



HOKKAIDO UNIVERSITY

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_summary.pdf, 全文の要約



学位論文（要約）

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)

2026 年 3 月

北 海 道 大 学
加藤 大祐

【背景と目的】脳は組織学的にリンパ系を欠くため、老廃物のクリアランスを担うシステムは長らく未解明であった。近年、脳脊髄液（cerebrospinal fluid : CSF）、脳間質液（interstitial fluid : ISF）、および血液を含む頭蓋内の液体全体を neurofluid として捉える概念が提唱され、neurofluid の動態が脳の老廃物クリアランスに関与すると考えられ注目されている。この neurofluid 動態を支える重要な分子の一つとして、水選択的チャネル-アクアポリン 4（aquaporin-4 : AQP4）が挙げられる。AQP4 は細血管周囲のアストロサイト終末に豊富に発現し、血管周囲腔と脳実質との間の水移動を媒介する分子として注目されてきた。先行研究では AQP4 が CSF-ISF 交換に関与することが報告されてきたが、その機能には未解明な点が多く、CSF から頭蓋外へのクリアランスや、その流出経路への寄与は不明であった。さらに、AQP4 に関する報告の多くはマウスモデルに基づいており、異なる動物種における再現性の検証も必要であった。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）があり、CSF-ISF 交換のイメージング手法としてげっ歯類を中心とした前臨床研究で広く用いられてきた。しかし、実際に病態関連物質が蓄積する脳実質からのクリアランス動態を、生体内で直接評価する手法は未確立であった。

第一章では、AQP4 ノックアウト（knockout : KO）ラットを用いてガドリニウム造影剤（gadolinium-based contrast agent : GBCA）を使用した intrathecal MRI を行い、AQP4 欠損が CSF-ISF 交換および頭蓋外への CSF クリアランスに及ぼす影響を包括的に検証した。また、¹⁷O 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。続いて第二章では、intrathecal MRI では評価が困難な脳実質からのクリアランス動態に焦点を当て、トレーサーを脳実質内に直接注入して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、脳実質からの溶質および水のクリアランス動態を生体内で直接評価し得るかを検証した。

第一章

【対象と方法】本研究は、北海道大学動物実験委員会の承認を受けて実施した。AQP4 KO 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）を使用した。3-Tesla MRI 装置を用い、50 mM に希釈調製した GBCA を髄注しながら

3D T1 強調像を連続撮像した。CSF, CSF 流出経路, および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) を算出した。二元配置分散分析 (two-way analysis of variance : ANOVA) を用いて両群の TIC を比較評価した。さらに TIC パラメータ解析として, 曲線下面積 (area under the curve : AUC), トレーサー到達時間, ピーク時間, ピーク信号比, および最大勾配を算出し, Holm 補正を併用した Mann-Whitney U 検定により両群間で比較評価した。

また, ^{17}O 標識水を使用した intrathecal MRI の予備的検証として, 野生型ラット 6 匹を用い, 10 mol% ^{17}O 標識水または生理食塩水を髄注しながら 2D T2 強調像を連続撮像した。CSF および脳実質に複数の ROI を設定して TIC を算出し, two-way ANOVA を用いて ^{17}O 標識水群と生理食塩水群の TIC を比較評価した。

【結果】CSF では, AQP4 KO 群はコントロール群に比べて腹側 CSF の信号比が上昇しており, AUC およびピーク信号比が有意に増加していた。CSF 流出経路では, 上鼻甲介において AQP4 KO 群の信号比が低下しており, AUC, ピーク信号比, および最大勾配が有意に低下していた。脳実質では, AQP4 KO 群の脳皮質体性感覚野および嗅球の信号比が有意に低下していた。また, ^{17}O 標識水を使用した intrathecal MRI では, トレーサー投与部近傍の大槽において ^{17}O 標識水群で有意な信号低下を認めたが, それ以外の部位では有意な変化を認めなかった。

【考察】AQP4 KO ラットにおいて, 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することが示された。この結果は, 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を示唆するものと考えられた。また, CSF から脳実質への GBCA トレーサー移行も低下しており, AQP4 欠損による CSF-ISF 交換の減少が示唆された。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 標識水を使用した intrathecal MRI では, トレーサー投与部から離れた部位ではトレーサーを検出できず, 検出感度に制約があり, 実行可能性に課題があると考えられた。

第二章

【対象と方法】野生型ラットの脳に細径ガラス管を刺入し, トレーサーを脳実質内に注入しながらダイナミック造影 MRI (intraparenchymal MRI) を撮像した。GBCA

トレーサー群では、1 mM に希釈調製した GBCA を大脳深部 (n=5) または大脳皮質 (n=5) に投与しながら 3D T1 マップを連続撮像した。¹⁷O 標識水トレーサー群では、90 mol% ¹⁷O 標識水を大脳深部 (n=5) に投与しながら 2D T2 強調像を連続撮像した。トレーサー注入速度は 0.5 μ L/min, 総投与量は 3.0 μ L とした。取得した MRI データを各トレーサーの濃度マップに変換し、トレーサー注入部を中心として ROI を設定し、トレーサー濃度の経時変化を示す TIC を算出した。TIC の AUC, ピーク濃度, ピーク時間, および半減期を算出し、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評価, ならびに大脳深部注入における GBCA トレーサー群と ¹⁷O 標識水トレーサー群の比較評価を行った。

【結果】 GBCA トレーサーおよび ¹⁷O 標識水トレーサーのいずれにおいても、脳実質内に注入されたトレーサーの濃度が経時的に低下し洗い出される様子が intraparenchymal MRI で観察された。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 および TIC パラメータ解析において両群間に有意差を認めなかった。一方、大脳深部注入における GBCA トレーサー群と ¹⁷O 標識水トレーサー群の比較では、¹⁷O 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。

【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手法として、intraparenchymal MRI を確立した。本手法は、蛍光トレーサーや放射性同位体トレーサーを用いる従来法では困難であった、生体内における脳実質からのクリアランス動態評価を可能とする新たなアプローチになり得ると考えられた。さらに、GBCA と ¹⁷O 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。¹⁷O 標識水は GBCA に比べて速やかに脳実質からクリアランスされており、脳内のクリアランスシステムにおける水と溶質の動態の違いを反映している可能性が示唆された。脳実質内に注入された水トレーサー動態のイメージング報告や、溶質および水動態の差異を生体内で比較した報告はこれまでになく、新たな知見と考えられた。

【全体の結論】本研究では、AQP4 KO ラットを用いた intrathecal MRI により、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。また、GBCA と ¹⁷O 標識水を組み合わせた intraparenchymal MRI を新規に確立し、脳実質からのトレーサークリアランス動態を生体内で可視化できることを示した。さらに、溶質と水のクリアランス動態が異なる可能性も示した。これらの成果は、脳内のクリアランスシステムを多面的に理解する

ための新たな知見および技術的基盤を提供するものであり、今後、疾患モデルなどと組み合わせることで、神経変性疾患の病態解明や治療法開発に応用されることが期待される。