

2022 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	日置 寛之
研究機関名	順天堂大学
所属部署名	大学院医学研究科
役職名	教授
研究課題名	シナプス構築から探る大脳新皮質の構造原理
研究実施期間	2022 年 4 月 1 日～2023 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究課題は、大脳新皮質の神経回路演算メカニズム解明を目指して、錐体細胞への各種シナプス入力様式と各種受容体の分布を解析する。また、広汎な皮質領域に投射して皮質神経細胞の活動性を制御する神経修飾物質にも注目し、軸索投射様式の解析を行う。令和 4 年度は以下の課題に取り組んだ。

(1) 単一もしくは少数の神経細胞を明瞭に標識

AAV ベクター二重感染法による少数神経細胞標識に成功している。神経線維の蛍光シグナルを増強する目的で、post hoc 蛍光増強法を開発した (Yamauchi et al., 2022)。また、固定スライス標本への細胞内色素注入法を導入し、目的とする神経細胞を post hoc に可視化する技術開発にも取り組んだ。

(2) 三次元免疫組織化学法の開発

AbSca/e 法 (Hama et al., 2015) のプロトコルを改変したが、一部の IgG 抗体は浸透性が向上しないことが判明した。そこで、一本鎖抗体や VHH 抗体を検討したところ、標本の深部まで浸透することが分かった。ただし、蛍光シグナルが弱くて検出が困難なケースがあり、上記(1)の蛍光増強法の活用を進めている。

(3) 透明化技術を用いた三次元再構築法の開発 / 大脳新皮質錐体細胞における定量的解析

Sca/eSF 法 (Furuta et al., 2022) によってスライス標本を透明化し、神経突起を効率的に三次元再構築する方法を確立した (Takahashi et al., 2023)。

(4) 大脳新皮質錐体細胞における定量的解析

上記の技術を組み合わせ、錐体細胞に対するシナプス入力解析法を検討した。①スライス標本のままシナプス入力部位を観察する方法、②スライス標本で神経突起を解析した後に、薄切切片を作製して免疫染色を行ってシナプス入力部位を観察する方法の 2 つについて比較検討を進めている。