

2023 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 | 2023 年 4 月 1 日～2024 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 5 年度は基盤技術の開発に重点を置きつつ、独自に開発した技術の実証実験も推進した。

(1) 三次元免疫組織化学法（3D-IHC）の開発

IgG 抗体に比べ VHH 抗体（nanobody）は、標本の深部まで浸透するものの、蛍光シグナルの増強が弱いことが課題であった。そこで、VHH 抗体を HRP で標識して、post hoc 蛍光増強法である FT-GO 法（Yamauchi et al., 2022）を活用することで、特異的かつ高感度シグナル増感に成功し（Takahashi et al., 2023）、さらなる応用開発を推進した。

(2) 透明化技術を用いた三次元再構築法の開発

上記 3D-IHC 法を用いて、神経細胞の樹状突起や軸索をセミオートでトレースして三次元再構築するパイプラインを確立した。樹状突起に対する各種シナプス入力の部位を効率的にマッピングする手法の開発を進めているが、三次元再構築したデジタルデータへのタグ付けについて改善の余地が残されている。また、シナプス構造の特徴を捉えるための電子顕微鏡観察法についても検討を進めた。「光-電子相関顕微鏡法（CLEM）」の効率化は実現したが、データ解析の大規模化を目指してさらなる改良が必要と思われる。

(3) 大脳新皮質錐体細胞で定量的解析

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ものの、単一細胞のみを標識することは困難であった。そこで、固定スライス標本に蛍光色素を電気注入する手法の開発に着手した。