

2024 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	2024 年 4 月 1 日～2025 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の解明を目指し、錐体細胞への各種シナプス入力様式および各種受容体の分布を解析することを目的としている。また、広範な皮質領域に投射し、皮質神経細胞の活動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進めている。令和 6 年度も引き続き、以下の基盤技術開発を推進した。

(1) 三次元免疫組織化学法の開発

IgG 抗体と比較して VHH 抗体 (nanobody) は標本深部までの浸透性に優れる一方で、蛍光シグナルが弱いことが課題であった。VHH 抗体を HRP で標識し、post hoc 蛍光増強法である FT-GO 法 (Yamauchi et al., 2022) を用いることで、従来法と比較して 5 倍以上のシグナル増幅を達成した。これにより、高速かつ高感度の多重三次元免疫組織化学法の開発に成功した (Yamauchi et al., in press)。

(2) 透明化技術を用いた三次元再構築法の開発

運動性視床核ニューロンを対象に、各種シナプス入力の空間分布解析パイプラインの構築を試みた。具体的には、マウス視床にアデノ随伴ウイルスベクターを注入して標的ニューロンを GFP で標識し、灌流固定後に作製したスライス標本で後シナプス分子の多重免疫蛍光染色を実施。透明化処理後、共焦点レーザー顕微鏡で三次元画像スタックを取得した。現在はシナプス候補部位の同定をマニュアルで行っているが、作業量が膨大であるため、自動化による大幅な効率化の導入に向けた検討を進めている。

(3) 大脳新皮質錐体細胞で定量的解析

固定スライス標本への蛍光色素電気注入手法の開発を進めてきたが、樹状突起の末端までの明瞭な標識は依然として課題であった。そこで、新たにウイルスベクターを用いる手法の開発に着手し、今後はキャプシドおよびプロモーターの最適化を図り、標識効率の向上を目指していく予定である。