクリアランス動態を生体内で可視化するとともに、溶質と水のクリアランス動態が異なる可能性を示した。これらの成果は、glymphatic system を多面的に理解するための新たな技術的基盤を提供し、疾患モデルや臨床応用への展開を通じて神経変性疾患の病態解明と治療法開発に応用されることが期待される。